

# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

**Elementos Traza en Saliva y Plasma y su Relación  
con Factores de Riesgo Cardiovascular  
En Diabetes Mellitus Tipo 2**

**D. Luis Marín Martínez**  
2017



**UNIVERSIDAD DE  
MURCIA**



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**

**ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA Y PLASMA  
Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO  
CARDIOVASCULAR  
EN DIABETES MELLITUS TIPO 2**

**MEMORIA DE TESIS DOCTORAL**

**LUIS MARÍN MARTÍNEZ**

**MURCIA, 2017**





D. L. Fernando Carballo Álvarez, Catedrático de Universidad del Área de Medicina Interna y Presidente de la Comisión Académica del Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, INFORMA:

Que una vez evaluado, de conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 21 del Reglamento de doctorado de la Universidad de Murcia, el expediente completo de la tesis doctoral titulada "ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA Y PLASMA Y SU RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN DIABETES MELLITUS TIPO 2", realizada por D. Luis Marín Martínez, bajo la inmediata dirección y supervisión de D<sup>a</sup>. María Pía López Jornet, esta Comisión Académica, en sesión celebrada en fecha 9 de mayo de 2017, ha dado su autorización para su presentación ante la Comisión General de Doctorado.

Murcia, a 9 de mayo de 2017

Firmado con certificado electrónico reconocido.  
La información sobre el firmante, la fecha de firma y el código de verificación del documento se encuentra disponible en los márgenes izquierdo e inferior

**Doctorando: D. Luis Marín Martínez**

*\*Informe del Departamento para alumnos del RD 778/1998.*

*\*Informe de La Comisión Académica del Programa para alumnos del RD 56/2005 y RD 1393/2007.*







UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

Dra. María Pía López Jornet, catedrática de Universidad del Área de Odontología en el Departamento de Medicina Oral, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Elementos traza en saliva y plasma y su relación con factores de riesgo cardiovascular en diabetes mellitus tipo 2", realizada por D. Luis Marín Martínez, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 2 de Mayo de 2017

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'P. López', written in a cursive style.



*A mi hija, Nerea,  
por descubrirme el amor incondicional.*



## AGRADECIMIENTOS

*En primer lugar, quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Pía López Jornet, por su dedicación, esfuerzo y perseverancia en este proyecto, cuya labor imprescindible ha permitido la finalización del mismo. Le estaré siempre agradecido por confiar en mí y por la oportunidad que me ha dado.*

*A la Dra. Luisa M<sup>a</sup> Ramírez Muñoz y a todos los compañeros del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, por acompañarme en este camino .*

*A la Dra. María Dolores Albaladejo Otón y a todo el equipo del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, por su colaboración en este proyecto.*

*A todos los pacientes que han prestado su colaboración desinteresada para participar en este trabajo.*

*A mi mujer, Diana, por animarme a comenzar este proyecto y prestarme su constante apoyo para seguir adelante, siendo mi alegría en la tristeza, mi motivación en la adversidad. Este trabajo no hubiera sido posible sin ella. Gracias por ser la piedra angular de mi vida, mi compañera de viaje.*

*A mis padres, por creer en mí y apoyarme incondicionalmente en todos los retos que me he propuesto en mi vida. Es para mí un orgullo inmenso ser su hijo. Si hoy soy lo que soy es gracias a ellos, mis éxitos son vuestros.*

*A mis hermanos, Sergio y María, por creer siempre en su hermano mayor y mostrarme todo su amor. Son los mejores hermanos que uno pudiera desear.*

*A mis suegros, por su gran voluntad y dedicación, siempre dispuestos a dar lo mejor de ellos mismos, y a toda la familia por ayudarme siempre que lo he necesitado.*

*A mi abuelo Antonio e Isabel por tanta ilusión y entusiasmo puestos en mí.*

*A mis tíos, a mi madrina y a mis primos, por estar ahí siempre.*

*A todos mis amigos por transmitirme toda su energía positiva y darme esos buenos momentos que me han servido de impulso para la realización de este trabajo.*



## **RESUMEN**

### **Introducción:**

Los elementos traza se encuentran implicados en multitud de procesos fisiopatológicos, por lo que se estudian como biomarcadores de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2, caracterizada por su importante asociación con el riesgo cardiovascular.

### **Objetivos:**

El presente estudio busca establecer diferencias entre los niveles de los elementos traza en saliva en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con respecto al grupo control. Así como asociar los niveles plasmáticos y salivales de los elementos traza con el control metabólico de la diabetes, la salud oral de estos pacientes, las complicaciones crónicas de la diabetes y otros factores de riesgo cardiovascular como la obesidad central, la hipertensión arterial o el tabaquismo.

### **Material y Métodos:**

Se trata de un estudio observacional transversal. Fueron incluidos 147 sujetos, de los cuales 74 eran pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 y 73 formaban parte del el grupo control. En ambos grupos se recogieron variables socio-demográficas, variables antropométricas, variables odontológicas, variables de laboratorio, cuestionarios de perfil de impacto de la salud oral (OHIP-14) y cuestionarios de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire). Se determinaron los elementos traza en sangre y saliva mediante Espectrometría de Masas (ICP-MS). Los elementos traza estudiados fueron los siguientes: Aluminio, antimonio, arsénico, azufre, berilio, bismuto, boro, cadmio, calcio, cobalto, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, litio, magnesio, manganeso, molibdeno, níquel, plomo, rubidio, selenio, talio, titanio, vanadio y zinc.

### **Resultados:**

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los niveles de elementos traza en plasma y saliva en cuanto al control metabólico, el índice de masa corporal, el perímetro de cintura, el tabaquismo o la hipertensión arterial. El magnesio en saliva elevado se asoció significativamente ( $p = 0,03$ ) con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm en el grupo de varones. Se objetivaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto a la ausencia dental y la presencia o no de diabetes mellitus tipo 2, así como relación

significativa ( $p < 0,05$ ) entre xerostomía y elementos traza en saliva en dichos pacientes.

### **Conclusiones:**

Existen diferencias en los niveles de elementos traza en saliva en relación con el control metabólico y las complicaciones crónicas en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, que también muestra diferencias con respecto a los niveles de elementos traza en saliva del grupo control. Factores de riesgo cardiovascular como la obesidad, el perímetro de cintura, el tabaquismo o la hipertensión arterial muestran diferencias en los niveles de elementos traza en plasma y saliva, siendo el magnesio en saliva un buen marcador diferenciador de varones con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm, considerado de alto riesgo cardiovascular.

## **ABSTRACT**

### **Introduction:**

Trace elements are found in a multitude of pathophysiologic processes. As a result, they are studied as biomarkers of chronic illnesses, such as diabetes mellitus type 2. Type 2 diabetes is characterized by its important link to cardiovascular risk.

### **Objectives:**

This study aims to establish a difference between diabetes mellitus type 2 people and non-diabetic people regarding the different levels of trace elements in saliva. Furthermore, this study makes a comparison between plasmatic and salivary trace elements levels and diabetes metabolic control, the oral health care of the patients, the chronic complications of diabetes and other different cardiovascular risk factors, such as, central obesity, arterial hypertension or smoking.

### **Material and Methods:**

This is a transversal observational study. Among all the 147 patients who were included, 74 were diabetes mellitus type 2 patients and 73 belonged to the non-diabetic control group. Socio-demographic variables, anthropometric variables, dental variables, laboratory variables, oral health impact profile questionnaires (OHIP-14) and questionnaires about diabetes quality of life questionnaires were considered in both groups. Trace elements in blood and saliva were measured by means of a mass spectrometry (ICP-MS). The studied trace elements were: Aluminium, antimony,

arsenic, sulphur, beryllium, bismuth, boron, cadmium, selenium, calcium, cobalt, copper, chromium, strontium, phosphorous, iron, lithium, magnesium, manganese, molybdenum, nickel, lead, rubidium, selenium, thallium, titanium, vanadium and zinc.

### **Results:**

Significative differences trace elements in saliva ( $p < 0,05$ ) were found between the case and the control group. Moreover, some significant differences ( $p < 0,05$ ) regarding metabolic control trace elements in plasma and in saliva, body mass index, waist circumference, smoking or arterial hypertension were observed. High levels of magnesium in saliva were significantly ( $p = 0,03$ ) linked to waist circumference  $\geq 102$  cm in regarding men group. Other significative differences ( $p < 0,05$ ) as far as dental absence and diabetes mellitus type 2 and non-diabetic patients were objectified. Furthermore, an important link ( $p < 0,05$ ) between xerostomia and trace elements in saliva in such patients was established.

### **Conclusions:**

There are differences in the level of salivary trace elements regarding metabolic control and chronic complications in the Type 2 Diabetes Mellitus group of patients, which also show differences with regard to the level of salivary trace elements of the control group. Cardiovascular risk factors such as obesity, waist circumference, smoking or high blood pressure show differences in the blood and salivary trace elements level. The level of magnesium in saliva is a good differentiating indicator in men with a waist circumference  $\geq 102$  cm of a high cardiovascular risk.



# ÍNDICE:

	<b>PÁGINA:</b>
<b>1. Introducción.</b>	3
1.1. Diabetes mellitus.	3
1.1.1. Concepto y diagnóstico.	3
1.1.2. Clasificación.	4
1.1.3. Complicaciones crónicas.	6
1.1.4. Diabetes mellitus tipo 2.	8
1.1.4.1. Concepto y etiopatogenia.	8
1.1.4.2. Epidemiología.	8
1.1.4.3. Tratamiento.	9
1.1.5. Diabetes mellitus y factores de riesgo cardiovascular.	13
1.1.6. Estrés oxidativo y diabetes.	17
1.2. Elementos traza.	21
1.2.1. Elementos traza como biomarcadores.	21
1.2.2. Elementos traza y diabetes.	29
1.2.3. Elementos traza y riesgo cardiovascular.	34
1.3. La saliva.	36
1.3.1. Concepto y composición.	36
1.3.2. Funciones.	41
1.3.2.1. La saliva en investigación.	42
1.3.3. Biomarcadores en saliva.	43
1.3.4. Saliva y diabetes.	46
<b>2. Justificación, Hipótesis y Objetivos.</b>	53
2.1. Justificación e Hipótesis.	53
2.2. Objetivos.	54
<b>3. Material y Métodos.</b>	59
3.1. Material.	59
3.1.1. Descripción de la muestra clínica.	59
3.1.2. Variables del estudio.	61
3.1.2.1. Variables socio-demográficas.	61
3.1.2.2. Variables antropométricas.	61
3.1.2.3. Variables odontológicas.	63
3.1.2.4. Variables diabetológicas y de perfil metabólico.	63
3.1.2.5. Variables de laboratorio.	64
3.1.2.6. Perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14).	72
3.1.2.7. Cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire).	73

3.1.2.8.	Índice de O'Leary.	73
3.1.3.	Materiales para la recogida de la muestra.	74
3.2.	Métodos.	76
3.2.1.	Desarrollo del estudio.	76
3.2.1.1.	Grupo de casos.	76
3.2.1.2.	Grupo control.	84
3.2.1.3.	Protocolo de recogida de datos de pacientes.	86
3.2.1.4.	Protocolo de recogida de datos de controles.	87
3.2.2.	Esquema del diseño del estudio.	88
3.2.3.	Tratamiento estadístico.	89
<b>4.</b>	<b>Resultados</b>	93
4.1.	Homogeneidad de las muestras.	93
4.2.	Estudio estadístico descriptivo.	93
4.2.1.	Variables socio-demográficas.	93
4.2.1.1.	Edad.	93
4.2.1.2.	Sexo.	93
4.2.1.3.	Consumo de tabaco.	94
4.2.1.4.	Consumo de alcohol.	95
4.2.1.5.	Actividad física.	97
4.2.1.6.	Presencia de hipertensión arterial.	97
4.2.2.	Variables antropométricas.	97
4.2.2.1.	Talla.	97
4.2.2.2.	Peso.	97
4.2.2.3.	Índice de masa corporal.	98
4.2.2.4.	Perímetro de cintura.	98
4.2.3.	Variables diabetológicas y de perfil metabólico.	99
4.2.3.1.	Presencia de síndrome metabólico.	98
4.2.3.2.	Años de evolución de la diabetes.	98
4.2.3.3.	Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.	98
4.2.3.4.	Tratamiento antidiabético.	99
4.2.3.5.	Cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire).	100
4.2.4.	Variables odontológicas.	100
4.2.4.1.	Frecuencia de xerostomía.	100
4.2.4.2.	Ausencia dental.	102
4.2.4.3.	Índice de O'Leary.	103
4.2.4.4.	Cuestionario de calidad de vida oral (OHIP-14).	104
4.2.5.	Variables de laboratorio.	104
4.2.5.1.	Determinaciones bioquímicas en plasma: Reactantes de fase aguda.	104

4.2.5.2.	Elementos traza en plasma.	104
4.2.5.3.	Elementos traza en saliva.	106
4.3.	Estudio estadístico inferencial.	108
4.3.1.	Correlación de elementos traza en plasma con elementos traza en saliva.	108
4.3.2.	Variables odontológicas en muestra total.	110
4.3.2.1.	Ausencia dental.	110
4.3.3.	Elementos traza en saliva en muestra total.	111
4.3.3.1.	Variables socio-demográficas.	111
4.3.3.2.	Variables antropométricas.	115
4.3.3.3.	Variables odontológicas.	121
4.3.3.4.	Variables de laboratorio.	122
4.3.4.	Elementos traza en saliva en el grupo de casos.	127
4.3.4.1.	Variables socio-demográficas.	127
4.3.4.2.	Variables antropométricas.	129
4.3.4.3.	Variables diabetológicas y de perfil metabólico.	131
4.3.4.4.	Variables odontológicas.	132
4.3.4.5.	Variables de laboratorio.	133
4.3.5.	Elementos traza en plasma en el grupo de casos.	134
4.3.5.1.	Variables socio-demográficas.	134
4.3.5.2.	Variables antropométricas.	139
4.3.5.3.	Variables diabetológicas y de perfil metabólico.	144
4.3.5.4.	Variables odontológicas.	147
4.3.5.5.	Variables de laboratorio.	147
4.4.	Estudio de regresiones logísticas.	150
4.4.1.	Regresiones logísticas en el grupo de casos.	152
4.4.1.1.	Elementos traza en saliva.	152
4.4.1.2.	Elementos traza en plasma.	153
4.4.2.	Regresiones logísticas en el total de la muestra.	154
4.4.2.1.	Elementos traza en saliva.	154
4.4.2.2.	Elementos traza en plasma.	164
4.4.3.	Regresiones logísticas en grupo de casos por segmentaciones.	165
4.4.3.1.	Elementos traza en saliva.	165
4.4.3.2.	Elementos traza en plasma.	165
<b>5.</b>	<b>Discusión.</b>	169
5.1.	Contexto actual.	169
5.2.	Elementos traza en plasma.	171
5.3.	Elementos traza en saliva.	180
5.4.	Limitaciones del estudio y perspectivas futuras.	189
<b>6.</b>	<b>Conclusiones.</b>	193
<b>7.</b>	<b>Bibliografía.</b>	197

<b>8. Anexos.</b>	215
Anexo 1. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.	215
Anexo 2. Informe de la Comisión de Bioética de la Universidad de Murcia.	226
Anexo 3. Cuaderno de recogida de datos de pacientes.	227
Anexo 4. Cuaderno de recogida de datos de controles.	237

# 1. INTRODUCCIÓN



## 1. INTRODUCCIÓN.

### 1.1. DIABETES MELLITUS.

#### 1.1.1. CONCEPTO Y DIAGNÓSTICO.

La diabetes mellitus, de acuerdo con la *Organización Mundial de la Salud* (OMS), engloba un grupo de trastornos metabólicos de diversa etiología caracterizados por hiperglucemia crónica y alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas, derivados de defectos en la síntesis de insulina, en la acción de la insulina, o ambos (**Alberti KGMM y cols., 1998; American Diabetes Association., 2014**).

A la hora de realizar el diagnóstico de diabetes mellitus, éste se fundamenta en cuatro criterios (Tabla 1.1).

**Tabla 1.1.:** Criterios diagnósticos de diabetes mellitus.

<b>CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE DIABETES MELLITUS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucemia plasmática basal en ayunas <math>\geq 126</math> mg/dl en dos determinaciones (muestra tomada con un mínimo de 8 horas de ayuno).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucemia plasmática al azar <math>\geq 200</math> mg/dl con síntomas de hiperglucemia.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinación de HbA1c <math>\geq 6.5\%</math>.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucemia plasmática <math>\geq 200</math> mg/dl a las 2 horas tras una sobrecarga oral de glucosa con 75 g.</li> </ul>

Existen otros trastornos relacionados con el metabolismo de los hidratos de carbono; La glucemia basal alterada y la intolerancia a los hidratos de carbono. Estos trastornos se engloban dentro del concepto de prediabetes. Los pacientes enmarcados en este grupo de trastornos presentan un alto riesgo futuro de desarrollar diabetes. Constituye un factor de riesgo en sí mismo tanto para la diabetes como para la enfermedad cardiovascular. Estos trastornos se asocian con la obesidad de predominio abdominal, la dislipemia y la hipertensión arterial (**Díaz Díaz O y cols., 2011; American Diabetes Association., 2014**).

El diagnóstico de intolerancia a los hidratos de carbono y de la glucemia basal alterada también sigue unos criterios definidos (Tabla 1.2).

**Tabla 1.2.:** Diagnóstico de la intolerancia a los hidratos de carbono y la glucemia basal alterada.

<b>DIAGNÓSTICO DE LA INTOLERANCIA A LOS HIDRATOS DE CARBONO</b>	Glucemia plasmática entre $\geq 140$ mg/dl y $< 200$ mg/dl a las 2 horas de una sobrecarga oral de glucosa con 75 g.
<b>DIAGNÓSTICO DE LA GLUCEMIA BASAL ALTERADA</b>	Glucemia basal en ayunas $\geq 100$ mg/dl en una muestra tomada con un mínimo de 8 horas de ayuno.

Respecto a la sintomatología característica de la hiperglucemia, ésta incluye la poliuria, la polidipsia, la pérdida de peso, a veces con polifagia, y la visión borrosa. Además de la sintomatología asociada, la hiperglucemia crónica en la diabetes conlleva un incremento en la susceptibilidad a desarrollar infecciones. Así mismo, esta hiperglucemia crónica se asocia con el tiempo a un daño, disfunción o fallo de los diferentes órganos, en especial los ojos, los riñones, el sistema nervioso, el corazón y los vasos sanguíneos (**American Diabetes Association., 2010; American Diabetes Association., 2014**).

### 1.1.2. CLASIFICACIÓN.

A la hora de clasificar los distintos tipos de diabetes debemos hacer mención a la diabetes secundaria a fármacos como los glucocorticoides, la diabetes gestacional, la diabetes monogénicas, la diabetes mellitus tipo 1 y la diabetes mellitus tipo 2, entre otras (**Alberti KGMM y cols., 1998; American Diabetes Association., 2014**).

En referencia a la diabetes inducida por fármacos, la hiperglucemia es uno de los efectos adversos del uso de glucocorticoides en dosis suprafisiológicas por cualquier vía (tópica, oral o parenteral). Los glucocorticoides empeoran la diabetes conocida y pueden precipitar una diabetes no conocida previamente (**Vázquez San Miguel F., 2006; Saigí I y cols., 2010**).

La diabetes gestacional se define como una alteración de la tolerancia a la glucosa, de intensidad variable, que aparece por primera vez durante la gestación. En el embarazo, en especial durante el segundo trimestre de gestación, se producen modificaciones del metabolismo de la glucosa para asegurar un adecuado suministro de nutrientes al feto. Se produce una resistencia a la insulina aumentada favorecida por un amplio grupo de hormonas tales como progesterona, estrógenos, lactógeno placentario humano y cortisol. La diabetes gestacional es un trastorno común, afectando en torno al 40-73% de las mujeres, y se asocia a un aumento de los riesgos para la salud materno-fetal. Su tratamiento se basa en los cambios en el estilo de vida, la dieta y el ejercicio físico. No obstante, en algunos casos de difícil control requieren de un tratamiento médico con insulina **(Metzger BE y cols., 2007; Phelan S., 2016)**.

La diabetes monogénicas, que resultan de la herencia de una o más mutaciones en un gen, se asocia en la mayoría de los casos a una disfunción grave de la célula beta pancreática, aunque también puede deberse a una importante resistencia a la insulina. Las mutaciones se pueden heredar de forma recesiva o dominante, no obstante también se han constatado casos esporádicos. La prevalencia de este tipo de diabetes oscila entre el 1 y 2% del total de casos de diabetes, pudiendo aparecer en individuos de edades muy tempranas. Existen distintos tipos de formas clínicas de diabetes monogénicas: diabetes tipo MODY (*maturity-onset diabetes of the young*), diabetes mitocondrial y diabetes neonatal transitoria y permanente **(Barrio R., 2007; Anik A y cols., 2015)**.

La diabetes mellitus tipo 1 se caracteriza por la destrucción paulatina de las células beta pancreáticas de los islotes de Langerhans, por un proceso inmuno mediado en un huésped susceptible, lo que conduce a un déficit absoluto de insulina. En el 90% de los pacientes se detectan anticuerpos anti-islotes (ICA), anti-decarboxilasa del ácido glutámico (antiGAD), anti-insulina (IAA) y transmembrana tirosin-fosfatasa (IA-2); 10% de los casos son considerados idiopáticos y no presentan marcadores serológicos de autoinmunidad. Los síntomas clásicos se presentan cuando se ha perdido cerca del 90% de la capacidad funcional de las células beta. La diabetes mellitus tipo 1 es poco frecuente en la población por debajo del año de edad, presentando una mayor prevalencia entre los 4 y 6 años y aún mayor entre los 10 y 14 años. Actualmente, se observa una tendencia al aumento en la incidencia de diabetes mellitus tipo 1, incluso en niños menores de 5 años **(Ansenjo S y cols., 2007; Atkinson MA y cols., 2014; American Diabetes Association., 2014)**.

Dada la marcada insulinopenia del paciente con diabetes mellitus tipo 1 por la destrucción de las células beta pancreáticas, el tratamiento se basa en una insulinización completa, siendo la terapia con múltiples dosis de insulina (bolo-basal) la más utilizada habitualmente. No obstante existen también otras opciones de tratamiento con infusores subcutáneos continuos de insulina, de los que se pueden beneficiar muchos de estos pacientes. Respecto al tratamiento intensivo en pacientes con diabetes mellitus tipo 1, se ha observado un importante beneficio en lo referente al riesgo cardiovascular a largo plazo **(Nathan DM y cols., 2005; Atkinson MA y cols., 2014)**.

### **1.1.3. COMPLICACIONES CRÓNICAS.**

La hiperglucemia sostenida afecta tanto a la microvasculatura como a los vasos sanguíneos de mayor calibre, generando complicaciones micro y macrovasculares. La prevalencia de las distintas complicaciones crónicas varía en función del tipo de diabetes, el tiempo de evolución y grado de control metabólico, estimándose globalmente en la siguiente: neuropatía, un 25%; retinopatía, un 32%, y nefropatía, un 23%. La diabetes mellitus es una de las principales causas de mortalidad en España, ocupando el tercer lugar en mujeres y el séptimo en varones **(Goday A., 2002; Bosch X y cols., 2002)**.

Respecto a la nefropatía diabética, la diabetes aumenta en 25 veces el riesgo de padecer insuficiencia renal y, en España, la diabetes constituye la primera causa de inclusión en programas de hemodiálisis **(Bosch X y cols., 2002; Iglesias González R y cols., 2014)**.

En relación a la neuropatía diabética, la alteración más frecuente es la sensoriomotora insidiosa crónica, que puede estar presente al diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2. Habitualmente la clínica suele ser de predominio distal con pérdida de sensibilidad vibratoria, parestesias, pérdida de los reflejos tendinosos profundos, debilidad y atrofia **(Vinik AL y cols., 2004)**.

En cuanto a la retinopatía diabética, la diabetes aumenta en 20 veces el riesgo de pérdida de visión y, en realidad, una cuarta parte de los casos de ceguera se deben a la existencia de retinopatía diabética. Por tanto, se considera a la diabetes como la primera causa de ceguera en el mundo desarrollado y en vías de desarrollo **(Bosch X y cols., 2002; Iglesias González R y cols., 2014)**.

Por otro lado, la afectación de los pies del paciente diabético se sitúa alrededor de un 15-20%, que pueden evolucionar a la formación de úlceras e, incluso, a la amputación. El pie diabético se asocia a la polineuropatía sensoriomotora distal, a la enfermedad vascular periférica y a una mayor susceptibilidad a las infecciones **(Ahmad J., 2016)**.

Otra de las complicaciones crónicas a destacar en el paciente diabético es la disfunción eréctil. Se trata de una complicación frecuente en varones con diabetes, con una prevalencia en torno al 38-55%. Se debe a un defecto en la relajación de la musculatura lisa mediada por óxido nítrico, como consecuencia de una lesión autonómica y disfunción endotelial **(Malavige LS y cols., 2009)**.

Por último, en lo referente a la enfermedad cardiovascular, que incluye la cardiopatía coronaria, enfermedad cerebrovascular y enfermedad vascular periférica, es importante destacar que supone la principal causa de mortalidad en individuos con diabetes, unos dos tercios del total de pacientes. El riesgo de mortalidad de los pacientes diabéticos es el mismo que el de los no diabéticos que han sufrido un infarto de miocardio (alrededor del 20%), y este riesgo se triplica entre aquellos diabéticos que sufren un infarto. En definitiva, los pacientes diabéticos constituyen un grupo de alto riesgo para contraer enfermedades cardiovasculares, con un riesgo de mortalidad similar al de aquellos con enfermedad cardiovascular ya declarada **(Bosch X y cols., 2002; Iglesias González R y cols., 2014)**.

**Tabla 1.3.:** Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus.

COMPLICACIONES MICROVASCULARES	COMPLICACIONES MACROVASCULARES
Retinopatía	Enfermedad cardiovascular
Nefropatía	Enfermedad cerebrovascular
Pie diabético	Enfermedad vascular periférica
Neuropatía	Disfunción eréctil

#### **1.1.4. DIABETES MELLITUS TIPO 2.**

##### **1.1.4.1. Concepto y etiopatogenia.**

La diabetes mellitus tipo 2 representa el 90-95% del total de diagnósticos de diabetes mellitus. Su pico de incidencia se sitúa en general a partir de los 35-40 años de edad con una intensa asociación familiar de base poligénica. Se acompaña generalmente de otros factores de riesgo cardiovascular tales como la obesidad, la hipertensión arterial y la dislipemia. Se trata de una patología caracterizada por una elevada neoglucogénesis hepática, así como una excesiva producción de mediadores procoagulantes, proinflamatorios e inductores de la resistencia a insulina. Existe, en mayor o menor medida, cierto déficit de la producción de insulina incapaz de compensar esta resistencia periférica. Los principales factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad son el sedentarismo, la obesidad o sobrepeso de predominio abdominal, tener antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2 y llevar una dieta hipercalórica rica en hidratos de carbono simples y grasas (**Goday A., 2002; Bosch X y cols., 2002; Soriano Perera P y cols., 2007; American Diabetes Association., 2014**). No obstante, además de los factores higiénico-dietéticos mencionados, se han encontrado hallazgos analíticos, tales como la elevación de la interleucina 6 y la proteína C reactiva, que pueden predecir el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2. Estos datos señalan el papel de la inflamación en el origen de la diabetes (**Pradhan AD y cols., 2001**).

##### **1.1.4.2. Epidemiología.**

La prevalencia mundial se sitúa en torno al 8-12%. La tendencia general es a incrementarse. De hecho, un 50% de los casos de diabetes mellitus tipo 2 permanecen aún sin diagnosticar, por lo que al diagnóstico ya suelen presentar complicaciones macro o microvasculares, con el peor pronóstico de la enfermedad que esto conlleva. Se trata de una patología en continua expansión, constituyéndose como una gran epidemia del s. XXI. Su prevalencia está aumentando en todo el mundo y, según los datos existentes, esta tendencia seguirá hasta 2025 (**Bosch X y cols., 2002; Goday A., 2002; Soriano Perera P y cols., 2007; American Diabetes Association., 2014**).

### 1.1.4.3. Tratamiento.

El tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 se basa fundamentalmente en los cambios del estilo de vida. Se encuadran dentro de estos cambios del estilo de vida a todas aquellas medidas encaminadas hacia una dieta equilibrada y la realización de ejercicio físico.

La dieta del paciente diabético mantiene la misma distribución de macronutrientes que la recomendaba para la población general. Consta de un 55-60% de hidratos de carbono, un 25-30% de grasas y un 15-20% de proteínas. Los hidratos de carbono presentes en la dieta deberán ser principalmente hidratos de carbono complejos, tales como cereales, legumbres o patata. Se recomiendan de unas 6 a 11 porciones al día. Por el contrario, los hidratos de carbono simples no deberán superar al 20% del total de hidratos consumidos, de entre ellos las frutas son las más recomendables, aproximadamente unas 2 a 4 porciones al día. Las fuentes de proteínas que se incluyen en la dieta pueden ser de origen animal o vegetal. Las proteínas de origen animal deben constituir el 60% de las proteínas de la dieta. En este grupo encontramos alimentos tales como carnes, pescados, huevos y lácteos. Por otra parte, las proteínas de origen vegetal deben constituir en torno al 40% de la dieta. En cuanto a las grasas, éstas pueden tener un origen animal o vegetal. Dentro de las grasas de origen animal, destacan los ácidos omega-3 presentes sobre todo en el pescado azul, las cuales presentan propiedades muy beneficiosas para el paciente diabético: antiinflamatorias, antitrombóticas, vasodilatadoras, disminución de la tensión arterial y colesterol LDL. Por otro lado, de las grasas de origen vegetal más recomendables destacan los alimentos ricos en ácidos grasos monoinsaturados, presentes en el aceite de oliva y que presentan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y de incremento del colesterol HDL. Por último destacar el papel de la fibra, cuyo consumo equilibrado, aproximadamente de unos 20 a 25 g al día, se ha relacionado con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer de colon, obesidad y diabetes mellitus (**Bantle JP y cols., 2008; American Diabetes Association., 2012**).

El otro pilar esencial del tratamiento es el ejercicio físico, que presenta multitud de beneficios para la salud más allá del control glucémico de la diabetes. Se recomiendan al menos 150 minutos semanales de ejercicio físico de intensidad moderada para conseguir beneficios sobre el control metabólico. El entrenamiento de

carácter aeróbico es el que más se encuentra relacionado con el consumo muscular de glucosa, por lo que presenta un mayor poder hipoglucemiante. Se trata del ejercicio de elección para mejorar el control metabólico en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (**Umpierre D y cols., 2011; American Diabetes Association., 2015**).

Una vez instaurados los cambios en el estilo de vida previamente mencionados, en ocasiones puede ser necesario iniciar un tratamiento farmacológico asociado para un adecuado control metabólico de la enfermedad. El tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2 ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, apareciendo en el mercado nuevas moléculas, nuevos grupos farmacológicos y nuevas dianas terapéuticas. Distintas sociedades científicas, entre ellas la *American Diabetes Association*, han elaborado un algoritmo de tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (Tabla 1.5.). La base de este algoritmo sigue siendo la dieta y el ejercicio físico. Una vez instaurados los cambios en el estilo de vida, se sitúa en el siguiente escalón terapéutico el clorhidrato de metformina, fármaco antidiabético oral, en monoterapia (**Inzucchi SE y cols., 2015**).

La metformina pertenece al grupo farmacológico de las biguanidas y su mecanismo de acción de basa en la inhibición de la neoglucogénesis hepática. Es un fármaco que incrementa la sensibilidad del organismo a la insulina, de ahí su eficacia en el control glucémico de la diabetes mellitus tipo 2. Tras el empleo de la metformina como tratamiento para la diabetes mellitus tipo 2, surgen multitud de combinaciones farmacológicas con distintos grupos de fármacos antidiabéticos orales u inyectables: sulfonilureas, meglitinidas, glitazonas, inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa, análogos del péptido similar al glucagón tipo 1, inhibidores de la enzima dipeptidil-peptidasa 4 e inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2. Así mismo, existe la posibilidad de combinar estos grupos farmacológicos con la insulina inyectable como tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. La insulina como tratamiento en la diabetes también ha sufrido un gran cambio en los últimos años con el desarrollo de nuevas insulinas cada vez más efectivas, de mayor duración, menor incidencia de hipoglucemias y manteniendo un buen perfil de seguridad (**Inzucchi SE y cols., 2015**).

En la siguiente tabla quedan reflejados los distintos tipos de insulina, comercializadas en España, en relación con su perfil de acción (Tabla 1.4.).

**Tabla 1.4.:** Clasificación de los tipos de insulina comercializados en España.

<b>INSULINA DE ACCIÓN ULTRARÁPIDA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insulina glulisina (Apidra®).</li> <li>• Insulina lispro (Humalog®; Humalog 200 UI/ml®).</li> <li>• Insulina aspart (Novorapid®).</li> </ul>
<b>INSULINA DE ACCIÓN RÁPIDA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insulina regular humana (Actrapid®).</li> </ul>
<b>INSULINA DE ACCIÓN INTERMEDIA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insulina NPH (<i>Neutral Protamine Hagedorn</i>).</li> </ul>
<b>INSULINA DE ACCIÓN PROLONGADA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insulina detemir (Levemir®).</li> <li>• Insulina glargina (Lantus®; Abasaglar®).</li> <li>• Insulina glargina U300 (Toujeo®).</li> <li>• Insulina Degludec (Tresiba®).</li> </ul>
<b>INSULINAS MEZCLADAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NPH +insulina regular.</li> <li>• NPH+ insulina aspart.</li> </ul>

En la Tabla 1.5. se muestra una adaptación del algoritmo terapéutico de la diabetes mellitus tipo 2 de acuerdo con la *American Diabetes Association* del año 2015..

**Tabla 1.5.:** Adaptación del algoritmo terapéutico de la diabetes mellitus tipo 2. *American Diabetes Association 2015.*

<b>PRIMER ESCALÓN TERAPÉUTICO:</b> DIETA EQUILIBRADA, CONTROL DE PESO, INCREMENTO DE ACTIVIDAD FÍSICA Y EDUCACIÓN DIABETOLÓGICA.				
<b>SEGUNDO ESCALÓN TERAPÉUTICO:</b> METFORMINA				
<b>TERCER ESCALÓN TERAPÉUTICO</b>				
METFORMINA	+	SULFONILUREAS		
METFORMINA	+	GLITAZONAS		
METFORMINA	+	INHIBIDORES DPP-4		
METFORMINA	+	INHIBIDORES SGLT2		
METFORMINA	+	AGONISTAS GLP-1		
METFORMINA	+	INSULINA (BASAL)		
<b>CUARTO ESCALÓN TERAPÉUTICO</b>				
METFORMINA	+	SULFONILUREAS	+	Glitazonas/ Inhibidores DPP-4/ Inhibidores SGLT-2/ Agonistas GLP-1/ Insulina (Basal)
METFORMINA	+	GLITAZONAS	+	Sulfonilureas/ Inhibidores DPP-4/ Inhibidores SGLT-2/ Agonistas GLP-1/ Insulina (Basal)
METFORMINA	+	INHIBIDORES DPP-4	+	Sulfonilureas/ Glitazonas/ Inhibidores SGLT-2/ Agonistas GLP-1/ Insulina (Basal)
METFORMINA	+	INHIBIDORES SGLT2	+	Sulfonilureas/ Glitazonas/ Inhibidores DPP-4/ Agonistas GLP-1/ Insulina (Basal)
METFORMINA	+	AGONISTAS GLP-1	+	Sulfonilureas/ Glitazonas / Inhibidores DPP-4/ Inhibidores SGLT-2/ Insulina (Basal)
METFORMINA	+	INSULINA (BASAL)	+	Sulfonilureas/ Glitazonas/ Inhibidores DPP-4/ Inhibidores SGLT-2/ Agonistas GLP-1
<b>QUINTO ESCALÓN TERAPÉUTICO:</b> METFORMINA + INSULINA BASAL + INSULINA PRANDIAL / AGONISTA GLP-1				

En conclusión, el tratamiento de la diabetes mellitus y sus complicaciones exige de un abordaje multidisciplinar e individualizado, centrado en el paciente **(Inzucchi SE y cols., 2015)**.

#### **1.1.5. DIABETES MELLITUS Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.**

La diabetes mellitus implica un mayor riesgo cardiovascular con respecto a la población general, suponiendo un incremento de dos a cuatro veces la mortalidad de causa cardiovascular. Así mismo, la diabetes mellitus supone una reducción media de la esperanza de vida entre siete y ocho años **(Franco OH y cols., 2007; Leal J y cols., 2009)**.

Además de la propia hiperglucemia, existen otros factores de riesgo cardiovascular que se suelen asociar con la diabetes mellitus, tales como la hipertensión arterial, la obesidad abdominal, y la dislipemia. Por otra parte, existen otros factores como tabaquismo o el hábito enólico, que también pueden incrementar el riesgo cardiovascular.

En el caso de la hipertensión arterial es conocido el hecho de que se trata de un importante factor de riesgo cardiovascular, tal y como se demostró en el metaanálisis llevado a cabo por el grupo **Prospective Studies Collaboration** en **2002**, que incluyó los datos de 61 estudios prospectivos con un total de 1 millón de pacientes de entre 40 y 70 años en prevención primaria, en el que se observó que un incremento de 20 mm Hg en la presión arterial sistólica o de 10 mm Hg en la presión arterial diastólica duplicaba aproximadamente el riesgo de muerte cardiovascular, en especial muerte por accidentes cerebrovasculares.

Por tanto, la asociación entre diabetes mellitus e hipertensión arterial parece ejercer un efecto sinérgico en el desarrollo de la enfermedad coronaria. La hipertensión arterial coexistente se asocia con un incremento en la tasa de microalbuminuria, hipertrofia de ventrículo izquierdo e historia previa de otros eventos cardiovasculares que pueden ocurrir incluso al diagnóstico inicial de la diabetes. Todo ello conlleva la necesidad de que exista un buen control de las cifras de tensión arterial en los pacientes con diabetes, manteniendo una presión arterial sistólica <130 mm Hg y una presión arterial diastólica < 85 mm Hg **(Crespo Mojena N y cols., 2002)**.

En referencia a la obesidad, constituye un factor independiente de riesgo cardiovascular. Así mismo, predispone al desarrollo de dislipemia, hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2 y alteraciones de la coagulación, incrementando el riesgo cardiovascular **(Poirier y cols., 2006)**. En cuanto a la prevalencia de la obesidad en la población con diabetes mellitus tipo 2, se estima en torno al 80-95% de los pacientes **(Mafong D y cols., 2008)**.

Los riesgos para la salud que implica la obesidad pueden ser definidos a partir del índice de masa corporal, aunque se le ha atribuido una mayor importancia al acúmulo de grasa a nivel central. La llamada obesidad abdominal constituye un factor de riesgo cardiovascular y se encuentra incluida dentro de los criterios que definen el síndrome metabólico por el *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) en el año 2001. Se considera un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm en el varón y  $\geq 88$  cm en la mujer como de alto riesgo cardiovascular tal y como fue publicado en el año 2001 por el grupo **Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults**.

A continuación se presentan los criterios de síndrome metabólico de acuerdo con la NCEP-ATP III 2001 (Tabla 1.6.).

**Tabla 1.6.:** Criterios de síndrome metabólico por la National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) 2001.

<b>CRITERIOS DE SÍNDROME METABÓLICO (NCEP-ATP III 2001).</b>	
<i>Debe cumplir <math>\geq 3</math> de los siguientes criterios.</i>	
Obesidad abdominal	Perímetro de cintura $\geq 102$ cm en varones y $\geq 88$ cm en mujeres.
Triglicéridos	Triglicéridos $\geq 150$ mg/dl.
Colesterol HDL	Colesterol HDL $< 40$ mg/dl en varones y $< 50$ mg/dl en mujeres.
Presión arterial	Presión arterial $\geq 130/85$ mm Hg o tener el diagnóstico de hipertensión arterial y recibir tratamiento.
Glucemia	Glucemia en ayunas $\geq 110$ mg/dl o tener el diagnóstico de diabetes mellitus y recibir tratamiento.

La adiposidad visceral relacionada con la obesidad central se ha asociado con la resistencia a la acción de la insulina. Inicialmente el tejido adiposo se vuelve resistente a la acción de la insulina debido al efecto de las adipoquinas, como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  o la interleucina-6. Posteriormente la resistencia a la insulina se extiende a otros tejidos y se produce un incremento tanto de los niveles de insulina como los de glucosa (**Rodríguez-Rodríguez E y cols., 2009**). En base a estos cambios fisiopatológicos, la adiposidad visceral se ha asociado con la alteración a la tolerancia oral de la glucosa y a la diabetes mellitus tanto en varones (**Pascot A y cols., 2000**) como en mujeres (**Nicklas BJ y cols., 2003**).

La adiposidad abdominal juega un papel más importante en el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular que la adiposidad general (**Martínez-Gómez D y cols., 2010**). Esta adiposidad abdominal supone un importante predictor de alteraciones metabólicas, incluyendo hiperinsulinismo, intolerancia a los hidratos de carbono, hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular (**Ribeiro-Filho FF y cols.,**

**2001).** Por otro lado, el aumento de grasa visceral no solo tiene implicaciones a nivel cardiovascular, sino que también se ha asociado con un incremento del riesgo de mortalidad por cualquier causa **(Kuk JL y cols., 2006).**

En cuanto a la dislipemia, ésta es más frecuente en los pacientes con diabetes mellitus con respecto a los no diabéticos. Aproximadamente está presente en un 40-60% de los pacientes diabéticos, aunque frecuentemente se encuentra infradiagnosticada e infratratada. El perfil lipídico generalmente se caracteriza por un incremento en las concentraciones de triglicéridos, de ApoB y de lipoproteínas de muy baja densidad con predominio de partículas LDL pequeñas y densas. Además, se relaciona con una disminución de las cifras de colesterol HDL. Cabe destacar que la asociación de la dislipemia con el riesgo cardiovascular es conocida, tal y como demostró el estudio **United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)** llevado a cabo entre los años 1977 y 1991. En dicho estudio se observó que cada aumento de las concentraciones del colesterol LDL en 1 mmol/L (39 mg/dl) se asociaba con un 57% de aumento del riesgo de infarto de miocardio, convirtiéndose el colesterol LDL en un buen factor predictivo de infarto de miocardio. Por el contrario, el colesterol HDL se correlacionaba de forma inversa con el riesgo cardiovascular, pues por cada aumento de 0.1 mmol/L (3.9 mg/dl) se observó un descenso del 15% en los episodios cardiovasculares. Sin embargo, la relación entre las cifras de triglicéridos y riesgo cardiovascular no está tan clara.

En referencia al tabaquismo, se conoce su asociación con un incremento del riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 **(Willi C y cols., 2007).** El consumo de tabaco supone un factor independiente de riesgo cardiovascular, incrementando el riesgo de infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y arteriopatía periférica. La combinación de diabetes mellitus tipo 2 y el tabaquismo potencian el riesgo de desarrollar estas enfermedades cardiovasculares y exacerban otras complicaciones propias de la diabetes **(Ko GT y cols., 2005).**

Respecto al consumo de alcohol, se sabe que un consumo moderado de alcohol puede proteger frente a la diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. No obstante los potenciales mecanismos por medio de los cuales el alcohol juega este papel se siguen investigando: cambios en el perfil lipídico y factores de hemostasia, mejora de la sensibilidad a la insulina y menor adiposidad abdominal, entre otros **(Greenfield JR y cols., 2005).** Los bajos índices de mortalidad

cardiovascular en los consumidores moderados de alcohol se deben sustancialmente a la baja incidencia de mortalidad por enfermedad coronaria. Sin embargo, existe cierta controversia en relación a los efectos del alcohol y el riesgo cardiovascular, ya que el consumo de alcohol se ha asociado con un mayor riesgo de mortalidad por hipertensión arterial, ictus hemorrágico y cardiomiopatía, lo cual contrasta con el bajo riesgo de enfermedad coronaria, ictus aterotrombótico y síndromes cardiovasculares no específicos también asociados al consumo de alcohol **(Klatsky AL y cols., 1990)**.

#### **1.1.6. ESTRÉS OXIDATIVO Y DIABETES.**

Se define el estrés oxidativo como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y radicales libres, que provocan un daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa del cuerpo. Los radicales libres son moléculas que contienen un electrón (e-) no apareado, ésta característica los hace sumamente reactivos y capaces de dañar a otras moléculas. Las especies reactivas incluyen a las de oxígeno (ROS), hierro (RIS), cobre (RCS) y a las de nitrógeno (RNS). Estas especies se forman como productos del metabolismo de los radicales libres, es decir, son moléculas oxidantes que se transforman fácilmente en radicales libres **(Ramos Ibarra y cols., 2006)**.

Las especies reactivas y los radicales libres provocan gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena, causando un daño celular consistente en la oxidación de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, efectos genotóxicos por la oxidación de nucleótidos, que producen acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad y apoptosis. Todo esto induce a que se presenten múltiples enfermedades, entre las que se encuentra la diabetes mellitus. Las células de nuestro cuerpo están expuestas constantemente a las reacciones de óxido-reducción. Durante el proceso de reproducción celular se consume oxígeno y se genera ATP, lo que origina productos tales como el dióxido de carbono y agua. Sin embargo, durante esta transformación normal, se producen también especies reactivas y radicales libres. No obstante, el organismo ha desarrollado sistemas de defensa antioxidantes intra y extracelulares, tanto enzimáticos (catalasa [CAT], superóxido dismutasa [SOD], glutatión peroxidasa [GPx] y glutatión reducido [GSH]) como no enzimáticos (vitamina

E, C, betacarotenos, polifenoles, flavonoides, oligoelementos, urato, ubiquinol y proteínas plasmáticas) para mantener el equilibrio rédox en las células. Este equilibrio de óxido-reducción es esencial para perpetuar la fisiología de los seres vivos, ya a que en todos los procesos metabólicos se producen pequeñas cantidades de radicales libres **(Ramos Ibarra y cols., 2006; Cruz Hernández J y cols., 2011; Heredia D y cols., 2014)**.

Tanto en la patogénesis como en las complicaciones de la diabetes mellitus parece existir una implicación importante del estrés oxidativo. Los mecanismos que pueden contribuir al aumento de dicho estrés en pacientes diabéticos son diferentes, en particular en aquellos sujetos con escaso control glucémico e hipertrigliceridemia. Estos mecanismos que participan en la formación de radicales libres en pacientes diabéticos no solamente incluyen el incremento de la glucosilación no enzimática y la auto-oxidativa, sino también al estrés metabólico, resultado de cambios energéticos del metabolismo, en el nivel de los mediadores de la inflamación y en el estado del sistema antioxidante de defensa. El aumento de los radicales libres empeora la acción de la insulina a nivel periférico, contribuye a la disfunción de la célula beta pancreática y está implicado en el desarrollo de las complicaciones crónicas. En pacientes diabéticos existe un desequilibrio entre los mecanismos antioxidantes y oxidantes. Se ha demostrado una disminución de los niveles plasmáticos de enzimas antioxidantes, de glutatión y de vitaminas antioxidantes. Por otro lado, existe evidencia de un aumento de la peroxidación lipídica mediada por radicales libres en estos enfermos **(Giugliano D y cols., 1996; Ramos Ibarra y cols., 2006; Cuerda C y cols., 2011; Cruz Hernández J y cols., 2011)**. Además, se ha observado que la hiperglucemia, ya sea medida a través de la glucemia basal plasmática o a través de la hemoglobina glicosilada, reduce la actividad enzimática de la superóxido dismutasa **(Quilliot D y cols., 2001)**.

En un estudio de casos y controles, se analizaron muestras plasmáticas de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e individuos sin diabetes, objetivándose que las actividades de SOD, CAT, así como las concentraciones de GSH disminuyeron significativamente en el grupo de diabéticos. Por otro lado, especies reactivas de oxígeno como el MDA (malondialdehído) aumentó de forma muy significativa en los pacientes diabéticos **(Heredia D y cols., 2014)**.

En otro estudio relacionado con el estrés oxidativo, se realizaron determinaciones en saliva para comprobar si este fluido puede ser un buen marcador de estrés oxidativo en patologías como la diabetes mellitus o la toxicomanía a drogas por vía parenteral. En dicho estudio se analizó la saliva de pacientes diabéticos y adictos a drogas por vía parenteral, observando en ambos grupos niveles significativamente bajos de glutatión reducido (GSH) y altos de glutatión disulfide (GSSG) con respecto al grupo control ( $p < 0,001$ ). Se concluyó que la saliva puede ser un fluido biológico aceptable para determinar el pronóstico y evolución de estas enfermedades y sus complicaciones orales **(Arana C y cols., 2006)**.

En cuanto a la relación entre estrés oxidativo y las complicaciones de la diabetes mellitus, concretamente en relación al daño endotelial mediado por la hiperglucemia, parece ser que genera un aumento en la producción de anión superóxido que puede eliminar óxido nítrico, potente vasodilatador que participa en la homeostasis de los vasos sanguíneos. Además, la hiperglucemia reduce la relajación endotelial y retrasa la replicación celular. Estos efectos podrían ser reversibles a través de agentes antioxidantes. No obstante, parece existir distinta susceptibilidad en relación al estrés oxidativo y su papel en el desarrollo tanto de las complicaciones macrovasculares como microvasculares presentes en los pacientes con diabetes mellitus, que podría explicarse por la situación antioxidante endógena de cada individuo **(Giugliano D y cols., 1996)**.

Se han realizado multitud de estudios de intervención con antioxidantes en población general y en pacientes con riesgo cardiovascular (diabéticos, hipertensos, fumadores...), siendo menos los estudios que incluyen únicamente pacientes diabéticos, y dentro de ellos la mayoría están realizados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. La mayoría de estos estudios de intervención emplearon suplementación con vitamina E como antioxidante, mostrando un papel beneficioso de la vitamina E en la vasodilatación dependiente del endotelio en sujetos con riesgo cardiovascular como dislipemia, diabetes o enfermedad cardiovascular establecida. En alguno de ellos, la mejoría de la función endotelial se relacionó directamente con la reducción del estrés oxidativo, apoyando que el beneficio de la vitamina E sobre la función endotelial depende en parte de sus efectos antioxidantes **(Cuerda C y cols., 2011)**.

Por otro lado, también se ha llevado a cabo estudios empleando diferentes antioxidantes a dosis variables: vitamina C 100-3000 mg, beta-caroteno 6-60 mg, zinc 10-30 mg, selenio 100-800 µcg, cromo 400-1.000 µcg, entre otros. Sin embargo los datos de los estudios disponibles no son concluyentes sobre los efectos de diferentes combinaciones de antioxidantes en la prevención de la diabetes. De hecho, la suplementación con algunos antioxidantes como el selenio parece asociarse a un aumento en el riesgo de esta enfermedad. Tampoco la combinación de antioxidantes ha mostrado un efecto beneficioso sobre la morbilidad cardiovascular y global en diferentes poblaciones, incluidos los pacientes con diabetes mellitus **(Cuerda C y cols., 2011)**.

En referencia a la suplementación con selenio en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, ésta podría estar asociada con efectos adversos a nivel de la homeostasis de la glucosa en sangre, incluso cuando partimos de una concentración de selenio plasmático deficiente y se incrementa hasta unos niveles óptimos antioxidantes **(Faghihi T y cols., 2014)**.

En relación a la suplementación con zinc en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 no ha mostrado beneficios significativos con respecto a placebo, no modificando ni las cifras de HbA1c ni la homeostasis de la glucosa **(Roussel AM y cols., 2003)**.

Aunque la suplementación con zinc para la totalidad de la población no parece justificada, de acuerdo con otros autores estaría indicada en poblaciones específicas con riesgo de deficiencia de zinc, como el caso de la diabetes mellitus, donde la suplementación podría ser fructífera **(Maret W y cols., 2006)**.

Se han realizado estudios donde la suplementación con zinc podría ser considerada como una opción viable, tal y como se apunta en los resultados obtenidos en un estudio realizado sobre 3575 sujetos en la India, donde se observó que un bajo consumo de zinc en la dieta y bajos niveles plasmáticos de zinc se asociaba con un incremento en la prevalencia de diabetes, intolerancia a los hidratos de carbono, hipertensión, hipertrigliceridemia, aumento del colesterol LDL y otros factores sugestivos de resistencia a la insulina **(Singh RB y cols., 1998)**.

En cuanto al papel del cobre en el estrés oxidativo, parece ser que tanto el exceso como la deficiencia de cobre pueden generar un daño oxidativo e interferir en importantes funciones celulares **(Gaetke LM y cols., 2003)**. Sin embargo, el cobre también ha sido valorado por su potencial efecto antioxidante, ya que se ha comprobado el efecto potenciador de los sistemas antioxidantes glutatión y thiol al ser aplicado en plasma humano **(Apak R y cols., 2005)**.

Por último, se ha observado que altas ingestas de ácido ascórbico y zinc podrían proteger contra la toxicidad por exceso de cobre. Así mismo, el beta-caroteno, el ácido alfa-lipoico y los polifenoles parecen atenuar el daño oxidativo inducido por el cobre **(Gaetke LM y cols., 2003)**.

## **1.2. ELEMENTOS TRAZA.**

### **1.2.1. ELEMENTOS TRAZA COMO BIOMARCADORES.**

Un biomarcadores un evento que se produce en un sistema biológico y se interpreta como indicador del estado de salud, de la esperanza de vida o del riesgo de enfermedad. Suelen clasificarse en biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad. La interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico depende de las características heredadas y adquiridas del individuo (o del sistema biológico), y de las circunstancias de la exposición, y como resultado es posible no encontrar efecto o tener algún efecto adverso. La importancia de los biomarcadores radica en la comprensión de diferentes aspectos de las enfermedades como: diagnóstico, tratamiento, prevención, progresión de la enfermedad, seguimiento, respuestas a la terapia, así como su aplicación en la evaluación experimental toxicológica para el desarrollo de medicamentos o pesticidas. Esta importancia de los biomarcadores también radica en su contribución en el desarrollo de diferentes campos de estudio como la toxicología, la salud ocupacional y la carcinogénesis **(Strimbu K y cols., 2010; Arango SS., 2012)**.

Existen multitud de biomarcadores en relación con diversas patologías. Entre algunos de los biomarcadores que presentan cada vez más interés en su determinación y estudio destacan los elementos traza.

Se consideran elementos traza, microminerales esenciales u oligoelementos a aquellas sustancias que forman parte activa como catalizadores y estructura de moléculas, que tienen funciones específicas y son indispensables para la vida. Se requieren en cantidades muy pequeñas en el organismo en un rango entre 50 µg a 18 mg por día **(Mertz W., 1981; Gómez García A y cols., 2003)**. Los elementos traza comprenden menos de 0.01% del peso corporal total. Hay que destacar que un elemento se considera esencial si de su deficiencia resulta una función biológica subóptima que puede prevenirse o es reversible con la ingesta de cantidades pequeñas de dicho elemento para compensar la deficiencia, que puede deberse a alteraciones en la absorción o debido a un aumento en la utilización del elemento por el organismo **(Gómez García A y cols., 2003)**.

Entre algunos de los principales elementos traza, que resaltan por su amplia implicación fisiopatológica, destacan el cobre y el zinc.

En relación al cobre (Cu), éste es un oligoelemento esencial en el ser humano para el adecuado funcionamiento de las distintas reacciones enzimáticas. El cuerpo humano adulto contiene entre 1.4 y 2 mg de cobre por kilogramo de peso. Además, las pérdidas de cobre diarias de un ser humano adulto se estiman aproximadamente en 1.3 mg. Aunque el cobre se precisa para el desarrollo de muchas de las funciones corporales, tanto las deficiencias como los incrementos excesivos de cobre han revestido gran importancia en la salud humana. El nivel máximo de ingesta tolerable de cobre en adultos corresponde a 5000 µg (5 mg). La ingesta mínima de cobre se sitúa en torno a 0.6 mg/día, mientras que el requerimiento medio y la ingesta de referencia para la población adulta es de 0.8 mg/día y 1.1 mg/día respectivamente **(Williams DM., 1983; García Gabarra A., 2006)**.

Habitualmente la mayor parte de las dietas conllevan una adecuada ingesta de cobre para la mayor parte de las personas. No obstante existen situaciones concretas que pueden acarrear en ocasiones con una deficiencia de este metal. Pueden darse deficiencias de cobre en recién nacidos prematuros o en paciente que reciben soporte nutricional parenteral por un tiempo prolongado sin suplementación de cobre **(Williams DM., 1983)**.

La deficiencia de cobre se ha asociado con un mayor estrés oxidativo. Este déficit de cobre se correlaciona con una producción alterada de energía, incremento

de la inflamación, anomalías en el metabolismo de la glucosa y el colesterol, incremento de iones de hierro, alteración estructural y fisiológica de la circulación sanguínea, hipertensión arterial, afecciones cardíacas, anemia, neutropenia y alteraciones a nivel de las células del sistema inmune (**Williams DM., 1983; Saari JT., 2000; Gómez García A y cols., 2003; Uriu-Adams JY y cols., 2005; Tirado Amador y cols., 2015**).

Se han implicado tres mecanismos posibles en el daño cardiovascular por la deficiencia de cobre: la peroxidación, como interacción entre los radicales libres de oxígeno con lípidos y proteínas, la glicosilación de proteínas, y la nitrosilación a través de la interacción del óxido nítrico y sus metabolitos con péptidos y proteínas (**Saari JT., 2000**). Existen enfermedades que cursan con déficit de cobre, como el llamado síndrome de Menkes, metabolopatía congénita donde existe una incapacidad de las células del cuerpo para liberar el cobre absorbido previamente (**Williams DM., 1983**).

Por otra parte, el cobre puede ser tóxico en exceso, generando un daño oxidativo e interferencia en el funcionamiento celular. Entre algunas de las repercusiones que puede precipitar destacan alteraciones neurológicas como la enfermedad de Alzheimer (**Uriu-Adams JY y cols., 2005**). Así mismo, existen trastornos genéticos de carácter autosómico recesivo como la enfermedad de Wilson, donde se produce una acumulación tóxica de cobre en diferentes órganos, en especial hígado y cerebro (**Tanzi RE y cols., 1993**).

Otro de los elementos traza que presenta un gran interés es el zinc. El zinc (Zn) se constituye como un oligoelemento fundamental para la conformación y el funcionamiento del ácido desoxirribonucleico (ADN), enzimas, coenzimas y hormonas. En el organismo en torno al 90% del zinc se encuentra almacenado; por tanto, la cantidad de zinc disponible en sangre puede variar con respecto a la cantidad real que hay en el organismo (**Gómez García A y cols., 2003; Tirado Amador y cols., 2015**).

A la hora de estimar el estatus de zinc en individuos sanos, las determinaciones de zinc en plasma, urinario y en el cabello son marcadores fiables (**Lowe NM y cols., 2009**). El cuerpo humano contiene aproximadamente de 1.5 a 2.5 g de zinc. La cantidad de ingesta recomendable de zinc es de 12 a 16 mg/día, aunque el contenido en zinc de los alimentos es muy variable (**Gómez García A y cols., 2003**).

El nivel máximo de ingesta tolerable de zinc se encuentra en 25 mg, mientras que el umbral mínimo de ingesta diaria se sitúa en 5 mg (**García Gabarra A., 2006**).

Los lugares de depósito de zinc suelen ser el músculo, el encéfalo, los pulmones y el corazón. La concentración de zinc en el organismo varía muy poco con respecto a la ingesta de zinc, sin embargo la cantidad de zinc ingerida sí que hacen variar las concentraciones de zinc en muestras biológicas como sangre o cabello. Algunas fuentes de zinc en los alimentos son las carnes rojas, algunos mariscos, el germen de cereales y la leche. Sin embargo, los requerimientos de zinc pueden variar a nivel mundial. Por tanto, los rangos entre ingestas deficitarias y tóxicas de zinc parecen bastante amplios, lo que sugiere que el refuerzo de la dieta con zinc podría ser una sencilla solución a su baja disponibilidad (**Gómez García A y cols., 2003; Tirado Amador y cols., 2015**).

El principal efecto tóxico del zinc deriva de su interacción con el metabolismo normal de cobre, lo que puede conducir al desarrollo de anemia (**Gómez García A y cols., 2003; Tirado Amador y cols., 2015**). Además, una alta ingesta de zinc podría generar una deficiencia de cobre (**Maret W y cols., 2006**).

Por otro lado, algunos autores han descrito que la deficiencia de zinc puede generar ciertas patologías como anemia, una respuesta inmune tardía, déficit de hierro, hipogonadismo, enanismo y hepatoesplenomegalia (**Prasad AS y cols., 1963; Gómez García A y cols., 2003; Tirado Amador y cols., 2015**). Se estima que aproximadamente por encima de 25% de la población mundial está en riesgo de deficiencia de zinc, cuya principal causa radica en el tipo de alimentación (**Maret W y cols., 2006**).

Además del cobre y el zinc, existen multitud de otros elementos traza que forman parte de la fisiología del organismo humano, cumpliendo funciones de muy diversa índole. Algunos de estos elementos traza se exponen a continuación:

El boro (B) interviene en la estabilidad de la membrana celular y el intercambio de señales y cationes a través de ella. A su vez, el boro actúa como competidor activo de algunas enzimas. Otra de sus funciones se observa en el metabolismo óseo, ya que actúa a este nivel con un papel semejante a los estrógenos. Por otra parte, algunos ésteres de boro sintetizados por bacterias presentan actividad antibiótica. La ingesta diaria de boro se encuentra entre 0,5 y 3,5 mg/día. La deficiencia de boro

interfiere en el metabolismo del calcio, magnesio, fósforo. Además se relaciona con alteraciones en la función cerebral (somnolencia, psicomotricidad, nivel de alerta) y el metabolismo energético. En cuanto al exceso de boro, éste produce alteraciones gastrointestinales, convulsiones, alteraciones electroencefalográficas, alteraciones reproductivas, pérdida ponderal y disminución de la libido **(Navarro Alarcón M y cols., 2010)**.

El calcio (Ca) es el catión más abundante en el organismo humano, aproximadamente 1000-1500 g, formando parte del esqueleto a modo de cristales de hidroxiapatita, que contiene el 99% del calcio corporal. Una de las principales funciones del calcio se centra en el metabolismo óseo, mediante la formación y mantenimiento de los huesos, evitando la pérdida de la masa ósea. Otra de sus importantes funciones radica en la excitabilidad neuromuscular, permitiendo la adecuada transmisión del impulso nervioso, la contracción del músculo liso y el tono del músculo esquelético. El calcio también se relaciona con el proceso de coagulación sanguínea, con la activación enzimática intra y extracelular y con el transporte entre membranas celulares como segundo mensajero. Las deficiencias de este mineral repercuten sobre todo sobre la masa ósea, provocando situaciones de menor mineralización ósea como la osteomalacia o el raquitismo. Por último destacar que los excesos de calcio pueden generar alteraciones gastrointestinales, calcificación de estructuras, litiasis renal o arritmias cardíacas, entre otras complicaciones **(Pérez-Llamas F y cols., 2010; Quesada Gómez JM y cols., 2011)**.

El cobalto (Co) es componente esencial de la vitamina B12, por lo que contribuye a la formación, mantenimiento y adecuado funcionamiento de los eritrocitos, papel que se ve reforzado al contribuir a la absorción intestinal de hierro. Así mismo, el cobalto está implicado en el metabolismo proteico y de los hidratos de carbono, favoreciendo la glucólisis y la captación de glucosa por los tejidos. Entre otras de sus funciones destacables se encuentran la de regular la presión arterial, agente vasodilatador, la formación de mielina y colaboración en la absorción de yodo para la síntesis de hormonas tiroideas **(Zaballos López L y cols., 2014)**.

El cromo (Cr) juega un importante papel en el metabolismo lipídico, proteico y de los carbohidratos. Se conoce su papel en la acción de la insulina y como potenciador del receptor de la insulina. Por otra parte, se ha relacionado con disminución de los niveles de colesterol total, del colesterol LDL y de los triglicéridos. Su déficit está relacionado con alteraciones en el metabolismo lipídico y de los hidratos

de carbono, mientras que su exceso se ha vinculado a la insuficiencia renal crónica. **(Navarro Alarcón M y cols., 2010).**

El estroncio (Sr) se encuentra muy relacionado con el metabolismo óseo. Se le atribuye la capacidad la formación y mineralización ósea por un lado, mientras que también es capaz de limitar la resorción ósea. En base a estas propiedades, se emplea en el tratamiento de la osteoporosis **(Cannata-Andía JB y cols., 2010).**

El fósforo (P) se caracteriza por su función estructural del esqueleto, formando parte de los cristales de hidroxapatita. Además de esta función estructural, el fósforo participa en el metabolismo energético al ser un elemento indispensable en el producción de ATP. También forma parte de ácidos nucleicos, nucleoproteínas, del AMP cíclico y del tampón fosfato, jugando un papel importante en el equilibrio ácido-base. En cuanto al metabolismo de los hidratos de carbono, el fósforo favorece la reabsorción de glucosa en el túbulo renal y participa en la fosforilación de la glucosa, favoreciendo su utilización por la célula. Las carencias de fósforo se asocian con alteraciones en la absorción intestinal de este mineral, hiperparatiroidismo y alteraciones en el balance calcio-fósforo. La sintomatología relacionada con la hipofosfatemia suele ser alteraciones óseas y debilidad muscular. Por otro lado, el exceso de fósforo puede originar alteraciones neuromusculares como la tetania **(Pérez-Llamas F y cols., 2010).**

El hierro (Fe) es el metal más abundante en el universo, y el cuarto elemento en frecuencia en la corteza terrestre. Se trata de un elemento que participa en procesos biológicos imprescindibles para la vida, como el transporte y almacenamiento del oxígeno, el metabolismo de neurotransmisores, la fosforilación oxidativa y la síntesis del ARN y ADN. La gran parte del hierro del organismo, aproximadamente un 70%, se encuentra formando parte de la hemoglobina, proteína transportadora de oxígeno y anhídrido carbónico. El hierro también forma parte de la mioglobina, los citocromos mitocondriales, ferritina, hemosiderina, transferrina, catalasa, peroxidasa, succinildeshidrogenasa, xantina oxidasa y NADH-citocromo C reductasa. En referencia a la deficiencia de hierro, es considerada la carencia nutricional más prevalente del mundo y la principal causa de anemia. Además de la anemia ferropénica, la deficiencia de hierro se asocia con alteraciones en la inmunidad celular, alteración de la termogénesis, retardo en el crecimiento, alteraciones conductuales, entre otras. Por otra parte, el exceso de hierro produce daños a nivel del parénquima de los órganos: daño hepático, alteraciones cardíacas (arritmias, miocardiopatía e insuficiencia cardíaca), artropatías, pigmentación de la piel y alteraciones endocrinológicas como

hipogonadismo hipogonadotropo, hipotiroidismo o diabetes mellitus **(Boccio J y cols., 2003; Olivares Grohnert M y cols., 2010)**.

El litio (Li) se relaciona con los sistemas enzimáticos de la monoaminoxidasa, isocitrato deshidrogenasa, aldolasa, creatina quinasa y malato deshidrogenasa. Sus principales acciones se observan en el campo de la Psiquiatría en patologías como la depresión endógena o el trastorno bipolar. La deficiencia de litio se asocia con bajo peso al nacer, fallo de medro en los primeros seis meses de vida, alteraciones en la reproducción, abortos, mortalidad postparto y alteraciones en enfermos con enfermedad renal crónica. Los niveles normales de litio oscilan en torno a 2-20 µg/l. No obstante los pacientes psiquiátricos requieren concentraciones elevadas, en torno a 2,1-8,3 mg/l. El exceso de litio puede originar ganancia ponderal, gastrointestinales o otros trastornos hormonales tales como hiperparatiroidismo, diabetes insípida nefrogénica e hipotiroidismo **(Navarro Alarcón M y cols., 2010)**.

El magnesio (Mg) se encuentra involucrado en numerosas funciones del organismo, presentando una estrecha relación con el calcio. Destaca su papel en el complejo enzimático ATPasa, formando el complejo ATP-Mg, participando en multitud de reacciones enzimáticas. Así mismo, el magnesio participa el mantenimiento de la normal excitabilidad neuronal y muscular, permitiendo la transmisión nerviosa y la contracción muscular de la fibra muscular lisa. A nivel cardiovascular, el magnesio tiene un papel cardioprotector, previniendo de la hipoxia e isquemia cardiaca e interviniendo en la contractibilidad cardiaca. Además, presenta una acción vasodilatadora y de efecto antitrombótico. En el plano del metabolismo óseo, regula la osificación y el equilibrio fósforo-calcio. Resulta fundamental a la hora de que el calcio se fije adecuadamente en el hueso. En referencia al metabolismo hidrocarbonado, participa en el proceso de glucólisis y en la oxidación de la glucosa a través de la activación enzimática, entre las que destacan la glucoquinasa, la hexoquinasa, la galactoquinasa, la glucosa-6-fosfatasa, la aldolasa, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, la transcetolasa y la fosfoglicerato quinasa. También presenta otras funciones relacionadas con el metabolismo proteico y lipídico, la movilidad de los espermatozoides, la síntesis de surfactante pulmonar o el equilibrio físico y mental. Su deficiencia se considera cuando los niveles plasmáticos son inferiores a 1 mEq/l, que generalmente se asocia con disminución de potasio y calcio. Las alteraciones asociadas con su deficiencia son la fatiga crónica, las alteraciones del sueño, tetania, convulsiones, irritabilidad neuromuscular, trombosis, alteraciones electrocardiográficas, alteraciones cerebrovasculares, trastornos del metabolismo de

los hidratos de carbono y disminución de las reservas de glucógeno muscular y hepático, entre otras. Por el contrario, el exceso de magnesio se relaciona con alteraciones del nivel de consciencia y arritmias cardíacas **(Aranda P y cols., 2000; Pérez-Llamas F y cols., 2010)**.

El manganeso (Mn) es conocido por su función antioxidante al formar parte de la superóxido dismutasa. Además, este oligoelemento es cofactor de enzimático en el ciclo de la urea y la gluconeogénesis. Otra de sus funciones radica en la formación de hueso y tejido conjuntivo esquelético, así como su participación en el metabolismo de proteínas, hidratos de carbono y lípidos. Por otra parte, los efectos relacionados con la deficiencia de manganeso se asocian con erupciones cutáneas, resorción ósea, alteraciones en la coagulación, alteraciones del sistema nervioso central y del metabolismo de los hidratos de carbono. Por otro lado, cabe destacar que no se conoce el umbral a partir de cuando los niveles de manganeso pueden ser tóxicos, pero se sabe que en poblaciones más expuestas en su ambiente laboral, como en la minería, se relaciona con alteraciones del sistema extrapiramidal **(Navarro Alarcón M y cols., 2010)**.

El molibdeno (Mo) participa como cofactor de enzimas, tales como la aldehído oxidasa, xantina oxidasa deshidrogenasa y sulfito oxidasa. Se encuentra implicado en el metabolismo de las purinas, pirimidinas, pteridinas y los aminoácidos azufrados. Su déficit se asocia con la xantínuria, alteraciones neurológicas y metabólicas. Por otra parte, su exceso se asocia con alteraciones esqueléticas **(Navarro Alarcón M y cols., 2010)**.

El níquel (Ni) en el organismo podría participar en la regulación de la absorción intestinal de hierro, por lo que su deficiencia se ha asociado con una hematopoyesis deprimida y retrasos en el desarrollo. Por otro lado, es conocida su toxicidad relacionada con cuadros de dermatitis de contacto, carcinogénesis, así como alteraciones a nivel pulmonar, gastrointestinal, neurológico y reproductivo **(Navarro Alarcón M y cols., 2010)**.

El selenio (Se) es un oligoelemento con función antioxidante, que forma parte de la glutatión peroxidasa. Presenta otras importantes funciones como anticarcinógeno por tiorredoxina, protege frente a la toxicidad de otros metales pesados, forma parte de la estructura de las tironina-5'-desyodasas implicadas en la síntesis de hormonas tiroideas sulfatadas y protege el endotelio vascular a través de la selenoproteína P.

Las deficiencias de selenio se asocian con la enfermedad de Keshan, alcoholismo, enfermedad de Kashin-Beck y en pacientes con soporte nutricional parenteral. Por otra parte, los excesos de selenio pueden tener repercusiones en la caída de cabello, alteración de faneras y del sistema nervioso central (**Navarro Alarcón M y cols., 2010**).

El vanadio (V) es un oligoelemento que se cree implicado en la regulación de las proteínas quinasas, la adenilciclase, la fosforiltransferasa y la Na/K ATPasa. También se le relacionado con el metabolismo de la glucosa, los lípidos y del hueso. La deficiencia de vanadio se asocia con una mayor tasa de abortos, alteración en la lactancia materna e incrementos séricos de creatinina y  $\beta$ -lipoproteínas, así como una disminución en los niveles de glucosa. Por el contrario, los niveles tóxicos de vanadio se asocian con alteraciones gastrointestinales, mialgias, sialorrea, hepatotoxicidad y lengua verdosa (**Navarro Alarcón M y cols., 2010**).

### **1.2.2. ELEMENTOS TRAZA Y DIABETES.**

Los elementos traza se encuentran implicados en el desarrollo de multitud de patologías, entre las que se encuentra la diabetes mellitus. Esta vinculación entre elementos traza y diabetes mellitus se relaciona con la alteración del metabolismo de algunos elementos traza como el zinc, cobre, hierro o magnesio que se dan en el paciente con diabetes. Estos cambios en el metabolismo mineral son más acentuados en la población con diabetes con complicaciones específicas. Sin embargo, no se conoce bien si la alteración de los elementos traza es una consecuencia de la diabetes o, por el contrario, una contribución al desarrollo de la enfermedad (**Walter RM y cols., 1991; Zheng Y y cols., 2008**).

Por otra parte, en lo que respecta al control metabólico de la diabetes y su relación con los elementos traza, de acuerdo con lo publicado en **2000** por **Kruse-Jarres JD y cols.**, los valores de zinc plasmático en los pacientes con diabetes tipo 2 parecían más elevados en pacientes con peor control glucémico (HbA1c >9%). Por el contrario, **Ekmekcioglu C y cols.**, en el año **2001**, mantenía que las concentraciones de elementos traza no dependen del grado de control glucémico, determinado mediante las cifras de hemoglobina glicosilada (HbA1c), al correlacionarlo con los niveles plasmáticos de los metales.

Aunque el papel de los metales en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones es discutido, multitud de estudios reflejan la relación entre diabetes y elementos traza. Se postula que tanto el exceso como el defecto de estos metales puedan tener un papel importante en el desarrollo de la diabetes mellitus (**Walter RM y cols., 1991; Zheng Y y cols., 2008**).

Uno de los primeros estudios al respecto fue llevado a cabo por **Isbir T y cols.**, en **1994**, donde se midieron los niveles plasmáticos de zinc, cobre y magnesio a un grupo de 20 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento insulínico, comparando los resultados obtenidos con los de un grupo de controles sanos. Se observó un aumento de los niveles de cobre en los pacientes con diabetes en relación con el grupo control, así como un descenso en los niveles tanto de magnesio como de zinc en el grupo de diabéticos con respecto al grupo control, postulándose un posible papel de estos elementos en el desarrollo de la insulinorresistencia.

En el año **1997**, **Anderson RA y cols.**, realizaron otro estudio sobre 180 pacientes con diabetes mellitus tipo 2, donde se concluyó que la suplementación con cromo en estos pacientes otorgaba beneficios significativos en las cifras de HbA1c, glucosa, insulina y niveles de colesterol. No obstante, los resultados en cuanto a la relación entre cromo y diabetes mellitus tipo 2 son contradictorios. Es conocida la implicación del cromo en el normal funcionamiento del metabolismo lipídico y de los carbohidratos, por lo que se también se ha estudiado su relación con el control metabólico de la diabetes.

Otro trabajo posterior observaba niveles significativamente más bajos de zinc en plasma ( $p < 0.01$ ) en pacientes con diabetes mellitus comparados con controles sanos. Sin embargo en este mismo trabajo no ocurría lo mismo respecto al cobre, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos (**Terrés-Martos C y cols., 1998**).

En el año **2000**, **Kruse-Jarres JD y cols.** presentaron otro estudio donde se investigaron las relaciones entre elementos traza y diabetes, los resultados mostraron un incremento de los niveles de cobre y zinc en sangre total y plasma de los pacientes con diabetes. Además, se objetivaron niveles de cromo significativamente incrementados en plasma y células polimorfonucleares en el grupo de diabéticos con respecto al grupo control. Por otra parte, los niveles de selenio, medido en eritrocitos, en el grupo de pacientes diabéticos fue más bajo que en el grupo control.

En otro estudio realizado sobre 53 pacientes diabéticos y 50 controles sanos se analizaron las concentraciones de varios metales en sangre, plasma, eritrocitos y linfocitos. Se observó cómo tanto los niveles de hierro como vanadio eran significativamente altos en los pacientes diabéticos con respecto a los controles. Por el contrario, los niveles de selenio, manganeso y cromo fueron significativamente bajos en pacientes diabéticos en relación a individuos no diabéticos (**Ekmekcioglu C y cols., 2001**). Posteriormente otros estudios como el llevado a cabo en **2008** por **Zheng Y y cols.**, también corroboraron el incremento de los niveles de hierro en los pacientes con diabetes mellitus frente a controles sanos. Así mismo, relacionaban la diabetes con niveles deficitarios de zinc y de cobre plasmáticos, aunque también con excesos de cobre en plasma.

**Basaki M y cols.**, en el **2012**, objetivaron en su estudio valores de zinc, cobre y cromo significativamente más bajos ( $p < 0,05$ ) en el plasma de personas con diabetes cuando se compararon con el plasma de sujetos sin diabetes.

Otro estudio llevado a cabo sobre 40 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y 36 individuos sanos determinó los niveles de 24 elementos traza en plasma. Se encontraron cambios significativos en los niveles de glucosa basal y en ocho elementos traza (zinc, cobre, selenio, hierro, manganeso, cromo, magnesio y arsénico) al comparar el plasma de los individuos diabéticos frente a los sanos. De todos ellos, el magnesio, hierro, cobre y zinc fueron los elementos más cruciales en su relación con la diabetes mellitus tipo 2. Los resultados concluyeron que los niveles de zinc, selenio, hierro, manganeso, cromo y magnesio fueron significativamente más bajos en el grupo de diabéticos frente a controles sanos. Por el contrario, los niveles de cobre fueron significativamente más altos en pacientes con diabetes frente al grupo de controles sanos (**Badran M y cols., 2016**).

Un estudio de casos y controles realizado por **Freitas EP y cols.**, en **2017**, trataba de buscar una asociación entre el zinc como biomarcador del riesgo cardiovascular en pacientes con síndrome metabólico. El estudio contaba con 88 pacientes con síndrome metabólico y 37 controles sanos. Fueron evaluados los niveles de zinc en plasma, zinc eritrocitario, excreción urinaria de zinc en 24 horas e ingesta de zinc. Los resultados mostraron una relación significativa entre el síndrome metabólico e incrementos en los niveles de zinc urinario y eritrocitario.

En un estudio llevado a cabo sobre 97 individuos, de los cuales 47 eran pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y 50 eran individuos no diabéticos, se determinaron las concentraciones de metales esenciales y no esenciales en suero y lágrimas. En lágrima, los niveles de zinc, cromo, cobalto, manganeso, bario y plomo fueron significativamente más elevados en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. En el caso del suero, las concentraciones de cromo y cobalto fueron más altas en el grupo control, mientras que las concentraciones de selenio fueron más elevadas en los pacientes diabéticos **(Cancarini A y cols., 2017)**.

Uno de los últimos estudios presentados por **Simić A y cols., en 2017**, investigó la asociación entre diabetes mellitus tipo 2 y 25 elementos traza medidos en plasma mediante espectrometría de masas. El estudio contó con 267 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 y 609 controles sanos. Los resultados objetivaron en la población diabética tipo 2 una asociación positiva de los niveles de boro, calcio y plata, así como una asociación inversa de los niveles de indio, plomo y magnesio. Por el contrario, no se encontraron asociaciones significativas en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con respecto de los niveles de arsénico, bromo, cadmio, cesio, cromo, cobre, galio, mercurio, molibdeno, níquel, rubidio, selenio, estroncio, tántalo, talio, estaño y zinc. También se observó un incremento significativo ( $p < 0,05$ ) en los niveles de calcio conforme mayor fue la duración de la diabetes mellitus tipo 2.

En relación a la aportación de los distintos estudios, elementos traza como el zinc adquieren una gran relevancia en su relación con la diabetes mellitus. En este sentido, el efecto predominante sobre la homeostasis del zinc en un estado de hiperglucemia, parece ser la deficiencia de zinc, que puede ser el resultado de una excreción urinaria de zinc aumentada o de la disminución en la absorción gastrointestinal del zinc **(Quilliot D y cols., 2001; Gómez García A y cols., 2003)**.

Sin embargo, esta circunstancia de deficiencia de zinc e hiperglucemia no parece tan clara al analizar otros estudios. Tal es el caso de un estudio realizado sobre 83 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus sin tratamiento insulínico, donde se determinaron los niveles de zinc, cobre y magnesio, obteniéndose niveles similares de zinc y magnesio con respecto a la población no diabética, mientras que los niveles de cobre fueron significativamente elevados en el grupo de los pacientes con diabetes ( $p < 0,01$ ) **(Zargar AH y cols., 1998)**.

Otro estudio publicado en **2016** por **Yary T y cols.**, también relacionaba niveles más elevados de zinc plasmático con un mayor riesgo de diabetes mellitus tipo 2. Esta asociación se podría explicar por los efectos del zinc sobre el índice de masa corporal y la sensibilidad a la insulina.

Por otra parte, las alteraciones en los elementos traza no sólo se han asociado con la presencia de diabetes mellitus o con el mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad, sino también con las complicaciones propias del paciente con diabetes mellitus tipo 2. En un estudio realizado sobre 76 pacientes diabéticos tipo 2 se midieron las concentraciones en suero de aluminio, vanadio, cromo, manganeso, cobalto, níquel, cobre, zinc, arsénico, selenio, molibdeno, mercurio, plomo y cadmio. Al analizar los resultados, se observó que una interacción antagónica entre el molibdeno y cobre podría estar involucrada en la progresión de las complicaciones en el paciente diabético (**Rodríguez Flores C y cols., 2011**).

En referencia a la relación existente entre elementos traza con la insulina, se ha observado que algunas alteraciones en la secreción y en la acción de la insulina se pueden relacionar con la disminución en las concentraciones del cromo o zinc. Son bien conocidos los papeles del zinc y cromo como cofactores de la insulina, aunque su mecanismo en relación al metabolismo de los hidratos de carbono no está del todo claro. Estudios in vitro e in vivo indican que la deficiencia de estos elementos predispone a alteraciones en el metabolismo de la glucosa e insulina, y con el tiempo pueden probar resistencia a la insulina, intolerancia a los hidratos de carbono, diabetes mellitus, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Así mismo, estudios realizados en animales y humanos indican que la deficiencia de zinc se asocia con la reducción en la secreción de insulina, resistencia tisular a la acción de esta hormona y aumento en las concentraciones séricas de glucosa (**Kimura K, 1996; Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009**).

En el caso particular del zinc, se conoce desde hace décadas que existe una relación entre la insulina y el zinc en la célula beta del islote pancreático, donde desempeña un claro papel en la síntesis, almacenamiento y secreción de insulina (**Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003**). Estudios genómicos han encontrado genes, tales como ZnT8 (SLC30A8), que codifican transportadores de zinc en los islotes de Langerhans que juegan un papel importante en la secreción de insulina y pueden estar implicados en el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2. Este tipo transportadores de zinc pueden ser una nueva diana terapéutica frente a la diabetes (**Rutter GA., 2010**).

Por otra parte, la relación entre el zinc y la insulina también se observa en la estructura hexamérica de esta hormona, ya que aproximadamente el 0,5% de la insulina cristalina está constituida por zinc. Estudios *in vitro* muestran la presencia de formas diméricas de la insulina en presencia de zinc a un pH neutro que favorece la formación de un hexámero que se conforma de tres dímeros, el cual es relativamente estable (**Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003**). Cambios en la conformación terciaria de la insulina producen alteraciones en la actividad biológica de esta hormona. En este sentido, existen datos que sugieren que modificaciones conformacionales de la insulina pueden afectar al enlace con su receptor y a las propiedades antigénicas de la propia insulina (**Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003**).

### 1.2.3. ELEMENTOS TRAZA Y RIESGO CARDIOVASCULAR.

Otro aspecto de los elementos traza, es su papel como marcadores de enfermedad cardiovascular, por lo que han sido objeto de estudio a lo largo de los años. Se han encontrado relaciones entre los elementos traza y las enfermedades cardiovasculares, aunque esta asociación no siempre es clara y precisa de más investigaciones.

A este respecto, en un estudio llevado a cabo en el año **1982** por **Salonen J y cols.**, se investigó la asociación entre el selenio sérico y el riesgo de muerte de origen coronario, así como el riesgo de infarto de miocardio fatal y no fatal. Se concluyó que niveles de selenio por debajo de 45 µg/l se asociaba con un incremento en el riesgo relativo de muerte de origen coronario, muerte de causa cardiovascular y riesgo de infarto de miocardio fatal y no fatal.

Por otro lado, dietas deficitarias en elementos traza como cromo, cobre, zinc o selenio se han relacionado con anormalidades en el metabolismo lipídico y con enfermedades cardiovasculares en estudios sobre animales y humanos. En este sentido, la suplementación con cromo en el adulto, con o sin diabetes, podría incrementar los niveles de colesterol HDL y descender los niveles de triglicéridos y colesterol total. Esta mejoría en el perfil lipídico podría contribuir a una mejora de la sensibilidad a la insulina, aunque otros estudios lo asocian con un descenso de la insulina circulante. Así mismo, dietas deficientes en plomo y cobre elevan los niveles lipídicos con el consiguiente daño cardíaco. El zinc y el selenio también aparecen relacionados con la enfermedad cardiovascular. En el caso del selenio se debe a la

asociación de dicho elemento con la agregación plaquetaria. Se concluye que una adecuada ingesta de cromo, cobre y selenio podrían mostrar beneficios sobre el riesgo de enfermedades cardiovasculares (**Anderson RA., 1986**).

Esta relación entre enfermedad cardiovascular y elementos traza fue investigada en un estudio de casos y controles, donde se analizó la relación entre muertes por enfermedad cardiovascular y cáncer en relación con los niveles séricos de zinc y cobre. Los datos obtenidos concluyeron que el riesgo ajustado por enfermedad cardiovascular y cáncer fue cuatro veces más alto en sujetos con elevados niveles de cobre (>1,43 mg/l) comparado con sujetos con niveles normales. Respecto a los niveles de zinc sérico, no hubo diferencias significativas respecto a muerte por causa cardiovascular o cáncer en las situaciones de niveles más elevados o más bajos de zinc sérico (**Kok FJ y cols., 1988**).

Posteriormente, en el año **1996**, **Houtman JPW** realizó una revisión sobre la relación entre elementos traza y enfermedad cardiovascular centrada en el arsénico, cobalto, cobre, cromo, flúor, manganeso, vanadio, zinc, selenio, silicio, cadmio y plomo. Se postuló que la contaminación ambiental podría estar involucrada en la concentración de estos elementos traza en el organismo, además de que existe una gran variabilidad en sus concentraciones entre los distintos organismos. Se concluyó que elementos como el selenio, cobre, zinc, cromo y manganeso parecían contrarrestar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, mientras que el cadmio y el plomo podrían estar involucrados en su desarrollo. En cuanto a los efectos del arsénico, silicio y flúor no están claros, mientras que el cobalto parece tener un efecto neutro en las enfermedades cardiovasculares. En definitiva, resulta muy complicado establecer una relación clara entre estos elementos y la enfermedad cardiovascular.

**Klevay LM.**, en el año **2000**, relacionaba la deficiencia de cobre plasmático con deficiencias de este mineral a nivel cardíaco, así como en otros órganos y células. Asociaba esta deficiencia de cobre con incrementos en los niveles de colesterol plasmático, aumento de las cifras de tensión arterial, alteraciones electrocardiográficas y alteraciones en el metabolismo de la glucosa.

Más recientemente, un estudio realizado sobre 200 pacientes dividido en dos grupos (con y sin enfermedad coronaria obstructiva), concluyeron que bajos niveles de zinc sérico y altos niveles de cobre sérico podrían intervenir en la patogénesis de la enfermedad coronaria obstructiva, sin embargo no se observó una relación con respecto al hierro sérico (**Al-Dohan JA y cols., 2015**).

En esta línea se encuentra una revisión llevada a cabo por **Chu A y cols.**, en **2016** sobre el papel de zinc con respecto al riesgo de enfermedad cardiovascular y de diabetes mellitus tipo 2. Dicha revisión concluyó que niveles elevados de zinc sérico se asocian con un riesgo menor de enfermedades cardiovasculares. Estos efectos fueron más pronunciados en poblaciones vulnerables, especialmente en la población diabética tipo 2. No obstante, la evidencia limitada sugiere que no existe una asociación clara entre los niveles de zinc y el riesgo de diabetes mellitus tipo 2.

Uno de los últimos artículos publicados a este respecto por parte de **Huang L y cols.**, en **2017**, hace referencia al papel del zinc en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. El estudio contó con 519 sujetos en los que se evaluaron los niveles de zinc sérico y su relación con la hipertrofia ventricular izquierda y el índice de masa ventricular izquierdo. Los resultados mostraron que los niveles de zinc séricos fueron significativamente bajos en los pacientes con hipertrofia ventricular izquierda, tanto excéntrica como concéntrica.

La relación entre enfermedad cardiovascular y elementos traza no siempre está clara, tal y como muestra **Hosseini B y cols.**, en **2017** en una revisión sistemática realizada sobre la ingesta de micronutrientes y grosor de la íntima media carotídea, que resultó inconcluyente.

### **1.3. LA SALIVA.**

#### **1.3.1. CONCEPTO Y COMPOSICIÓN.**

La saliva es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y menores en el 7% restante. El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas (**Llena Puy C., 2006; Walsh LJ., 2008; Caridad C., 2008; García Triana BE y cols., 2012; Calatrava Oramas LA., 2014**).

La composición de la saliva va a depender tanto de la mezcla de las secreciones de las glándulas específicas (saliva glandular), como de la mezcla entre sí en la cavidad bucal con las células epiteliales, líquido gingival y microorganismos (saliva mixta) (**Caridad C., 2008**). En referencia a la flora microbiana oral, se han descrito más de 700 microorganismos presentes en saliva que se han relacionado con patologías orales y sistémicas (**Zhang CZ y cols., 2016**).

La composición de la saliva es semejante a la del plasma, dependiendo en parte de su velocidad de secreción. Esto es, cuanto mayor es esta velocidad, más se asemejan tanto en osmolaridad como en composición. Cuando la velocidad de secreción disminuye, las células del epitelio ductal tienen más tiempo para modificar la composición iónica de la saliva **(Fabre B y cols., 2009)**.

De entre las moléculas orgánicas presentes en la saliva destaca su contenido en urea, amonio, ácido úrico, glucosa, colesterol, ácidos grasos, triglicéridos, glucolípidos, aminoácidos, hormonas esteroideas, mucinas y una amplia variedad de proteínas. Se han identificado del orden de 309 proteínas en saliva total. Aproximadamente más del 95% corresponde a las principales familias de proteínas que incluyen las siguientes: proteínas ricas en prolina, alfa-amilasa salival, mucinas, aglutininas, cistatinas, histatinas y estaterinas. Estas proteínas desempeñan multitud de funciones tanto a nivel local como sistémico. De entre todas las proteínas salivales, destacan por sus importantes funciones, las inmunoglobulinas, la lisozima, la lactoferrina y la peroxidasa humana salival **(Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016)**.

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas producidas por células plasmáticas con funciones defensivas como respuesta a la presencia de antígenos. Presentan una región variable por donde se efectúa la unión con el antígeno, a través del reconocimiento molecular. La inmunoglobulina más abundante en la saliva, es la inmunoglobulina A, proteína dimérica, producida por células plasmáticas localizadas en las glándulas salivales. Las inmunoglobulinas salivales pueden formar parte del biofilm dental. Entre sus funciones se encuentra la de neutralizar varios factores de virulencia bacterianos, limitar la adherencia, aglutinación de las bacterias y prevenir la penetración de agentes extraños a través de las mucosas. También pueden facilitar la acción de las células defensivas sobre los microorganismos **(Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016)**.

La lisozima salival es una proteína catiónica de bajo peso molecular con actividad catalítica. Está ampliamente distribuida en los fluidos corporales. Su acción antimicrobiana está relacionada con su capacidad para catalizar la hidrólisis de los polisacáridos de la pared celular bacteriana. No obstante, también se le ha descubierto actividad bactericida no enzimática por activación de autolisinas bacterianas **(Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016)**.

Las alfa-amilasas salivales son unas enzimas cuya función se relaciona con la digestión bucal del almidón proveniente de la dieta. Cataliza la ruptura de los enlaces poliméricos, acción determinada por la estructura de su centro activo. De este modo, desempeña un importante papel en la nutrición del individuo. A estas enzimas se las han relacionado también con el funcionamiento del sistema nervioso autónomo (**Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016**).

La lactoferrina es una metaloproteína con la propiedad de unirse al hierro. Esta proteína se encuentra tanto en saliva, como en otras secreciones tales como leche y lágrimas. Su actividad bacteriostática depende de su capacidad de eliminar del medio el hierro necesario para el metabolismo de los microorganismos. No obstante, su función bacteriostática parece ser más amplia al poseer un dominio antimicrobiano oculto, que es liberado de la molécula por la acción de enzimas proteolíticas digestivas. Por ello, se cree que este dominio bactericida se libera durante la digestión de la lactoferrina en el tracto gastrointestinal, lo que puede relacionarse con el papel protector de las proteínas salivales más allá de la cavidad bucal. Se conoce que la lactoferrina es una proteína multifuncional con actividad bactericida, bacteriostática, fungicida y viricida, además de su función moduladora de la respuesta inflamatoria (**Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016**).

Por último, mencionar el papel de la peroxidasa humana salival. Se trata de una enzima que cataliza la formación de compuestos bactericidas como el hipotiocianato y el ácido hipotiocianoso a partir del peróxido de hidrógeno y el tiocianato. Estos compuestos oxidantes pueden reaccionar rápidamente con los grupos sulfhidrilos de las enzimas bacterianas involucradas en la obtención de energía a partir de la glucosa; así inhiben su función y la concomitante producción de ácidos. Sin embargo, se cree que su principal función es eliminar al peróxido de hidrógeno generado localmente por las bacterias, sustancia altamente tóxica para las células de los mamíferos (**Fabre B y cols., 2009; García Triana BE y cols., 2012; Zhang CZ y cols., 2016**). Otra función no asociada a la generación de agentes oxidantes que se le ha atribuido a esta enzima, es la inhibición de la producción de polisacáridos extracelulares que fortalece la unión de las bacterias a la superficie dentaria en el biofilm (**García Triana BE y cols., 2012**).

Por otra parte, entre los componentes inorgánicos presentes en la saliva destaca una amplia gama de iones inorgánicos incluyendo calcio, fosfato, fluoruro, magnesio, sodio, potasio, yodo, bicarbonato y cloruro (**Walsh LJ., 2008**). En la saliva

también se pueden determinar trazas de metales pesados, aunque las concentraciones suelen ser bajas. Algunos de los metales que han sido aislados en saliva son: cadmio, plomo, zinc, mercurio, manganeso, cobre, titanio, cromo, hierro y cobalto **(Tirado Amador LR y cols., 2015)**. Además, existen otros componentes de la saliva que se encuentran relacionados con los iones inorgánicos, tal es caso de la proteína estaterina, que ayuda a mantener la sobresaturación de saliva con iones calcio e iones fosfato, tratando por tanto de inhibir la precipitación y el crecimiento de cristales de fosfato de calcio **(Walsh LJ., 2008)**.

Tabla 1.7.: Componentes de la saliva humana.

COMPONENTES DE LA SALIVA		
ORGÁNICOS (1%)	INORGÁNICOS (1%)	AGUA (99%)
Urea	Calcio	
Amonio	Fosfato	
Ácido úrico	Fluoruro	
Glucosa	Magnesio	
Colesterol	Sodio	
Ácidos grasos	Potasio	
Triglicéridos	Yodo	
Glucolípidos	Bicarbonato	
Aminoácidos	Cloruro	
Hormonas esteroideas	Cadmio	
<u>PROTEÍNAS</u>	Plomo	
Proteínas ricas en prolina.	Zinc	
Inmunoglobulinas.	Mercurio	
Lactoferrina.	Manganeso	
Peroxidasa humana salival.	Cobre	
Lisozima salival.	Titanio	
Alfa-amilasa salival.	Cromo	
Mucinas.	Hierro	
Aglutininas.	Cobalto	
Cistatinas.		
Histatinas.		

### 1.3.2. FUNCIONES.

La saliva desempeña multitud de funciones. En estrecha relación con las funciones de la saliva se encuentra el flujo salival, el cual puede variar de acuerdo con múltiples factores fisiológicos y patológicos, de forma reversible o irreversible.

La saliva desempeña un papel fundamental a la hora de preservar la salud bucal y general del individuo. Gracias a la saliva es posible un adecuado mantenimiento de la integridad de las estructuras bucales, la función de digestión a través de la masticación previa, la formación del bolo alimenticio, la deglución, funciones de relación como el gusto o el lenguaje y el control de infecciones orales. En relación a la protección frente a infecciones orales como la caries dental, la saliva ofrece una papel protector que se puede concretar en cuatro aspectos; dilución y eliminación de los azúcares y otros componentes, capacidad tampón, equilibrio entre la desmineralización y remineralización, además de acción antimicrobiana **(Llena Puy C., 2006; Walsh LJ., 2008; García Triana BE y cols., 2012).**

**Tabla 1.8.:** Funciones de la saliva humana.

<b>FUNCIONES DE LA SALIVA</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Función de relación</li><li>• Lenguaje</li><li>• Gusto</li><li>• Formación del bolo alimenticio</li><li>• Digestión</li><li>• Limpieza del medio oral</li><li>• Arrastre de partículas</li><li>• Acción antimicrobiana</li><li>• Dilución y eliminación de azúcares</li><li>• Capacidad tampón</li><li>• Deglución</li><li>• Equilibrio entre desmineralización /remineralización.</li></ul>

### 1.3.2.1. La saliva en investigación.

Otro aspecto importante a tener en cuenta de la saliva es su papel como matriz biológica para la investigación en multitud de campos. La saliva ofrece ostensibles ventajas para la investigación: muestras más pequeñas, la posibilidad de un estudio dinámico, una mayor sensibilidad, método no invasivo, procedimiento de recogida sencillo, permite una buena cooperación del paciente, la posibilidad de colección en cualquier lugar, no requiere de ningún equipo ni profesional técnico especialmente capacitado para la recolección, correlación en algunos casos con los niveles en la sangre y matriz potencialmente valiosa para los niños y adultos mayores. En definitiva puede proporcionar una solución rentable y suponer un nuevo enfoque para el estudio de grandes poblaciones **(Calatrava Oramas LA., 2014; Srinivasan M y cols., 2015)**.

Sin embargo, existen algunas limitaciones a la hora de seleccionar la saliva como matriz por excelencia para realizar mediciones; variaciones circadianas en el flujo de iones en la saliva, la presencia en la saliva de otras sustancias que pueden alterar las mediciones, tales como restos de comida, bacterias y células epiteliales. Así como otros aspectos que hacen referencia a la posibilidad de contaminación de la saliva con otros fluidos como sangre durante su recolección o por la manipulación inadecuada durante el procedimiento; además, en muchas ocasiones, no existen protocolos ni materiales de referencia estándar o certificados ni valores de referencia fiables para la población humana. A todo lo anterior hay que añadir que la recolección de muestra salival implica tener en cuenta algunas consideraciones generales como la hora del día en que se realiza y la higiene bucal, por lo que es recomendable que los sujetos de estudio no ingieran alimentos ni bebidas, ni realicen actividades como fumar o masticar chicles durante unos 30 minutos previos a la obtención de las muestras, con el fin de evitar la contaminación **(Tirado Amador LR y cols., 2015; Srinivasan M y cols., 2015)**.

### 1.3.3. BIOMARCADORES EN SALIVA.

La saliva contiene biomarcadores derivados del suero, fluido crevicular gingival y trasudado de la mucosa, que pueden ser útiles para el diagnóstico de enfermedades sistémicas y orales (**Miller CS y cols., 2010; Tirado Amador LR y cols., 2015**). La saliva ha sido empleada como matriz biológica a partir de la cual buscar marcadores para el diagnóstico de patologías tales como caries, enfermedad periodontal, cáncer oral, síndrome de Sjögren, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular, infecciones víricas, cáncer de mama, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, úlcera gástrica, gastritis crónica, hepatopatías, enfermedad renal crónica, dermatitis atópica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Wilson y alteraciones psicológicas (**Zhang CZ y cols., 2016**).

La saliva constituye una alternativa no invasiva a la sangre para el diagnóstico de multitud de patologías (**Desai GS y cols., 2014; Tirado Amador LR y cols., 2015; Srinivasan M y cols., 2015; Zhang CZ y cols., 2016**). Además permite realizar estudios poblacionales de forma sencilla y coste-efectiva (**Calatrava Oramas LA., 2014; Srinivasan M y cols., 2015**). En general este fluido biológico es empleado en la clínica para la determinación de elementos de naturaleza muy variable, tales como alteraciones hormonales, detección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), análisis de ADN, detección anticuerpos y detección de drogas (**Desai GS y cols., 2014; Tirado Amador LR y cols., 2015**). Así mismo, en la saliva también se pueden determinar trazas de metales pesados. Algunos de los metales que han sido aislados en saliva son: cadmio, plomo, zinc, mercurio, manganeso, cobre, titanio, cromo, hierro y cobalto; sin embargo, es necesario tener presente que en la saliva las concentraciones de estos compuestos metálicos son bajas (**Tirado Amador LR y cols., 2015**). Pese a las bajas concentraciones de estos metales en saliva, su empleo como matriz biológica ha permitido el desarrollo de la investigación en múltiples patologías. Un ejemplo de este avance lo constituye la medición de cobre en saliva, que ha permitido encontrar trazas de este elemento asociadas con la caries dental (**Tirado Amador y cols., 2015**).

Este avance en el uso de saliva como medio para realizar grandes estudios poblacionales no solo ha servido para el estudio de diversas patologías, sino que ha servido también para determinar la exposición a diferentes metales en profesiones sensibles tales como soldadores. A este respecto se han realizado determinaciones de manganeso (Mn), cobre (Cu), zinc (Zn), cadmio (Cd) y plomo (Pb) (**Wang D y cols., 2008**).

Sin embargo, entre algunas de las limitaciones del empleo de la saliva como medio para la determinación de metales encontramos el hecho de que pudiera no existir una correcta correlación con otros estándares de medición. Este hecho queda plasmado en algunos estudios donde no parece existir una correlación entre los niveles de zinc en saliva y los niveles de zinc en plasma o cabello (**Greger JL y cols., 1979; Bales CW y cols., 1990**). Una excepción parece existir en cuanto a los niveles de cobre en saliva, donde sí parece encontrarse una correlación con el cobre plasmático, aunque esto no ocurre en cuanto a la correlación con el cobre en cabello (**Bales CW y cols., 1990**).

Por otra parte, existe un interés creciente en el potencial de la saliva en la evaluación diagnóstica de la obesidad, inflamación, estrés oxidativo, riesgo cardiovascular e insulinoresistencia. A propósito de la evaluación del estrés oxidativo en saliva, concretamente en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, un estudio realizado por **Rajeshwari SG y cols.**, en **2014**, buscó la asociación entre el perfil lipídico plasmático de pacientes diabéticos tipo 2 con especies reactivas de oxígeno en saliva, como el malondialdehído (MDA). Se encontró una correlación positiva y significativa entre los niveles de colesterol LDL y las concentraciones de MDA. Así mismo, las concentraciones de MDA en saliva en pacientes con niveles elevados de colesterol HDL fueron significativamente negativas (**Rajeshwari SG y cols., 2014**). El empleo de análisis de saliva para encontrar marcadores de peroxidación lipídica, de oxidación proteica, de daño de ADN, de inflamación, de destrucción del tejido conectivo, de remodelado óseo, de adhesión celular o de necrosis, permite ayudar en el diagnósticos de patologías concretas como la periodontitis o cardiometabólicas como el infarto agudo de miocardio (**Miller CS y cols., 2010; Tóthová L y cols., 2015**).

En el plano de la implicación de la saliva en las enfermedades cardiovasculares, relacionadas con el sistema circulatorio, tales como la arterioesclerosis, el infarto de miocardio y la enfermedad cerebrovascular. Se han encontrado, tanto en enfermedades arterioscleróticas como periodontales, niveles significativamente elevados de citocinas inflamatorias que incluyen IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  y prostaglandina E2. Estas citocinas podrían ser un buen marcador para estas enfermedades. Además, se ha identificado a la proteína C reactiva salivar como uno de los mejores marcadores en el infarto agudo de miocardio (**Zhang CZ y cols., 2016**). En relación a la obesidad, en la literatura se han encontrado niveles elevados de

biomarcadores de inflamación como la proteína C reactiva, factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , interleucina-6 e interferón- $\gamma$  en la saliva de individuos adultos y niños con obesidad o sobrepeso. Todo ello nos lleva a tener en cuenta a la saliva como un buen método de screening en aquellas patologías con implicaciones inflamatorias, metabólicas y cardiovasculares. Sin embargo uno de los problemas se encuentra en la dificultad para estandarizar los niveles de normalidad de todas las mediciones, validación de técnicas analíticas para la detección de biomarcadores, establecer procedimientos para rangos de referencia para la clínica habitual **(Desai GS y cols., 2014)**. Otro problemas a destacar lo constituyen la composición salivar, influenciada por la situación oral del individuo **(Tóthová L y cols., 2015)**.

Por último, señalar la gran importancia de la saliva en la bioquímica de las patologías orales: periodontitis, caries y lesiones precancerosas. Todas estas lesiones parecen estar asociadas con el estrés oxidativo. Aunque existen dudas si este estrés oxidativo está originado por una sobreproducción de radicales libres de oxígeno debido a la inflamación o por una falta de antioxidantes. En esta misma línea, se han llevado a cabo estudios tanto en animales como en humanos indican que un tratamiento antioxidante podría retrasar el avance de la periodontitis **(Tóthová L y cols., 2015)**. En esta línea, niveles elevados de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 1 y la interleucina 6 se encuentran en niveles elevados en los casos de periodontitis crónica en pacientes con y sin diabetes **(Srinivasan M y cols., 2015; Podzimek S y cols., 2016)**.

Por otro lado, la proteína C reactiva también parece un buen marcador en la periodontitis. Existe una correlación entre la proteína C reactiva en plasma y en saliva. Se ha observado niveles elevados de la proteína C reactiva salivar en pacientes con periodontitis. Por el contrario, una vez realizado un adecuado tratamiento periodontal, se objetivan niveles más bajos de la proteína C reactiva, reflejo del éxito del tratamiento antiinflamatorio **(Podzimek S y cols., 2016)**.

Se han encontrado 475 metabolitos específicos en saliva de pacientes con periodontitis y/o diabetes. Entre ellos, marcadores del estrés oxidativo, elementos de la degradación de las purinas, del metabolismo del glutatión, aminoácidos, ácidos grasos  $\omega$ -3 (docosahexaenoico) y  $\omega$ -6 (linoleico y araquidónico) , cuyos niveles fueron significativamente más altos en pacientes que habían padecido gingivitis y periodontitis, pero no diabetes **(Zhang CZ y cols., 2016)**.

#### 1.3.4. SALIVA Y DIABETES.

En lo referente a la composición salivar de los individuos con diabetes mellitus frente a individuos sanos, parecen existir ciertas diferencias que pueden relacionarse con una mayor susceptibilidad a infecciones y complicaciones orales en los pacientes diabéticos **(Carda C y cols., 2006; Panchbhai AS y cols., 2010)**.

Se han descrito alteraciones estructurales de la glándula parótida (sialosis) que podría relacionarse con las modificaciones de la composición de la saliva en pacientes con diabetes mellitus **(Carda C y cols., 2006)**. La saliva de los pacientes diabéticos muestra cambios significativos en la composición de lípidos, hidratos de carbono y elementos del estrés oxidativo **(Panchbhai AS y cols., 2010; Lasisi TJ y cols., 2012; Mascarenhas P y cols., 2014; Mussavira S y cols., 2015; Zhang CZ y cols., 2016)**.

Entre las distintas alteraciones de la composición de la saliva, cabe destacar que existe una mayor concentración de glucosa en la saliva de la población diabética frente a la población sana **(Panchbhai AS y cols., 2010; Lasisi TJ y cols., 2012; Mascarenhas P y cols., 2014; Mussavira S y cols., 2015; Zhang CZ y cols., 2016)**. No obstante en otros estudios el incremento de la concentración de glucosa en saliva estaba en relación al mal control metabólico de la enfermedad **(Carda C y cols., 2006)**.

Las alteraciones cualitativas también se objetivan en relación a la amilasa salivar, donde la población con diabetes presenta niveles significativamente menores en relación con individuos sin diabetes **(Panchbhai AS y cols., 2010)**. Esta circunstancia no se objetiva en otros estudios, aunque sí se observa un incremento de la urea y de las proteínas totales en la saliva de los pacientes diabéticos **(Carda C y cols., 2006)**. Este último aspecto no concuerda con lo encontrado en otro estudio comparativo entre la saliva de personas con diabetes mellitus tipo 2 y controles sanos, donde no hubo diferencias significativas en cuanto a los niveles de proteínas totales **(Lasisi TJ y cols., 2012)**.

En lo referente a las proteínas, cabe destacar que más del 60% de las proteínas séricas asociadas a diabetes mellitus tipo 2 han sido medidas en saliva. Cerca de la mitad, un 48% de estas proteínas, se han encontrado en la saliva de los pacientes diabéticos, mientras que un 52% fueron medidas en pacientes no diabéticos **(Srinivasan M y cols., 2015)**.

Se ha encontrado una correlación entre la diabetes mellitus tipo 2 y los niveles en saliva de  $\alpha$ -2-macroglobulina. Los niveles de  $\alpha$ -2-macroglobulina salivar se correlacionan con las cifras de HbA1c, por lo que podría emplearse como reflejo del control glucémico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (**Aitken JP y cols., 2015; Zhang CZ y cols., 2016; Chung TJ y cols., 2016**).

**Podzimek P y cols.**, en el año **2016**, refiere encontrar correlaciones entre los niveles de sorbitol y fructosamina en saliva con los niveles de glucosa capilar en pacientes con diabetes. Así mismo, también se describe una relación entre el incremento de las cifras de hemoglobina glicosilada y niveles elevados del factor de crecimiento epidérmico y óxido nítrico en saliva de pacientes diabéticos.

Por otro lado, **Zhang CZ y cols.**, en el **2016**, ha observado una correlación entre melatonina en saliva y diabetes mellitus tipo 2. Los niveles de melatonina salivar estarían disminuidos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y periodontitis. Esto puede indicar que la melatonina jugaría un papel en la patogénesis de la diabetes y las enfermedades periodontales. También se ha encontrado que los niveles del ácido  $\alpha$ -hidroxibutirato son significativamente más altos en la saliva de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus.

Respecto a la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus, las investigaciones han encontrado marcadores salivales asociados, que pueden jugar un papel importante en el diagnóstico, seguimiento y tratamiento. A este respecto, se han estudiado la correlación entre marcadores salivales de estrés oxidativo con los niveles séricos en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e insulinoresistencia (**Desai GS y cols., 2014; Srinivasan M y cols., 2015**). Se han establecido relaciones entre los niveles de cortisol, insulina y adiponectina (**Desai GS y cols., 2014**).

Estudios como los llevados a cabo por **Srinivasan M y cols.**, en **2015**, han relacionado positivamente las cifras de HbA1c, como marcador del control glucémico, con los niveles de IL-6 o de 1,5 anhidroglicitol. Además, sus resultados concluyen que la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) ha sido correlacionada negativamente con el índice HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment–Insulin Resistance) de insulinoresistencia en mujeres no diabéticas, obesas y postmenopáusicas.

En cuanto a la composición inorgánica de la saliva en los pacientes con diabetes mellitus, ha existido desde hace años un interés creciente por determinar las posibles diferencias con individuos sanos en relación con los distintos iones y elementos traza del organismo. Se ha considerado el posible papel que pudieran jugar de los elementos traza en saliva como biomarcadores diagnósticos, pronósticos e, incluso, terapéuticos en la diabetes mellitus.

Uno de los primeros estudios realizados en este campo comparó un grupo de 30 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus frente a 15 controles sanos, de los que se obtuvo una muestra de saliva. Estas muestras fueron analizadas mediante espectrometría de absorción atómica para obtener los niveles de zinc y cobre en saliva. En referencia a los resultados de los niveles de zinc entre ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas. Mientras que los resultados de los niveles de cobre en saliva no fueron concluyentes **(Shiraishi y cols., 1988)**.

Posteriormente se han realizado más estudios en esta línea de investigación, encontrándose que los niveles de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) en la saliva de los diabéticos parece ser más elevada en comparación con la población sana. Por el contrario, los niveles de magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) y potasio ( $\text{K}^+$ ) en la saliva de los pacientes con diabetes se encuentran disminuidos en relación con individuos sin diabetes **(Mata AD y cols., 2004)**.

Otro estudio realizado sobre un grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente a otro grupo control sin diabetes, mostraba una disminución significativa de potasio salival en la población diabética con respecto a la población no diabética. Sin embargo, no encontró diferencias en cuanto a los niveles en saliva de sodio, calcio, cloro y bicarbonato entre ambos grupos **(Lasisi TJ y cols., 2012)**.

También se han realizado estudios comparando la saliva y plasma sanguíneo a la hora de estudiar diversas determinaciones, encontrándose una correlación significativa positiva entre los niveles de glucosa, amilasa, proteínas totales, albúmina y globulina en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 **(Mascarenhas P y cols., 2014; Ladgotra A y cols., 2016; Dana M y cols., 2016; Zhang CZ y cols., 2016)**. Otros autores como **Puttaswamy KA y cols., en 2017**, también consideran que existe una buena correlación entre los niveles de glucosa en saliva y plasma. Por otro lado, **Ladgotra A y col., en 2016**, observa una correlación significativa positiva entre los niveles de glucosa, amilasa, calcio y fosfato entre individuos con y sin diabetes.

Las mediciones en saliva de lípidos y marcadores de estrés oxidativo que puedan correlacionarse con los niveles en plasma podrían constituir un fiable marcador en la evaluación del riesgo de diabetes mellitus tipo 2. De hecho, un alto porcentaje de proteínas séricas, más de un 60%, presentes en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 pueden ser medidas en saliva, lo que ofrece una atractiva y económica estrategia de cribado para la detección de la diabetes mellitus tipo 2 **(Srinivasan y cols., 2015)**.

Cuantitativamente también parecen existir diferencias entre el flujo salival de las personas diagnosticadas de diabetes mellitus en comparación con individuos sanos, existiendo una disfunción en la capacidad secretora glandular. Se observa por tanto una mayor prevalencia de xerostomía e hiposalivación en la población diabética **(Mata AD y cols., 2004; Carda C y cols., 2006; Borges BC y cols., 2010; Lasisi TJ y cols., 2012; Aitken-Saavedra J y cols., 2015; López-Pintor RM y cols., 2016; Puttaswamy KA y cols., 2017)**.

De acuerdo con un estudio, la prevalencia de hiposalivación en los pacientes con diabetes, considerando hiposalivación como flujo salivar menor de 0.1 ml/min en saliva no estimulada y menor de 0.7 ml/min en saliva estimulada, se sitúa en torno al 45%. En contraposición, la prevalencia de hiposalivación en el grupo sin diabetes se encuentra alrededor del 2.5%. Por otra parte, la prevalencia de xerostomía en pacientes diabéticos en relación con personas sin diabetes, de acuerdo con una revisión de estudios, se halla en torno al 12-5%-53.5% en diabéticos en comparación con un 0-30% en la población no diabética. Las razones de estos problemas de salivación podrían deberse a un daño en el parénquima glandular, alteraciones en la microcirculación de las glándulas salivales, deshidratación y el mal control metabólico **(López-Pintor RM y cols., 2016)**.

En lo que respecta a la relación entre el control metabólico de la diabetes mellitus y la saliva, existen estudios que no evidencian una asociación entre la diabetes sin tratamiento insulínico con mal control metabólico y una menor producción de saliva **(Dodds MW y cols., 1997)**. Tampoco otros estudios como los llevados a cabo por **Aitken-Saavedra J y cols.**, en **2015**, muestran una correlación significativa entre el flujo salival y el control metabólico, medido a través de las cifras de HbA1c, de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Por el contrario, en otro artículo publicado por **Díaz Guzmán LM y cols.**, en el año **2013** sí se relaciona el buen control glucémico en la diabetes con una buena producción de saliva.

En relación al pH salival, se ha observado un pH más bajo en los pacientes con diabetes mellitus en relación a los sujetos no diabéticos. Los valores de pH se tornan más ácidos con las descompensaciones diabéticas. Estos cambios en el pH se han atribuido al descenso de bicarbonato en los pacientes diabéticos. Sin embargo, no existe suficiente evidencia para correlacionar los niveles de pH con los valores de hemoglobina glicosilada (**Aitken-Saavedra J y cols., 2015**).

## **2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y** **OBJETIVOS**



## 2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

### 2.1. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.

La relación entre elementos traza y diabetes mellitus resulta aún controvertida, aunque se ha sugerido una relación entre el déficit y el exceso de algunos elementos traza presentes en pacientes con diabetes mellitus con el riesgo cardiovascular, el estrés oxidativo, el metabolismo de los hidratos de carbono, la funcionalidad de la célula beta pancreática, así como la deficiencia en la síntesis de insulina e insulinoresistencia.

El empleo de la saliva como matriz biológica destinada al estudio de diversas enfermedades es un hecho creciente. Más aún en el campo de la diabetología, donde la saliva se ha empleado para la medición de factores proinflamatorios, inmunoglobulinas, marcadores de daño cardiovascular o elementos del estrés oxidativo, entre otros.

También los elementos traza han sido medidos tanto en saliva como en plasma sanguíneo con el objeto de establecer una correlación entre ambos fluidos y su relación con la fisiopatología de la diabetes mellitus.

A este respecto, se conoce que algunas alteraciones en la secreción y en la acción de la insulina se pueden relacionar con la disminución en las concentraciones del cromo o zinc. Se sabe que el zinc y el cromo actúan como cofactores de la insulina, aunque su mecanismo en relación al metabolismo de los hidratos de carbono no está del todo claro (**Kimura K, 1996; Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009**).

Recientemente, algunos autores como **Badran M y cols., en 2016** presentaron un estudio, donde se determinó los niveles de 24 elementos traza en el plasma de 40 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y 36 individuos sanos. Los resultados mostraron cambios significativos en los niveles de glucosa basal y ocho elementos traza (zinc, cobre, selenio, hierro, manganeso, cromo, magnesio, arsénico) al comparar el plasma de los individuos diabéticos frente a los sanos. De todos ellos, el magnesio, hierro, cobre y zinc fueron los elementos más cruciales en su relación con la diabetes mellitus tipo 2.

Por otro lado se han realizado también estudios determinando estos elementos traza en saliva de pacientes diabéticos, como los llevados a cabo por autores como **Mata AD y cols.**, en **2004**, encontrándose que los niveles de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) en la saliva de los diabéticos parece ser más elevada en comparación con la población sana. Por el contrario, los niveles de magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) y potasio ( $\text{K}^+$ ) en la saliva de los pacientes con diabetes se encontrarían disminuidos en relación con individuos sin diabetes.

La profundización en el estudio de de los elementos traza en el paciente diabético podría tener implicaciones diagnósticas, de seguimiento e, incluso, terapéuticas.

## 2.2. OBJETIVOS.

Los objetivos del presente trabajo pueden ser descritos en dos niveles, un objetivo general que determina el planteamiento global de la investigación, y unos objetivos específicos que articulan y ordenan los diversos aspectos del objetivo general.

El **objetivo general** fue estudiar la relación entre diabetes mellitus tipo 2 y los distintos elementos traza, tanto en saliva como en plasma, con respecto al grupo control.

El objetivo general ha sido desglosado en una serie de objetivos específicos que nos permite sistematizar y responder a los distintos aspectos que plantea nuestro estudio.

Los **objetivos específicos** fueron los siguientes:

1. Determinar los niveles de elementos traza en saliva y plasma en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
2. Analizar el comportamiento del control metabólico de la diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los elementos traza, tanto en saliva como en plasma.
3. Relacionar los elementos traza en plasma y saliva con las complicaciones crónicas propias de la diabetes mellitus tipo 2 y con otros factores de riesgo cardiovascular asociados.

4. Determinar la salud oral de la población con diabetes mellitus tipo 2 y en el grupo control y su relación con los elementos traza.



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS.**

#### **3.1. MATERIAL.**

##### **3.1.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA CLÍNICA.**

La población analizada en nuestro estudio incluye pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2, procedentes del área II de salud de Cartagena (Murcia) y adscritos al servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena. Fueron estudiados de un modo transversal un total de 74 pacientes, de ambos sexos y de edades comprendidas entre los 25 y 75 años, en el periodo de tiempo que abarca desde Mayo de 2014 hasta Mayo de 2016.

El estudio fue llevado a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki (Anexo 1).

Todos los pacientes y controles incluidos en el estudio eran voluntarios no remunerados. Este estudio fue autorizado por el Comité de Bioética de la Universidad de Murcia (Anexo 2).

##### Criterios de inclusión:

Se incluyeron en nuestro estudio aquellos pacientes que presentaban los siguientes criterios:

- Paciente mayor de 18 años.
- Consentimiento informado escrito antes de participar en el estudio.
- Diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 de más de 3 meses de evolución.

##### Criterios de exclusión:

Se excluyeron de nuestro estudio aquellos pacientes que presentaban los siguientes criterios:

- Embarazo o lactancia.
- Pacientes que han recibido tratamiento con corticoides, ciclosporina u otros inmunosupresores en el último mes.
- No firmar el consentimiento informado.

Por otro lado, fueron incluidos en el estudio un grupo control formado por individuos sanos sin diagnóstico previo de diabetes mellitus, glucemia basal alterada o intolerancia a los hidratos de carbono. Los sujetos incluidos procedían del área II de salud de Cartagena (Murcia). Fueron estudiados de un modo transversal un total de 73 individuos, de ambos sexos y de edades comprendida entre los 25 y 75 años, en el periodo de tiempo que abarca desde Enero de 2016 hasta Mayo de 2016.

Criterios de inclusión:

Se incluyeron en nuestro estudio aquellos controles que presentaban los siguientes criterios:

- Mayor de 18 años.
- Consentimiento informado escrito antes de participar en el estudio.

Criterios de exclusión:

Se excluyeron de nuestro estudio aquellos individuos que presentaban los siguientes criterios:

- Embarazo o lactancia.
- Haber recibido tratamiento con corticoides, ciclosporina u otros inmunosupresores en el último mes.
- Patología neoplásica o infecciosa activa.
- Diagnóstico de diabetes mellitus, glucemia basal alterada en ayunas o intolerancia a los hidratos de carbono.
- No firmar el consentimiento informado.

### **3.1.2. VARIABLES DEL ESTUDIO.**

#### **3.1.2.1. Variables socio-demográficas.**

En el grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 se recogieron los datos de edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol, actividad física y presencia de hipertensión arterial.

En el grupo control se recogieron los datos de edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol y actividad física.

La edad fue clasificada en dos niveles: <65 años y ≥65 años.

El consumo de tabaco fue evaluado durante la entrevista, preguntando a los sujetos del estudio si eran fumadores (incluyendo nº de cigarrillos), no fumadores o ex fumadores.

El consumo de alcohol fue evaluado durante la entrevista, preguntando a los sujetos del estudio si consumían >11,5 g/día de alcohol (0 puntos), 1,5-11,5 g/día de alcohol (1 punto) o <1,5 g/día de alcohol (2 puntos).

La actividad física fue evaluada durante la entrevista, preguntando a los sujetos del estudio si realizaban actividad física de forma regular, eventual o nunca.

Se entrevistó al paciente preguntando por sus antecedentes de hipertensión arterial. Así mismo, se obtuvieron los datos de presión arterial, medida en milímetros de mercurio, empleando un esfigmomanómetro manual de brazo modelo Prestige Medical 80®. La toma de tensión arterial se realizó permaneciendo el paciente en reposo. Se consideró como criterio de hipertensión arterial a las cifras de presión arterial sistólica >140 mm Hg y a las cifras de presión arterial diastólica >90 mm Hg de acuerdo con las guías del *National Institute for Health and Care Excellence* de 2011.

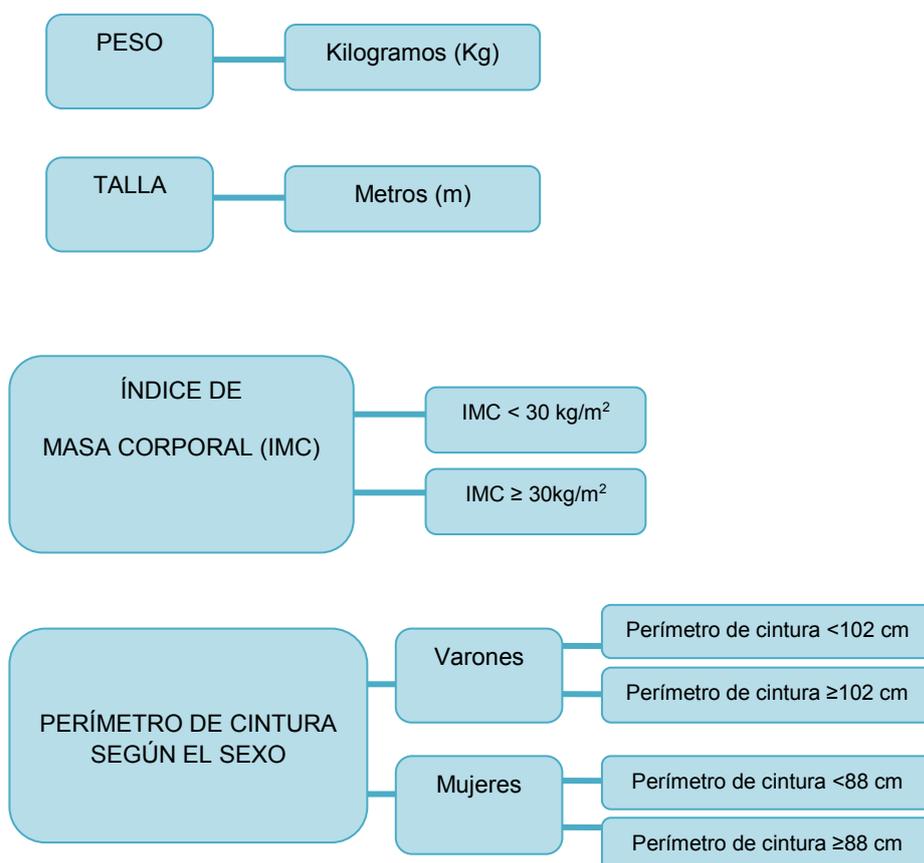
#### **3.1.2.2. Variables antropométricas.**

Se recogieron los siguientes datos antropométricos: peso (kg), talla (m), índice de masa corporal (kg/m<sup>2</sup>) y perímetro abdominal (cm) en todos los individuos participantes en el estudio.

El índice de masa corporal fue clasificado en  $<30 \text{ kg/m}^2$  y  $\geq 30 \text{ kg/m}^2$  de acuerdo con los criterios de obesidad de la *Organización Mundial de la Salud* (OMS) y la *Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad* (SEEDO), que consideran a un individuo como obeso con un  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$  y sin obesidad con un  $\text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$ .

El perímetro de cintura fue clasificado según el sexo y de acuerdo con los criterios de perímetro de cintura asociado a elevado riesgo cardiovascular del *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) del 2001, que considera un perímetro de cintura de riesgo cardiovascular en mujeres  $\geq 88 \text{ cm}$  y en varones  $\geq 102 \text{ cm}$ .

**Diagrama 3.1.:** Variables antropométricas.



### 3.1.2.3. Variables odontológicas.

Tanto en el grupo de pacientes como en el grupo control se obtuvieron datos referentes a la ausencia dental, clasificando dicha variable en dos niveles: <12 dientes perdidos; ≥12 dientes perdidos.

En la entrevista además se preguntó a todos los individuos incluidos en el estudio acerca de la presencia de lesiones orales, prótesis removibles metálicas o coronas y tratamientos dentales.

### 3.1.2.4. Variables diabetológicas y de perfil metabólico.

En el grupo de pacientes se recogieron datos acerca de los años de evolución de la diabetes, tratamiento antidiabético, cumplimiento o no de una dieta reglada de diabético, presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes, ingresos previos por descompensación diabética y cumplimiento o no de los criterios de síndrome metabólico.

En referencia al tipo de tratamiento antidiabético, se recogieron los datos de acuerdo con la siguiente agrupación de tratamientos: Antidiabéticos orales, antidiabéticos orales + insulina, insulina en monoterapia, agonistas del receptor de GLP1 (péptido análogo al glucagón de tipo 1) en monoterapia, agonistas del receptor de GLP1 + antidiabéticos orales, insulina + agonistas del receptor de GLP1 o insulina + antidiabéticos orales + agonistas del receptor de GLP1.

Los datos respecto a la presencia o no de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes se obtuvieron de la historia clínica. Aquellos pacientes que presentaban datos en su historia clínica de complicaciones crónicas, se clasificaron en: complicaciones microvasculares, complicaciones macrovasculares y complicaciones macro y microvasculares.

Por otra parte, a la hora de clasificar a los pacientes como síndrome metabólico se siguieron los criterios que definen el síndrome metabólico por el *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III) del año 2001.

### **3.1.2.5. Variables de laboratorio.**

Del grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se obtuvieron muestras de plasma sanguíneo y saliva no estimulada, mientras que en el grupo control sólo se obtuvieron muestras de saliva no estimulada.

El plasma sanguíneo fue analizado en las instalaciones del servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena para la determinación de parámetros bioquímicos, que aparecen reflejados en la Tabla 3.1., y del hemograma, cuyos parámetros aparecen reflejados en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.1.:** Determinaciones bioquímicas de la muestra de plasma sanguíneo.

DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS DE LA MUESTRA DE PLASMA SANGUÍNEO	
Glucosa (mg/dl) [ 74-106]	Alanina aminotransferasa (UI/l) [10-49]
Creatinina (mg/dl) [0.70-1.30]	Aspartato aminotransferasa(UI/l) [<34]
Filtrado glomerular* (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> ) [>60.0]	Gamma glutamil transpeptidasa (UI/l) [<73]
Urea (mg/dl) [15-46]	Fosfatasa alcalina (UI/l) [45-129]
Calcio (mg/dl) [8.6 - 10.4]	Lactatodeshidrogenasa (UI/l) [120-246]
Calcio corregido por Albúmina (mg/dl) [8.6-10.4]	Factor reumatoideo (UI/ml) [<14]
Calcio corregido por Proteínas (mg/dl) [8.6-10.4]	Colesterol total (mg/dl) [<200]
Fosfato (mg/dl) [2.4-5.1]	Colesterol HDL (mg/dl) [>40]
Proteínas totales (g/dl) [5.7-6.8]	Colesterol no HDL (mg/dl) [100-160]
Albúmina (g/dl) [3.2-4.8]	Triacilglicéridos (mg/dl) [<200]
Magnesio(mg/dl) [1.3-2.7]	Proteína C Reactiva (mg/dl) [<0.5]
Sodio (mmol/l) [132-146]	Hierro (µg/dl) [65-175]
Potasio (mmol/l) [3.5-5.5]	Ferritina (ng/ml) [22-322]
Cloruro (mmol/l) [99-109]	Transferrina (mg/dl) [215-365]
Hemoglobina glicosilada (%) [4.0-6.0]	Índice de saturación de transferrina (%) [25-50]

\*Estimado por el método MRDR- 4 IDMS.

Los resultados plasmáticos de hemoglobina glicosilada (HbA1c) sirvieron para clasificar al grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 en dos subgrupos: pacientes con buen control metabólico (cifras de HbA1c <7%) y pacientes con mal control metabólico (cifras de HbA1c  $\geq$ 7) de acuerdo con guías de consenso de la *American Association of Clinical Endocrinologists*, *American College of Endocrinology* y *American Diabetes Association 2015* respecto al objetivo terapéutico, que establece como control glucémico cifras de HbA1c <7%.

Por otro lado, los parámetros bioquímicos de albúmina, ferritina, proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular fueron agrupados como “reactantes de fase aguda”, pues así se conocen a las proteínas plasmáticas que sufren alteraciones durante la inflamación (**Iglesias-González IM y cols., 2014**). Posteriormente, cada uno de los reactantes de fase aguda, fueron clasificados en dos niveles según los valores estándar de normalidad del laboratorio del servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Santa Lucía (Cartagena), que quedan reflejados en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2.:** Codificación de los niveles de reactantes de fase aguda en plasma. Puntos de corte.

Reactantes de fase aguda en plasma	Niveles
Albúmina	<3,2 ; $\geq$ 3,2 (g/dl)
Ferritina	< 291 ; $\geq$ 291 (ng/ml)
Proteína C reactiva	< 0,5 ; $\geq$ 0,5 (mg/dl)
Velocidad de sedimentación globular	< 25 ; $\geq$ 25 (mm/h)

**Tabla 3.3.:** Determinaciones del hemograma de la muestra de plasma sanguíneo.

<b>DETERMINACIONES DEL HEMOGRAMA DE LA MUESTRA DE PLASMA SANGUÍNEO</b>	
Hematíes (x10e12/L) [4.5-5.9]	Neutrófilos-porcentaje (%) [40.0-70.0]
Hemoglobina (gr/dl) [13.5-17.5]	Linfocitos-porcentaje (%) [22.0-44.0]
Hematocrito (%) [41.0-53.0]	Monocitos-porcentaje (%) [4.0-11.0]
Volumen corpuscular medio (fL) [78.0-100.0]	Eosinófilos-porcentaje (%) [<8.0]
Hemoglobina corpuscular media (pgr/cél) [26.0-34.0]	Basófilos-porcentaje (%) [<3.0]
Plaquetas (x10e9/L) [150-450]	Neutrófilos (x10e9/L) [1.80-7.70]
Volumen plaquetar medio (fL) [6.4-12.5]	Linfocitos (x10e9/L) [1.00-4.00]
Velocidad de sedimentación globular (mm/h) [<17]	Monocitos (x10e9/L) [<1.00]
Ancho de distribución eritrocitaria (%) [11.5-15.0]	Eosinófilos(x10e9/L) [<0.50]
Leucocitos (x10e9/L) [4.5-11.0]	Basófilos(x10e9/L) [<1.00]

Por otra parte, además de las determinaciones bioquímicas y del hemograma, las muestras de plasma del grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 fueron destinadas a la determinación de elementos traza en plasma. Las muestras fueron analizadas en los laboratorios del servicio de ionómica del centro de investigación CEBAS-CSIC, situado en el campus universitario de Espinardo (Murcia) de la Universidad de Murcia. Las determinaciones realizadas a partir del plasma obtenido de los pacientes, incluyeron los siguientes parámetros (Tabla 3.4.):

**Tabla 3.4.:** Determinaciones de elementos traza en la muestra de plasma sanguíneo.

DETERMINACIONES DE ELEMENTOS TRAZA EN LA MUESTRA DE PLASMA SANGUÍNEO	
Aluminio ( $_{13}\text{Al}$ ) (mg/Kg)	Hierro ( $_{26}\text{Fe}$ )(mg/Kg)
Antimonio ( $_{51}\text{Sb}$ ) (mg/Kg)	Litio ( $_{3}\text{Li}$ ) (mg/Kg)
Arsénico ( $_{33}\text{As}$ ) (mg/Kg)	Magnesio ( $_{12}\text{Mg}$ ) (g/100g)
Azufre ( $_{16}\text{S}$ ) (g/100g)	Manganeso ( $_{25}\text{Mn}$ ) (mg/Kg)
Berilio ( $_{4}\text{Be}$ ) (mg/Kg)	Molibdeno ( $_{42}\text{Mo}$ ) (mg/Kg)
Bismuto ( $_{83}\text{Bi}$ ) (mg/Kg)	Níquel ( $_{28}\text{Ni}$ ) (mg/Kg)
Boro ( $_{5}\text{B}$ ) (mg/Kg)	Plomo ( $_{82}\text{Pb}$ ) (mg/Kg)
Cadmio ( $_{48}\text{Cd}$ ) (mg/Kg)	Rubidio ( $_{37}\text{Rb}$ ) (mg/Kg)
Calcio ( $_{20}\text{Ca}$ ) (g/100g)	Selenio ( $_{34}\text{Se}$ ) (mg/Kg)
Cobalto ( $_{27}\text{Co}$ ) (mg/Kg)	Talio ( $_{81}\text{Tl}$ ) (mg/Kg)
Cobre ( $_{29}\text{Cu}$ ) (mg/Kg)	Titanio ( $_{22}\text{Ti}$ ) (mg/Kg)
Cromo ( $_{24}\text{Cr}$ ) (mg/Kg)	Vanadio ( $_{23}\text{V}$ ) (mg/Kg)
Estroncio ( $_{38}\text{Sr}$ ) (mg/Kg)	Zinc ( $_{30}\text{Zn}$ ) (mg/Kg)
Fósforo ( $_{15}\text{P}$ ) (g/100g)	

Las muestras de saliva, tanto las obtenidas del grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 como las obtenidas del grupo control, fueron analizadas en los laboratorios del servicio de ionómica del centro de investigación CEBAS-CSIC, situado en el campus universitario de Espinardo (Murcia) de la Universidad de Murcia. En las muestras de saliva recogidas se midieron los niveles de distintos elementos traza, recogidos en la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5.:** Determinaciones de elementos traza en la muestra de saliva.

DETERMINACIONES DE ELEMENTOS TRAZA EN LA MUESTRA DE SALIVA	
Aluminio ( $_{13}\text{Al}$ ) (mg/Kg)	Hierro ( $_{26}\text{Fe}$ ) (mg/Kg)
Antimonio ( $_{51}\text{Sb}$ ) (mg/Kg)	Litio ( $_{3}\text{Li}$ ) (mg/Kg)
Arsénico ( $_{33}\text{As}$ ) (mg/Kg)	Magnesio ( $_{12}\text{Mg}$ ) (g/100g)
Azufre ( $_{16}\text{S}$ ) (g/100g)	Manganeso ( $_{25}\text{Mn}$ ) (mg/Kg)
Berilio ( $_{4}\text{Be}$ ) (mg/Kg)	Molibdeno ( $_{42}\text{Mo}$ ) (mg/Kg)
Bismuto ( $_{83}\text{Bi}$ ) (mg/Kg)	Níquel ( $_{28}\text{Ni}$ ) (mg/Kg)
Boro ( $_{5}\text{B}$ ) (mg/Kg)	Plomo ( $_{82}\text{Pb}$ ) (mg/Kg)
Cadmio ( $_{48}\text{Cd}$ ) (mg/Kg)	Rubidio ( $_{37}\text{Rb}$ ) (mg/Kg)
Calcio ( $_{20}\text{Ca}$ ) (g/100g)	Selenio ( $_{34}\text{Se}$ ) (mg/Kg)
Cobalto ( $_{27}\text{Co}$ ) (mg/Kg)	Talio ( $_{81}\text{Tl}$ ) (mg/Kg)
Cobre ( $_{29}\text{Cu}$ ) (mg/Kg)	Titanio ( $_{22}\text{Ti}$ ) (mg/Kg)
Cromo ( $_{24}\text{Cr}$ ) (mg/Kg)	Vanadio ( $_{23}\text{V}$ ) (mg/Kg)
Estroncio ( $_{38}\text{Sr}$ ) (mg/Kg)	Zinc ( $_{30}\text{Zn}$ ) (mg/Kg)
Fósforo ( $_{15}\text{P}$ ) (g/100g)	

### 3.1.2.6. Perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14).

Se evalúa mediante una encuesta validada en español, del Oral Health Impact Profile en su versión abreviada (OHIP-14). Es un test que permite conocer la calidad de vida de un paciente en relación con su salud oral. Fue desarrollado con el objetivo de proporcionar una medida integral de la disfunción funcional, el malestar y la discapacidad atribuida a condiciones orales en los últimos 12 meses (**Montero-Martín J y cols., 2009; Ugalde Meza E., 2014**). Consta de 14 preguntas divididas en 7 dominios diferentes.

Cada pregunta se contesta en función de una escala Likert de puntuación (de 0 a 4 puntos):

- 0 = nunca.
- 1 = rara vez.
- 2 = ocasionalmente.
- 3 = bastantes veces.
- 4 = muchas veces.

Para cada uno de los 7 dominios se establecen una serie de ítems con un rango de puntuación:

- Limitación funcional (2 ítems).
- Dolor físico (2 ítems).
- Malestar psicológico (2 ítems).
- Incapacidad física (2 ítems).
- Incapacidad psicológica (2 ítems).
- Incapacidad social (2 ítems).
- En desventaja (2 ítems).

En nuestro estudio se añadió un ítem extra que se englobaría dentro del dominio de "Limitación funcional". El ítem incluido citaba así "sensación de boca seca", que hace referencia al término "xerostomía". Para evaluar este ítem nos basamos en criterios puramente subjetivos de acuerdo con las respuestas de los participantes en el estudio según la escala Likert de puntuación empleada en el resto de ítems. Posteriormente, se agruparon las respuestas en tres niveles respecto a la "frecuencia de xerostomía" en baja, media y alta.

### 3.1.2.7. Cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire).

El cuestionario de calidad de vida en diabetes es una versión en español modificada del Diabetes Quality of Life Questionnaire (EsDQL), que evalúa distintos aspectos relacionados con la calidad de vida del paciente con diabetes mellitus (**Millán MM y cols., 2002**). Consta de 43 preguntas divididas en 4 dominios.

Cada pregunta se contesta en función de una escala Likert de puntuación (de 0 a 4 puntos):

- 0 = nada.
- 1 = poco.
- 2 = algo.
- 3 = bastante.
- 4 = mucho.

Para cada uno de los 7 dominios se establecen una serie de ítems con un rango de puntuación:

- Satisfacción (15 ítems).
- Impacto (17 ítems).
- Preocupación: social/vocacional (7 ítems).
- Preocupación: relacionada con la diabetes (4 ítems).

### 3.1.2.8. Índice de O'Leary.

El índice de O'Leary es utilizado para evaluar la higiene de las superficies lisas.

Para su estimación, es precisa la aplicación de un colorante sobre toda la superficie dentaria del paciente. Este método muestra el porcentaje de superficies lisas teñidas (en color rosa y azul) sobre el total de superficies dentarias presentes.

Para la interpretación, hay que tener en cuenta que la placa bacteriana madura tiñe en color azul oscuro, la cual es considerada cariogénica y periodontopática; y la placa de menos de 24 horas, considerada placa bacteriana del día, tiñe en color rosa.

Es importante revisar las cara mesial, vestibular, distal y lingual de cada diente para una adecuada interpretación.

Este índice se suele aplicar en el momento inicial y a lo largo del tratamiento para determinar la capacidad de controlar la placa con el cepillado dental diario, antes y después de la enseñanza de la higiene bucal.

El índice se obtiene al determinar el número total de caras con placa, dividiendo este número por la cantidad total de caras presentes en la boca y multiplicándolo por 100.

$$\text{Índice de O'Leary} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de caras con placa}}{\text{n}^\circ \text{ total de caras}} \times 100$$

### 3.1.3. MATERIALES PARA LA RECOGIDA DE LA MUESTRA.

Para la recogida de las muestras de saliva se emplearon los dispositivos Salivette®.

El dispositivo consta de varios componentes: un soporte de cilíndrico de plástico como depósito graduado hasta 1 ml, otro soporte más pequeño cilíndrico de plástico con perforaciones en su tercio distal, una torunda de algodón cilíndrica y un tapón de plástico.

Está compuesto por polipropileno (PP) y por polietileno de baja densidad (LD-PE), presentando un color opaco. Las medidas del dispositivo son las siguientes: diámetro de 16.8 mm, altura de 75 mm, longitud incluyendo tapón de 97 mm, longitud excluyendo tapón de 86 mm.



**Figura 3.1.:** Dispositivo Salivette®.



**Figura 3.2.:** Componentes del dispositivo Salivette®.

Para la recogida de la sangre, la muestra se repartió en cuatro tubos por cada paciente (Tabla 3.6.):

**Tabla 3.6.:** Distribución de tubos para la recogida de plasma sanguíneo.

Código de color	Nº de tubos	Examen realizado	Tipo de muestra
Lila	1	Hemograma	Sangre total
Verde	1	Bioquímica	Plasma
Rojo	2	Bioquímica y elementos traza	Suero

El tubo con tapón lila contiene anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). En mencionado tubo se recoge sangre total y es empleado para determinación del hemograma.

El tubo con tapón rojo no contiene aditivos, geles ni anticoagulantes. En dicho tubo se recoge suero o coágulos y es empleado para la determinación de la bioquímica y los elementos traza.

El tubo con tapón verde contiene como anticoagulante la heparina sódica. En este tubo se recoge el plasma sanguíneo, que es empleado para la determinación de la bioquímica.

## 3.2. MÉTODOS.

### 3.2.1. DESARROLLO DEL ESTUDIO.

#### 3.2.1.1. GRUPO DE CASOS.

El estudio fue llevado a cabo por una única persona, entrenada previamente para la realización de dicho trabajo.

Los sujetos del grupo compuesto por los pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 fueron evaluados en las consultas externas del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario de Santa Lucía de Cartagena (Murcia) a primera hora de la mañana, entre las 8:00 h y las 10:00 h.

Los pacientes acudieron en ayunas, de al menos ocho horas, antes de ser examinados en consultas, pudiendo haber ingerido únicamente agua.

En primer lugar se procedió a la explicación detallada del estudio en el que iban a participar de forma voluntaria, resolviendo todas las dudas surgidas sobre el mismo, y firmando del consentimiento informado posteriormente. Además, se recogieron todos los datos de filiación de los pacientes: edad, sexo, fecha de nacimiento y número de historia clínica.

Seguidamente, los pacientes fueron conducidos a la sala de “Pruebas funcionales” en el área de consultas externas de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena. Dicha sala cuenta con todos los medios y medidas de asepsia precisas para la extracción y manipulación de muestras biológicas.

La extracción de la muestras de sangre fue realizada por el personal cualificado de Enfermería perteneciente al servicio de Endocrinología y Nutrición, manteniendo las medidas de asepsia necesarias. Tras ello, las muestras fueron identificadas y codificadas de acuerdo con el número de historia del paciente y un código numérico recogido en el cuaderno de recogida de datos del paciente. Las muestras, recogidas en los distintos tubos, fueron transportadas en el interior de una nevera a una temperatura aproximada de  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, donde serían procesadas e incorporadas a la cadena de análisis de las secciones de bioquímica y hematología.

Una muestra de suero y plasma de cada paciente fue almacenada y congelada en los dispositivos cryo.s™ en una sección del ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™ a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Posteriormente, a todos los pacientes se les realizó una historia clínica completa que reflejara las patologías sistémicas u orales destacables y tratamientos crónicos. Así mismo, se recabaron datos de su historia diabetológica que incluyeron: hábitos tóxicos (tabaco y alcohol), hábitos de vida (dieta y ejercicio), tiempo de evolución de la diabetes, complicaciones crónicas o agudas, ingresos previos por descompensación diabética y tratamiento antidiabético actual.

Por otro lado, se interrogó a los pacientes acerca de la presencia de lesiones orales, prótesis removibles metálicas o coronas, tratamientos dentales y pérdida de dientes.

Se tomaron datos antropométricos, tales como peso (kg), talla (m), índice de masa corporal ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) y perímetro abdominal (cm).

Además, se realizaron tomas de tensión arterial en reposo, medida en milímetros de mercurio (mmHg), en todos los pacientes empleando un esfigmomanómetro manual de brazo modelo Prestige Medical 80®.

De acuerdo con las guías del *National Institute for Health and Care Excellence* de 2011, se consideró como criterio de hipertensión arterial a las cifras de presión arterial sistólica  $>140$  mm Hg y a las cifras de presión arterial diastólica  $>90$  mm Hg.

**Tabla 3.7.:** Historia clínica.

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Datos de filiación.</li> <li>• Anamnesis dirigida/no dirigida.</li> <li>• Antecedentes personales y familiares</li> <li>• Tratamientos farmacológicos.</li> <li>• Hábitos tóxicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estilo de vida</li> <li>• Historia diabetológica.</li> <li>• Historia odontológica.</li> <li>• Medidas antropométricas.</li> </ul>
--	---

A todos los pacientes se les realizó una exploración oral visual completa, empleando luz artificial. Para dicho examen intraoral se emplearon espéculo bucal, depresor lingual, torundas de algodón y gasas.

Se valoró la presencia de lesiones mucosas orales, ausencia dental en arcada superior e inferior, así como la presencia de placa dentobacteriana.



**Figura 3.3.:** Exploración oral.

Una vez finalizada la exploración oral, se procedía a la recogida de la muestra de saliva. Previamente a la recogida de la muestra de saliva, los pacientes debían cepillarse la lengua y los dientes.

La muestra fue recogida a través del dispositivo Salivette®. Se les invitó a los pacientes a introducirse la torunda de algodón en la cavidad oral, bajo la lengua, durante 5 minutos. Tras esto, la torunda de algodón, empapada de la muestra de saliva, fue introducida en el soporte de plástico cilíndrico perforado del dispositivo Salivette®. Todo el procedimiento fue realizado cumpliendo con las medidas de asepsia pertinentes.



**Figura 3.4.:** Salivette® en su posición intraoral.

La muestra recogida fue transportada hasta el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena, en el interior de una nevera a una temperatura aproximada de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Una vez en el Laboratorio de Análisis Clínicos, se procedió a la centrifugación de la muestras a 3500 revoluciones por minuto durante 10 minutos.

La centrifugadora empleada fue el modelo Thermo Scientific™ Sorvall™ ST 16 con unas dimensiones de 60,5 x 44 x 36 cm (L x An x Al) [87 cm de altura con tapa abierta] y un peso neto de 57,5 kg.



**Figura 3.5.:** Centrífuga modelo Thermo Scientific™ Sorvall™ ST 16.



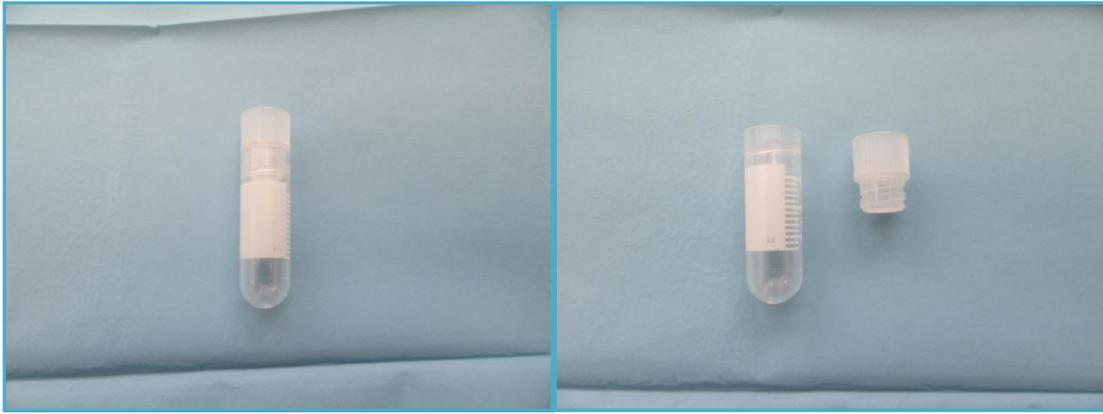
**Figura 3.6.:** Centrífuga modelo Thermo Scientific™ Sorvall™ ST 16.

Una vez centrifugados los dispositivos Salivette®, se obtuvo un sobrenadante de saliva, que fue pipeteado empleando una pipeta de Pasteur de polietileno graduada con una capacidad de 3.0 ml.

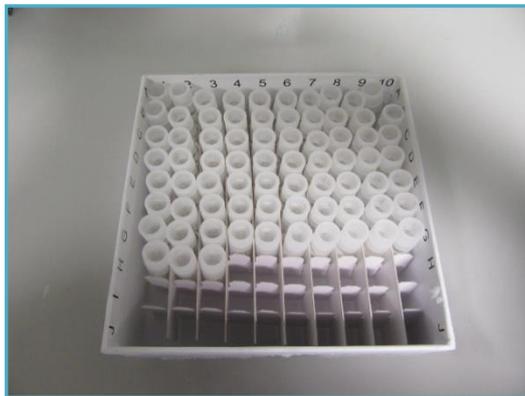
La muestra se distribuyó a partes iguales en dos cubículos cilíndricos específicos para la conservación de muestras a bajas temperaturas. Para la conservación de estas muestras se emplearon los dispositivos Cryo.s™ de greiner bio-one™. El dispositivo consta de dos piezas, un receptáculo cilíndrico de propileno (PP) graduado hasta 2.0 ml y de un tapón estéril enroscable del mismo material.



**Figura 3.7.:** Pipeta de Pasteur.



**Figura 3.8.:** Dispositivo Cryos.s™



**Figura 3.9.:** Dispositivos Cryos.s™ con las muestras almacenadas.

Las muestras de saliva fueron conservadas a una temperatura constante de  $-80^{\circ}\text{C}$  en un ultracongelador situado en el Servicio de Laboratorio del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena. El ultracongelador vertical empleado fue el modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™, capacitado para alcanzar temperaturas de  $-50$  a  $-86^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3.10.:** ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™.



**Figura 3.11.:** ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™.

Finalizada la recogida de muestras de saliva y sangre, se procedió a la realización del índice de O'Leary. Para ello, se le aplicó a cada paciente un colorante, solicitándose posteriormente que se enjuagara la boca con agua para eliminar el exceso de colorante.

Se revisaron las caras mesial, vestibular, distal y lingual de cada diente. Las caras mesial y distal se revisaron dos veces: una durante la evaluación de las caras vestibulares y una segunda vez cuando se evaluó la cara lingual.

Una vez obtenidos los datos, se calculó el índice de O'Leary de cada paciente, anotándolo en el cuaderno de recogida de datos (CRD).

Tras esto, los pacientes respondieron a las cuestiones planteadas en el cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español modificada del Diabetes Quality of Life Questionnaire) y del perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14). Todos los resultados se anotaron debidamente en el cuaderno de recogida de datos.

Las muestras de plasma y saliva almacenadas en los dispositivos Cryos.s™ conservadas a -80°C en el ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™ fueron transportadas al mes de su almacenaje, en una nevera a -20°C, hasta el servicio de ionómica del centro de investigación CEBAS-CSIC en el campus universitario de Espinardo (Murcia) de la Universidad de Murcia para el análisis de los niveles de los elementos traza.

### **3.2.1.2. GRUPO CONTROL.**

Los sujetos del grupo control compuesto por individuos sanos sin diagnóstico previo de diabetes mellitus, glucemia basal alterada o intolerancia a los hidratos de carbono fueron evaluados en las consultas externas del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital General Universitario de Santa Lucía de Cartagena (Murcia) a primera hora de la mañana, entre las 8:00 h y las 10:00 h. Todos acudieron en ayunas de al menos ocho horas, antes de ser examinados en consultas, pudiendo haber ingerido únicamente agua.

Primeramente se procedió la explicación detallada del estudio en el que iban a participar de forma voluntaria, resolviendo todas las dudas surgidas sobre el mismo, y firmando del consentimiento informado posteriormente. Una vez finalizado, se recogieron todos los datos de filiación: edad, sexo, fecha de nacimiento y número de historia clínica.

A todos los pacientes se les realizó una historia clínica completa, que reflejara las patologías sistémicas u orales destacables, hábitos tóxicos, hábitos de vida y tratamientos crónicos.

Por otro lado, se interrogó a los pacientes acerca de la presencia de lesiones orales, prótesis removibles metálicas o coronas, tratamientos dentales y pérdida de piezas dentarias.

Se tomaron datos antropométricos, tales como peso, talla, índice de masa corporal y perímetro abdominal.

Posteriormente, se les realizó una exploración oral visual completa, empleando luz artificial. Para dicho examen intraoral se emplearon espejo bucal, depresor lingual, torundas de algodón y gasas.

Se valoró la presencia de lesiones mucosas orales, ausencia de piezas dentarias en arcada superior e inferior, así como la presencia de placa dentobacteriana.

Una vez finalizada la exploración oral, se procedió a la recogida de la muestra de saliva. Previamente a la recogida de la muestra de saliva, debían cepillarse la lengua y los dientes.

La muestra fue recogida a través del dispositivo Salivette®. Se les invitó a los sujetos a introducirse la torunda de algodón en la cavidad oral, bajo la lengua, durante 5 minutos. Tras esto, la torunda de algodón, empapada de la muestra de saliva, fue introducida en el soporte de plástico cilíndrico perforado del dispositivo Salivette®.

Las muestras de saliva fueron transportadas en el interior de una nevera a una temperatura aproximada de -20°C hasta el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena para su procesamiento.

La muestra de saliva fue procesada del mismo modo que las muestras de saliva de los pacientes. Fueron centrifugadas durante 10 minutos a 3500 rpm en la centrifugadora modelo Thermo Scientific™ Sorvall™ ST 16, almacenadas en dos soportes cryos.s™ por cada muestra y congeladas a -80°C en el ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™.

Finalizada la recogida de muestras de saliva, se procedió a la realización del índice de O'Leary, así como responder a las preguntas planteadas en el perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14). Todos los resultados se anotaron debidamente en el cuaderno de recogida de datos.

Las muestras de saliva almacenadas en los dispositivos Cryos.s™ conservadas a -80°C en el ultracongelador vertical modelo Forma™ serie 900 de Thermo Scientific™ fueron transportadas al mes de su almacenaje, en una nevera a -20°C, hasta el servicio de ionómica del centro de investigación CEBAS-CSIC en el campus universitario de Espinardo (Murcia) de la Universidad de Murcia para el análisis de los niveles de los elementos traza.

### **3.2.1.3. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS DE PACIENTES (Anexo 3).**

Durante la visita de los pacientes, se realizó el siguiente procedimiento:

- Verificación de los criterios de inclusión.
- Confirmación del consentimiento informado.
- Cumplimentación del protocolo del estudio.
- Exploración de la cavidad oral (tejidos blandos y duros).
- Recogida de muestra de saliva y sangre.
- Índice de O'Leary.
- Cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español modificada del Diabetes Quality of Life Questionnaire).

- El test OHIP-14sp.

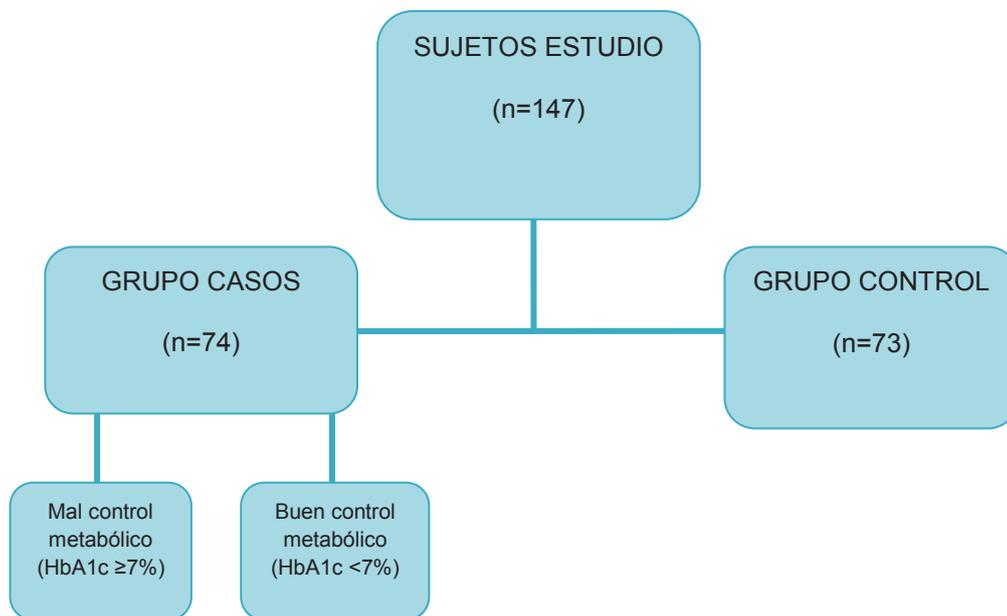
#### **3.2.1.4. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS DE CONTROLES (Anexo 4).**

Durante la visita de los pacientes, se realizó el siguiente procedimiento:

- Verificación de los criterios de inclusión.
- Confirmación del consentimiento informado.
- Cumplimentación del protocolo del estudio.
- Exploración de la cavidad oral (tejidos blandos y duros).
- Recogida de muestra de saliva.
- Índice de O'Leary.
- El test OHIP-14sp.

### 3.2.2. ESQUEMA DEL DISEÑO DEL ESTUDIO.

Diagrama 3.2.: Diseño del estudio.



#### VARIABLES POR GRUPOS

GRUPO CASOS	GRUPO CONTROL
<p><b>Variables socio-demográficas:</b> edad, sexo, consumo de tabaco, consumo del alcohol, actividad física y presencia de hipertensión arterial.</p> <p><b>Variables antropométricas:</b> peso, talla, índice de masa corporal y perímetro de cintura.</p> <p><b>Variables odontológicas:</b> ausencia dental, OHIP-14, frecuencia de xerostomía e índice de O'Leary,</p> <p><b>Variables diabetológicas y de perfil metabólico:</b> presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes, tratamiento antidiabético (dietético y farmacológico), cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire), años de evolución de la diabetes y presencia de síndrome metabólico.</p> <p><b>Variables de laboratorio:</b> determinaciones bioquímicas (incluye reactantes de fase aguda y HbA1c), hemograma, elementos traza en saliva, elementos traza en plasma.</p>	<p><b>Variables socio-demográficas:</b> edad, sexo, consumo de tabaco, consumo del alcohol y actividad física.</p> <p><b>Variables antropométricas:</b> peso, talla, índice de masa corporal y perímetro de cintura.</p> <p><b>Variables odontológicas:</b> ausencia dental, OHIP-14, frecuencia de xerostomía e índice de O'Leary.</p> <p><b>Variables de laboratorio:</b> elementos traza en saliva.</p>

### 3.2.3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO.

Analizamos los datos estadísticos con el paquete de software SPSS® versión 15.0 (SPSS® Inc, Chicago, USA) para Windows, en el cual hemos efectuado los siguientes procedimientos estadísticos:

#### Estadística descriptiva:

En primer lugar, para el análisis descriptivo de la distribución general de la muestra, así como para el análisis de cada una de las variables; se han hallado valores tales como: media, desviación típica, mediana, valores máximos y mínimos (rango) y amplitud intercuartil.

#### Estadística inferencial:

En segundo lugar, para el análisis comparativo de las variables se consideró significativo p valor menor 0,05.

#### Estudio de las asociaciones entre las variables cuantitativas continuas:

Se han analizado los datos de distribución de la muestra desde el punto de vista de la normalidad mediante es test de normalidad de Shapiro-Wilk.

Una vez realizado el estudio de la normalidad, las comparaciones de medias de las variables normales se realizaron por medio del test de la “t” de Student, el análisis de la varianza por medio de la “F” de Snedecor con sus contrastes correspondientes y el control del riesgo alfa propuesto por Bonferroni. Por otra parte, los estudios de correlación de las variables normales se realizaron por medio del coeficiente de correlación de Pearson.

Por otro lado, las variables que no mostraron una distribución normal fueron analizadas por medio de test no paramétricos. Las correlaciones de variables no normales se realizaron por medio del test U-de Mann-Whitney (para comparar dos muestras) y del test de Kruskal-Wallis (para más de dos muestras).

#### Estudios de regresión logística.

Se han buscado modelos explicativos de la realidad por medio de regresiones logísticas, para explicar distintas variables dicotómicas que actúan como dependientes en función de otras variables que actúan como independientes. En aquellos casos en que los estudios de logísticas han sido significativos, se han generado explicaciones

gráficas por medio de curvas ROC, hallándose la sensibilidad y especificidad de los modelos explicativos.

## **4. RESULTADOS**



## 4. RESULTADOS.

### 4.1. HOMOGENEIDAD DE LAS MUESTRAS.

Las características de igualdad y uniformidad de los dos grupos principales que componen la muestra total fueron aplicadas al estudio bajo criterios tanto estadísticos como metodológicos.

Uno de los aspectos más destacables en cuanto a la hora de la homogeneidad de la muestra viene determinado por el análisis estadístico de los niveles de elementos traza en saliva y en plasma.

Una vez medidos dichos niveles de elementos traza en saliva y en plasma, el análisis estadístico posterior mostró la presencia de valores alejados cercanos (“outside”) y lejanos (“far out”). Los valores alejados lejanos son aquellos que están a más de tres veces la distancia entre el  $Q_1$  (25%) y el  $Q_3$  (75%).

Estos valores alejados lejanos (“far out”) fueron eliminados de la muestra para evitar distorsiones y conseguir una muestra más acorde con la realidad.

### 4.2. ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO.

#### 4.2.1. VARIABLES SOCIO-DEMOGRÁFICAS.

La muestra total de participantes en el estudio estaba formada por 147 individuos, de los cuales 74 fueron incluidos en grupo de casos y 73 en grupo de controles.

##### 4.2.1.1. Edad.

La edad media de la muestra total ( $n=147$ ) fue de  $50,12 \pm 13,74$  años. Las edades medias del grupo de casos oscilaban entre  $59,00 \pm 9,07$  años, mientras que en el grupo control las edades se situaban entre  $41,12 \pm 11,68$  años.

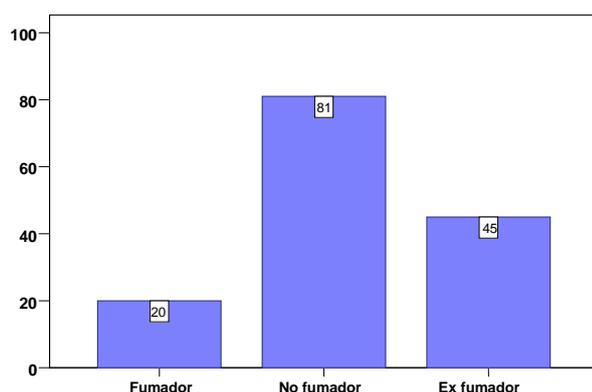
##### 4.2.1.2. Sexo.

La muestra final estaba compuesta por 57 hombres (38,8%) y 90 mujeres (61,2%). La distribución de sexos en el grupo de casos fue de 37 hombres (50%) y 37 mujeres (50%). En el caso del grupo control, los hombres fueron 20 (27,4%) y las mujeres 53 (72,6%).

#### 4.2.1.3. Consumo de tabaco.

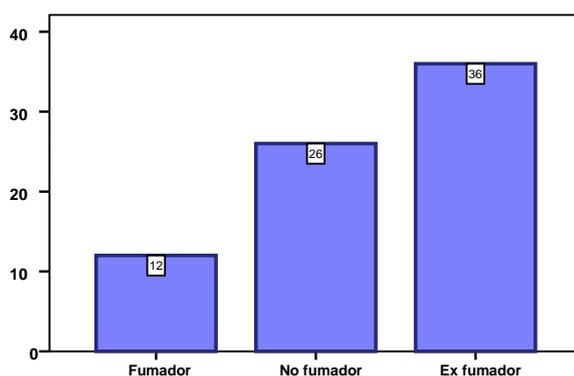
De la muestra total (n=147), 20 individuos eran fumadores (13,6%), mientras que 81 no eran fumadores (55,1%) y 45 eran ex fumadores (30,6%).

**Gráfico 4.1.:** Consumo de tabaco en el total de la muestra.



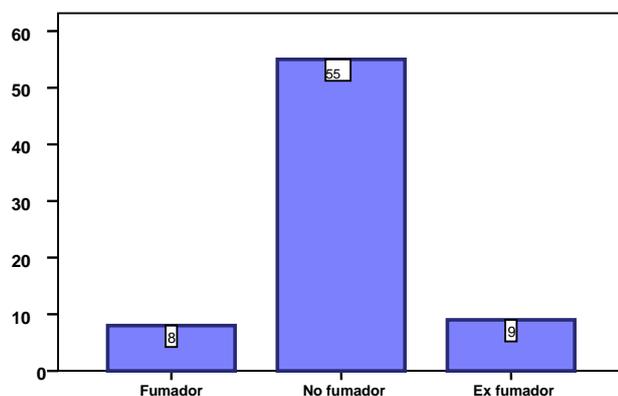
El consumo de tabaco en el grupo de casos (n=74) se distribuyó de la siguiente forma: 12 fumadores (16,2%), 26 no fumadores (35,1%) y 36 ex fumadores (48,6%).

**Gráfico 4.2.:** Consumo de tabaco en el grupo de casos.



En cuanto al grupo control (n=73), se encontraron 8 fumadores (11%), 55 no fumadores (75,3%) y 9 ex fumadores (12,3%).

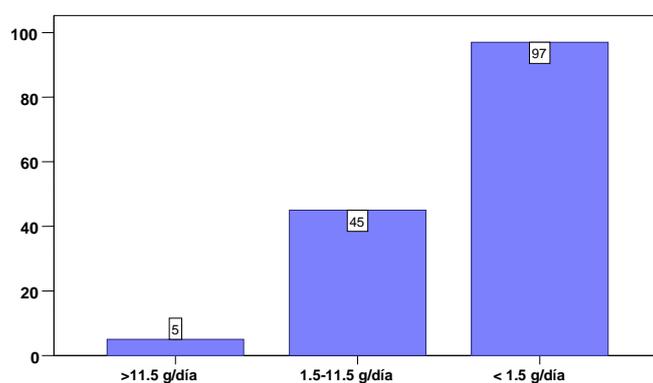
**Gráfico 4.3.:** Consumo de tabaco en el grupo control.



#### 4.2.1.4. Consumo de alcohol.

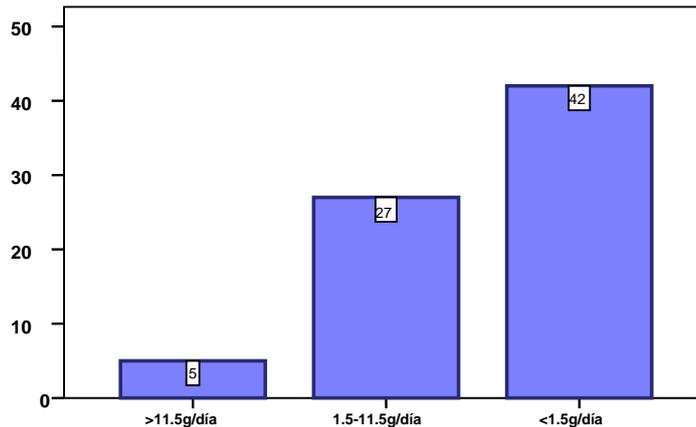
Respecto al consumo de alcohol, de todos los individuos que componen la muestra total, 97 individuos (66%) consumían <1,5 g/día de alcohol, 45 individuos (30,6%) presentaron un consumo medio de alcohol de 1,5-11,5 g/día, mientras que 5 individuos (3,4%) consumían habitualmente >11,5 g/día de alcohol.

**Gráfico 4.4.:** Consumo de alcohol en el total de la muestra.



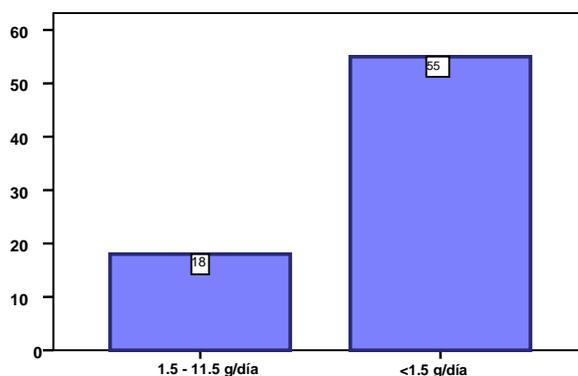
En el grupo de casos (n=74), el consumo de alcohol fue el siguiente: 42 (56,8%) consumieron <1,5 g/día de alcohol, 27 (36,5%) presentaron un consumo medio de alcohol de 1,5-11,5 g/día y 5 (6,8%) consumieron habitualmente >11,5 g/día de alcohol.

**Gráfico 4.5.:** Consumo de alcohol en el grupo de casos.



El consumo de alcohol en el grupo control (n=73) siguió la siguiente distribución: 55 (75,3%) consumieron <1,5 g/día, 18 (24,7%) consumieron de 1,5-11,5 g/día y ningún individuo del grupo consumía >11,5 g/día.

**Gráfico 4.6.:** Consumo de alcohol en el grupo control.



#### 4.2.1.5. Actividad física.

Del grupo de casos, 41 pacientes (55,4%) no realizaban actividad física, 18 pacientes (24,3%) realizaban actividad física ocasional y 15 pacientes (20,3%) realizaban actividad física de forma habitual.

En cuanto al grupo control, 14 (19,2%) no realizaban actividad física alguna, 31 (42,5%) realizaban actividad física eventual y 28 (38,4%) realizaban actividad física regular.

#### 4.2.1.6. Presencia de hipertensión arterial.

De los 147 individuos que componían la muestra total: 63 (42,9%) cumplían criterios de hipertensión arterial, mientras que los 84 individuos restantes (57,1%) no cumplían criterios de hipertensión arterial.

La frecuencia de hipertensión en el grupo de los casos (n=74) fue de 59 pacientes (79,7%) con criterios de hipertensión arterial, frente a 15 pacientes (20,3%) sin hipertensión arterial.

La frecuencia de hipertensión en el grupo control (n=73), fue de 5 individuos hipertensos (5,5%) frente a 69 individuos no hipertensos (94,5%).

### 4.2.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS.

#### 4.2.2.1. Talla.

La talla media de la muestra total (n=147) fue de  $1,64 \pm 0,097$  metros. Las tallas medias del grupo de casos oscilaban entre  $1,63 \pm 0,098$  metros, mientras que en el grupo control las tallas medias se situaban entre  $1,66 \pm 0,094$  metros.

#### 4.2.2.2. Peso.

De la muestra total (n=147), el peso medio se situó en torno a  $81,54 \pm 22,20$  kilogramos. El peso medio en el grupo de casos fue de  $96,05 \pm 19,10$  kilogramos. En el grupo control (n=73), el peso medio fue de  $66,83 \pm 13,93$  kilogramos.

#### **4.2.2.3. Índice de masa corporal.**

De la muestra total (n=147), el índice de masa corporal medio fue de  $30,06 \pm 8,20$  kg/m<sup>2</sup>. En el grupo de casos, el índice masa corporal medio oscilaba entre  $35,98 \pm 6,89$  kg/m<sup>2</sup>, mientras que en el grupo control el índice de masa corporal medio fue de  $24,06 \pm 3,96$  kg/m<sup>2</sup>.

#### **4.2.2.4. Perímetro de cintura.**

El perímetro de cintura medio de la muestra total (n=147) fue de  $100,79 \pm 21,35$  centímetros. En referencia al perímetro de cintura medio del grupo de casos, éste se situó en  $117,14 \pm 14,55$  cm. Con respecto al grupo control, el perímetro de cintura medio fue de  $84,23 \pm 12,52$  cm.

### **4.2.3. VARIABLES DIABETOLÓGICAS Y DE PERFIL METABÓLICO.**

#### **4.2.3.1. Presencia de síndrome metabólico.**

La presencia de síndrome metabólico, de acuerdo con los criterios de la NCEP-ATP III, fue en el grupo de los casos de 25 pacientes (33,8%) frente a 49 pacientes (66,2%) que no cumplieron los criterios de síndrome metabólico.

#### **4.2.3.2. Años de evolución de la diabetes.**

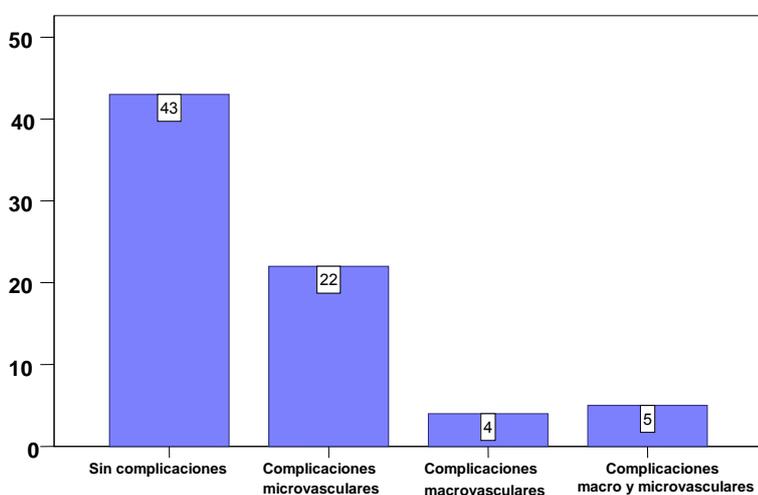
La media de años de evolución de la diabetes en el grupo de los casos oscilaba en torno a  $11,50 \pm 7,67$  años.

#### **4.2.3.3. Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.**

En el grupo de los casos (n=74), la presencia de complicaciones crónicas se encontró en 31 pacientes (41,9%), mientras que 43 pacientes (58,1%) no presentaban complicaciones crónicas.

Dentro del grupo de pacientes que presentaron complicaciones crónicas: 22 pacientes (29,7%) presentaron complicaciones microvasculares, 4 (5,4%) complicaciones macrovasculares y 5 (6,8%) complicaciones macro y microvasculares.

**Gráfico 4.7.:** Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes en el grupo de casos.



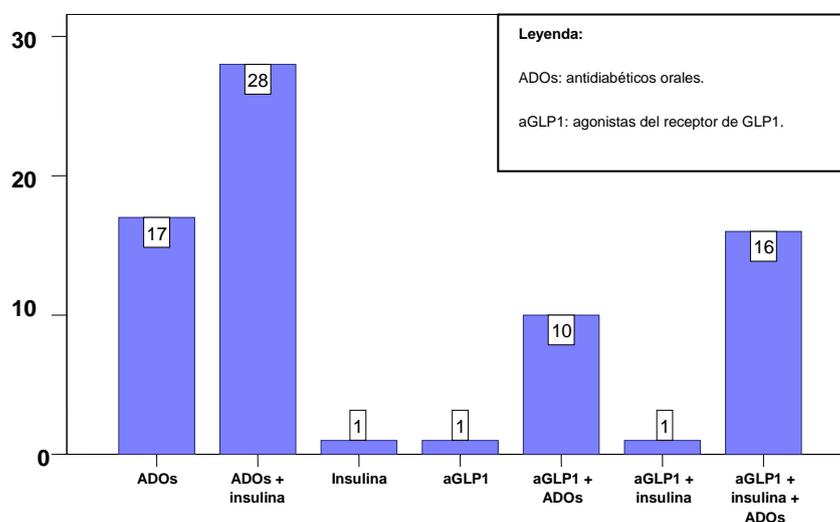
#### 4.2.3.4. Tratamiento antidiabético.

##### Tratamiento dietético.

Respecto al cumplimiento de una dieta específica para el paciente con diabetes en el grupo de casos, 24 pacientes (32,4%) afirmaban seguir una dieta de diabético frente a 50 pacientes (67,6%) que reconocían no seguir dieta reglada para diabético.

##### Tratamiento farmacológico.

En referencia al tipo de tratamiento antidiabético en el grupo de casos (n=74), la distribución fue la siguiente: 17 (23%) antidiabéticos orales, 28 (37,8%) antidiabéticos orales + insulina, 1 (1,4%) insulina, 1 (1,4%) agonistas del receptor de GLP1 (péptido análogo al glucagón de tipo 1), 10 (13,5%) agonistas del receptor de GLP1 + antidiabéticos orales, 1 (1,4%) insulina + agonistas del receptor de GLP1, 16 (21,6%) insulina + antidiabéticos orales + agonistas del receptor de GLP1.

**Gráfico 4.8.:** Tipos de tratamiento antidiabético en el grupo de casos.

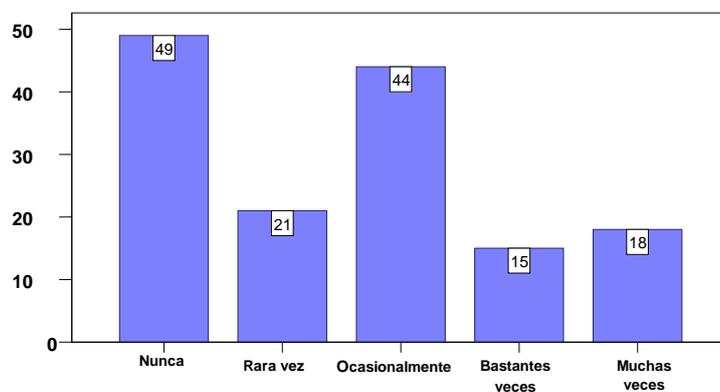
#### 4.2.3.5. Cuestionario de calidad de vida en diabetes (versión en español del Diabetes Quality of Life Questionnaire).

En el grupo de casos (n=74), la puntuación media en el cuestionario de calidad de vida en diabetes, la versión en español modificada del Diabetes Quality of Life Questionnaire (EsDQL), fue la siguiente con relación a los distintos ítems: satisfacción ( $32,0 \pm 5,70$  puntos), impacto ( $3,95 \pm 2,86$  puntos), preocupación social/vocacional ( $0,49 \pm 1,01$  puntos), preocupación relacionada con la diabetes ( $4,35 \pm 3,68$  puntos).

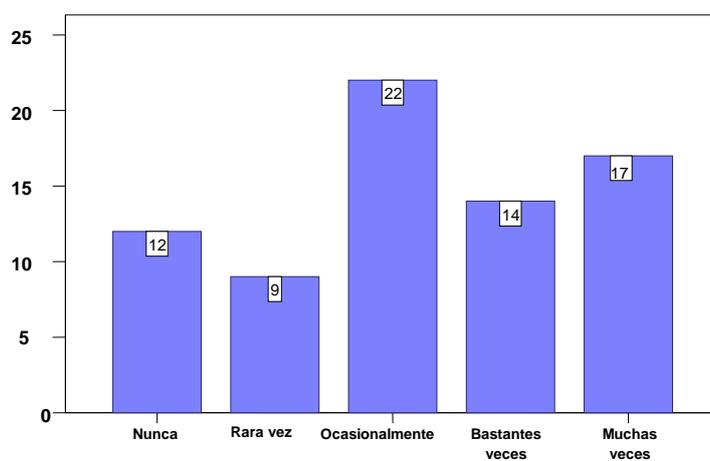
#### 4.2.4. VARIABLES ODONTOLÓGICAS.

##### 4.2.4.1. Frecuencia de xerostomía.

De la muestra total (n=147), la frecuencia de xerostomía presentó la siguiente distribución: 49 nunca (33,3%), 21 rara vez (14,3%), 44 ocasionalmente (29,9%), 15 bastantes veces (10,2%) y 18 muchas veces (12,2%).

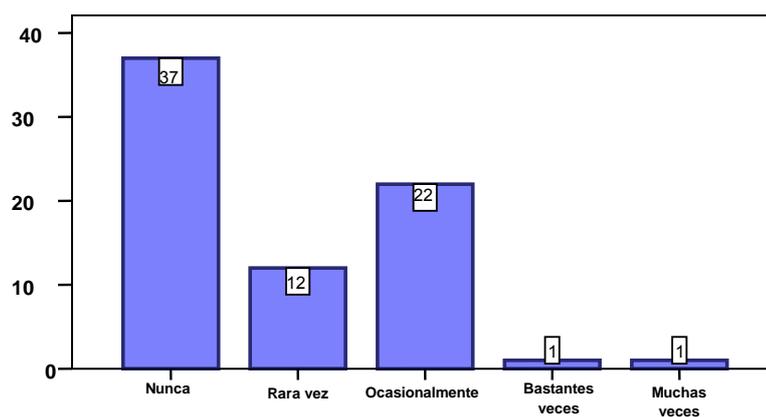
**Gráfico 4.9.:** Prevalencia de xerostomía en el total de la muestra.

En cuanto al grupo de casos ( $n=74$ ), la frecuencia de xerostomía en los pacientes fue la siguiente: 12 nunca (16,2%), 9 rara vez (12,2%), 22 ocasionalmente (29,7%), 14 bastantes veces (18,9%) y 17 muchas veces (27%).

**Gráfico 4.10.:** Prevalencia de xerostomía en el grupo de casos.

En lo referente al grupo control (n=73), la xerostomía presentó la siguiente frecuencia: 37 nunca (50,7%), 12 rara vez (16,4%), 22 ocasionalmente (30,1%), 1 bastantes veces (1,4%) y 1 muchas veces (1,4%).

**Gráfico 4.11.:** Prevalencia de xerostomía en el grupo control.

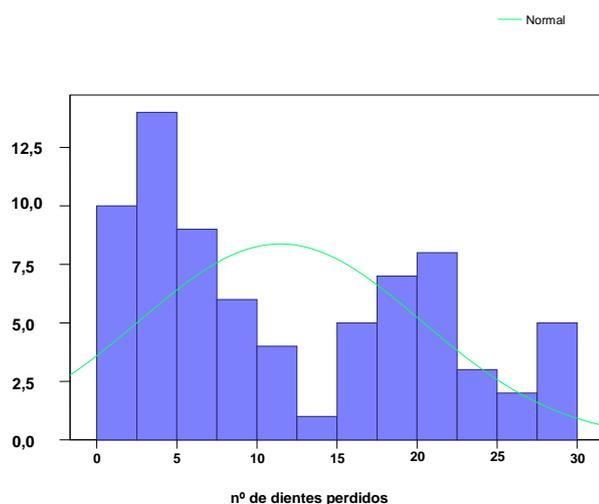


#### 4.2.4.2. Ausencia dental.

Con respecto a la muestra total (n=147), la ausencia dental media osciló entre  $6,21 \pm 8,25$  dientes.

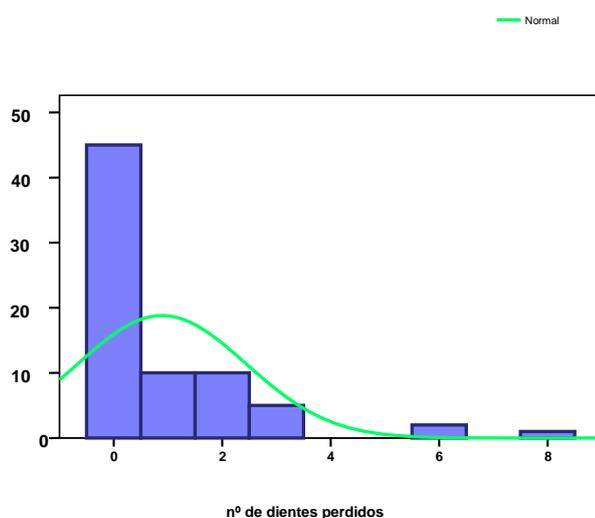
La ausencia dental media en el grupo de los casos (n=74) se situó en torno a  $11,46 \pm 8,81$  dientes.

**Gráfico 4.12.:** Ausencia dental en el grupo de casos.



En el grupo control (n=73), la ausencia dental osciló en torno a  $0,89 \pm 1,551$  dientes.

**Gráfico 4.13.:** Ausencia dental en el grupo control.



#### 4.2.4.3. Índice de O'Leary.

En el grupo de casos (n=74), la puntuación media en el índice de O'Leary fue de  $29,19 \pm 14,30$  puntos.

En lo referente al grupo control (n=73), la puntuación media osciló entre  $18,93 \pm 7,49$  puntos.

#### 4.2.4.4. Perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14).

En el grupo de casos (n=74), la puntuación media en el perfil de Impacto de la Salud Oral (OHIP-14) fue de  $6,80 \pm 6,62$  puntos.

En lo referente al grupo de controles (n=73), la puntuación media osciló entre  $2,48 \pm 2,86$  puntos.

#### 4.2.5. VARIABLES DE LABORATORIO.

##### 4.2.5.1. Determinaciones bioquímicas en plasma: Reactantes de fase aguda.

Se determinaron los reactantes de fase aguda en plasma en el grupo de casos (n=74). Los reactantes de fase aguda medidos fueron los siguientes: ferritina, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular y albúmina.

**Tabla 4.1.:** Valores medios de los reactantes de fase aguda plasmáticos en el grupo de casos.

Reactantes de fase aguda en plasma	Valor medio $\pm$ desviación estándar
Albúmina	$4,23 \pm 0,275$ (g/dl)
Ferritina	$59,96 \pm 54,136$ (ng/ml)
Proteína C reactiva	$0,66 \pm 0,48$ (mg/dl)
Velocidad de sedimentación globular	$27,39 \pm 18,22$ (mm/h)

##### 4.2.5.2. Elementos traza en plasma.

Se determinaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos (n=74). Durante el análisis estadístico, algunas variables de elementos traza en plasma se convirtieron en constantes, por lo que fueron excluidos del estudio posterior. Los elementos traza que se comportaron como constantes fueron los siguientes: antimonio, arsénico, berilio, bismuto, cadmio, cobalto, molibdeno, selenio y talio.

**Tabla 4.2.:** Valores medios de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

Elementos traza en plasma	Valor medio $\pm$ desviación estándar
Aluminio	0,22 $\pm$ 0,16 (mg/Kg)
Azufre	0,098 $\pm$ 0,0075 (g/100g)
Boro	0,052 $\pm$ 0,067 (mg/Kg)
Calcio	9,49 $\pm$ 0,48 (mg/dl)
Cobre	1,29 $\pm$ 0,25 (mg/Kg)
Cromo	0,0072 $\pm$ 0,0073 (mg/Kg)
Estroncio	0,054 $\pm$ 0,025 (mg/Kg)
Fósforo	2,59 $\pm$ 1,71 (mg/dl)
Hierro	62,39 $\pm$ 21,10 ( $\mu$ g/dl)
Litio	5,59 $\pm$ 1,37 (mg/Kg)
Magnesio	1,93 $\pm$ 0,21 (mg/dl)
Manganeso	0,16 $\pm$ 0,023 (mg/Kg)
Níquel	0,12 $\pm$ 0,099 (mg/Kg)
Plomo	0,026 $\pm$ 0,015 (mg/Kg)
Rubidio	0,16 $\pm$ 0,049 (mg/Kg)
Titanio	0,033 $\pm$ 0,023 (mg/Kg)
Vanadio	0,0041 $\pm$ 0,0025 (mg/Kg)
Zinc	1,23 $\pm$ 0,20 (mg/Kg)

#### **4.2.5.3. Elementos traza en saliva.**

Se determinaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos y controles (n=147). Durante el análisis estadístico, algunas variables de elementos traza en saliva se convirtieron en constantes, por lo que fueron excluidos del estudio posterior. Los elementos traza que se comportaron como constantes fueron los siguientes: antimonio, arsénico, bismuto, cadmio, molibdeno, selenio y talio.

**Tabla 4.3.:** Valores medios de los elementos traza en saliva en el grupo de casos, grupo control y en el total de la muestra.

Elementos traza en saliva	Media elementos traza en saliva: Grupo de casos	Media elementos traza en saliva: Grupo control	Media elementos traza en saliva: Muestra total
Aluminio	0,4771 ± 0,3473 (mg/Kg)	0,2139 ± 0,2589 (mg/Kg)	0,3355 ± 0,3292 (mg/Kg)
Azufre	0,0096 ± 0,0057 (g/100g)	0,0042 ± 0,0031 (g/100g)	0,0068 ± 0,0053 (g/100g)
Berilio	0,0011 ± 0,0008 (mg/Kg)	0,0009 ± 0,0000 (mg/Kg)	0,0010 ± 0,0005 (mg/Kg)
Boro	0,1167 ± 0,1125 (mg/Kg)	0,0723 ± 0,0591 (mg/Kg)	0,0927 ± 0,0902 (mg/Kg)
Calcio	0,0168 ± 0,0094 (g/100g)	0,0065 ± 0,0038 (g/100g)	0,0114 ± 0,0087 (g/100g)
Cobalto	0,0011 ± 0,0009 (mg/Kg)	0,0009 ± 0,0001 (mg/Kg)	0,0010 ± 0,0006 (mg/Kg)
Cobre	0,0488 ± 0,0365 (mg/Kg)	0,0276 ± 0,0249 (mg/Kg)	0,0372 ± 0,0324 (mg/Kg)
Cromo	0,0129 ± 0,0130 (mg/Kg)	0,0068 ± 0,0115 (mg/Kg)	0,0095 ± 0,0125 (mg/Kg)
Estroncio	0,4480 ± 0,3001 (mg/Kg)	0,1210 ± 0,1112 (mg/Kg)	0,2762 ± 0,2752 (mg/Kg)
Fósforo	0,0332 ± 0,0151 (g/100g)	0,0183 ± 0,0101 (g/100g)	0,0254 ± 0,0147 (g/100g)
Hierro	0,7878 ± 0,0722 (mg/Kg)	0,3232 ± 0,3447 (mg/Kg)	0,5343 ± 0,7975 (mg/Kg)
Litio	0,0036 ± 0,0068 (mg/Kg)	0,0020 ± 0,0053 (mg/Kg)	0,0027 ± 0,0060 (mg/Kg)
Magnesio	0,0026 ± 0,0017 (g/100g)	0,0007 ± 0,0005 (g/100g)	0,0016 ± 0,0015 (g/100g)
Manganeso	0,4089 ± 0,2574 (mg/Kg)	0,1689 ± 0,1094 (mg/Kg)	0,2829 ± 0,2279 (mg/Kg)
Níquel	0,0722 ± 0,0477 (mg/Kg)	0,0331 ± 0,0287 (mg/Kg)	0,0513 ± 0,0432 (mg/Kg)
Plomo	0,0629 ± 0,0400 (mg/Kg)	0,0240 ± 0,0102 (mg/Kg)	0,0418 ± 0,0341 (mg/Kg)
Rubidio	0,9018 ± 0,3605 (mg/Kg)	0,5493 ± 0,1596 (mg/Kg)	0,7180 ± 0,3257 (mg/Kg)
Titanio	0,0519 ± 0,0452 (mg/Kg)	0,0263 ± 0,0271 (mg/Kg)	0,0384 ± 0,0388 (mg/Kg)
Vanadio	0,0066 ± 0,0060 (mg/Kg)	0,0027 ± 0,0035 (mg/Kg)	0,0045 ± 0,0052 (mg/Kg)
Zinc	0,1906 ± 0,1347 (mg/Kg)	0,0711 ± 0,0554 (mg/Kg)	0,1219 ± 0,1136 (mg/Kg)

### **4.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO INFERENCIAL.**

#### **4.3.1. Correlación de elementos traza en plasma con elementos traza en saliva.**

Se correlacionaron cada uno de los elementos traza en plasma, determinados en el grupo de casos, con los elementos traza en saliva homólogos, determinados también en el grupo de casos.

Los resultados mostraron que, de todos los elementos traza analizados, únicamente los niveles de boro se correlacionan significativamente ( $p < 0,001$ ) consigo mismos en plasma y saliva.

A continuación se muestran los valores de correlación entre los elementos traza en plasma y saliva en el grupo de casos (Tabla 4.4.).

Tabla 4.4.: Correlaciones entre plasma y saliva de elementos traza en el grupo de casos.

	Aluminio (saliva)	Azufre (saliva)	Boro (saliva)	Calcio (saliva)	Cobre (saliva)	Cromo (saliva)	Estroncio (saliva)	Fosforo (saliva)	Litio (saliva)	Magnesio (saliva)	Manganeso (saliva)	Niquel (saliva)	Plomo (saliva)	Rubidio (saliva)	Titanio (saliva)	Vanadio (saliva)	Zinc (saliva)		
Aluminio (plasma)	Rho 0,234 p 0,076																		
Azufre (plasma)		Rho 0,022 p 0,862																	
Boro (plasma)			Rho 0,447 p 0,000																
Calcio (plasma)				Rho -0,126 p 0,314															
Cobre (plasma)					Rho 0,132 p 0,313														
Cromo (plasma)						Rho 0,083 p 0,551													
Estroncio (plasma)							Rho 0,040 p 0,750												
Fosforo (plasma)								Rho -0,039 p 0,758											
Litio (plasma)									Rho -0,092 p 0,543										
Magnesio (plasma)										Rho -0,008 p 0,948									
Manganeso (plasma)											Rho -0,040 p 0,748								
Niquel (plasma)												Rho 0,003 p 0,982							
Plomo (plasma)													Rho 0,215 p 0,093						
Rubidio (plasma)														Rho 0,224 p 0,088					
Titanio (plasma)															Rho 0,139 p 0,310				
Vanadio (plasma)																Rho 0,078 p 0,540			
Zinc (plasma)																	Rho -0,119 p 0,409		
Tamaño muestral (N)	N 58	N 66	N 62	N 66	N 60	N 54	N 66	N 66	N 46	N 67	N 66	N 61	N 62	N 67	N 55	N 64	N 50		

### 4.3.2. VARIABLES ODONTOLÓGICAS EN MUESTRA TOTAL.

#### 4.3.2.1. Ausencia dental.

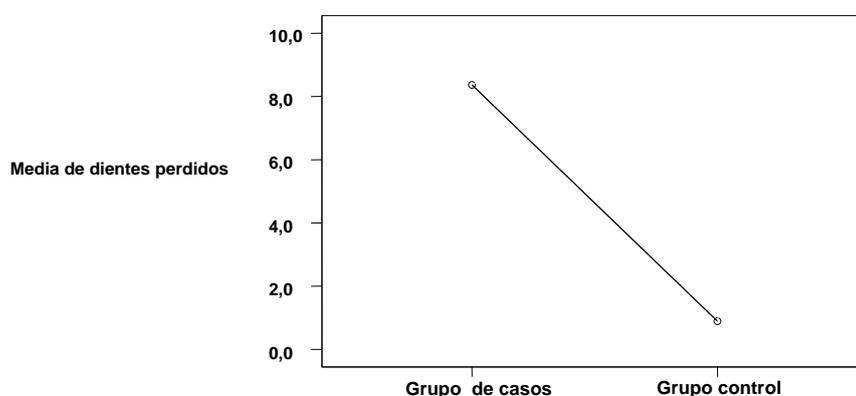
La variable “ausencia dental” fue codificada en dos niveles: <12 dientes perdidos y  $\geq 12$  dientes perdidos.

#### Estudio comparativo grupo de casos vs. grupo control.

Se analizó la ausencia dental en el grupo de casos con respecto a la ausencia dental en el grupo control. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) en cuanto al número de dientes perdidos, siendo mayor en el grupo de casos con respecto a la ausencia dental del grupo control.

**Gráfico 4.14.:** Representación gráfica de la ausencia dental con respecto al grupo de casos y grupo control.



#### Estudio comparativo grupo de casos con respecto al control metabólico.

Se analizó la ausencia dental en el grupo de casos con respecto al buen o mal control metabólico determinado a partir de las cifras de hemoglobina glicosilada (HbA1c). Se consideró como buen control metabólico cifras de HbA1c <7% y mal control metabólico cifras de HbA1c  $\geq 7\%$ . Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en cuanto al número de dientes perdidos en el grupo de casos en función del buen o mal control metabólico.

#### **4.3.3. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA EN MUESTRA TOTAL.**

##### **4.3.3.1. VARIABLES SOCIO-DEMOGRÁFICAS.**

###### **Edad.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra en relación con la edad.

Se codificó la variable “edad” en dos niveles:  $< 65$  años y  $\geq 65$  años.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de aluminio ( $p=0,045$ ), azufre ( $p=0,001$ ), calcio ( $p=0,034$ ), cromo ( $p=0,022$ ), estroncio ( $p=0,002$ ), fósforo ( $p=0,002$ ), magnesio ( $p=0,005$ ), manganeso ( $p=0,035$ ), plomo ( $p=0,004$ ), rubidio ( $p=0,001$ ) y zinc ( $p=0,005$ ) en saliva y la edad de los individuos. Los citados elementos traza fueron significativamente más elevados en los individuos de mayor o igual edad de 65 años con respecto a los menores de 65 años.

###### **Sexo.**

Se observaron diferencias significativas en cuanto al sexo en relación con los niveles de elementos traza en saliva en el total de individuos de la muestra. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles en saliva de estroncio ( $p=0,016$ ), fósforo ( $p=0,033$ ) y magnesio ( $p=0,005$ ) fueron significativamente más elevados en hombres respecto a las mujeres.

###### **Consumo de tabaco.**

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra en relación con el grupo de no fumadores, fumadores y ex fumadores.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis con un intervalo de confianza del 98,3%, controlando el riesgo.

Los niveles en saliva de los elementos traza tales como aluminio ( $p < 0,001$ ), azufre ( $p < 0,001$ ), calcio ( $p = 0,002$ ), cobre ( $p = 0,042$ ), cromo ( $p = 0,027$ ), estroncio ( $p = 0,002$ ), fósforo ( $p = 0,003$ ), hierro ( $p = 0,002$ ), magnesio ( $p = 0,002$ ), manganeso ( $p = 0,022$ ), plomo ( $p = 0,014$ ), rubidio ( $p = 0,001$ ), titanio ( $p < 0,001$ ) y zinc ( $p = 0,001$ ) fueron significativamente más bajos en no fumadores que en fumadores y ex fumadores. Sin embargo, los niveles de boro ( $p = 0,019$ ) en saliva fueron significativamente más bajos en fumadores con respecto a no fumadores y ex fumadores.

### **Consumo de alcohol.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva del total de la muestra en relación con el consumo de alcohol.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva y el consumo de alcohol. La variable "consumo de alcohol" fue clasificada en tres niveles: consumo mayor de 11,5 g/día (0 puntos), consumo entre 1,5 g/día y 11,5 g/día (1 punto) y consumo inferior a 1,5 g/día (2 puntos).

Los niveles de calcio ( $p = 0,021$ ), cromo ( $p = 0,07$ ), estroncio ( $p = 0,023$ ), magnesio ( $p = 0,014$ ), plomo ( $p = 0,07$ ), titanio ( $p = 0,031$ ), vanadio ( $p = 0,003$ ) y zinc ( $p = 0,004$ ) en saliva fueron significativamente mayores en el grupo de consumidores de  $>11,5$  g/día de alcohol (0 puntos) con respecto al grupo de un consumo  $<1,5$  g/día (2 puntos).

Los niveles de cromo ( $p = 0,023$ ), plomo ( $p = 0,023$ ), vanadio ( $p = 0,013$ ) y zinc ( $p = 0,031$ ) mostraron niveles significativamente mayores en el grupo de consumidores de  $>11,5$  g/día de alcohol con respecto al grupo de consumidores de 1,5 g/día a 11,5 g/día. Además los niveles de zinc ( $p = 0,018$ ) fueron a su vez significativamente mayores en el grupo de consumidores de 1,5 g/día a 11,5 g/día con respecto al grupo de consumo de  $<1,5$  g/día.

### **Actividad física.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva del total de la muestra en relación con la realización de ejercicio físico.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva y la realización de actividad física. La variable "actividad física" fue dividida en tres niveles: nula actividad física, actividad física eventual, actividad física regular.

Los niveles de azufre ( $p=0,011$ ), calcio ( $p=0,013$ ), fósforo ( $p=0,007$ ), rubidio ( $p=0,028$ ), titanio ( $p=0,036$ ) y vanadio ( $p=0,020$ ) en saliva fueron significativamente mayores en el grupo de individuos que realizaban nula actividad física con respecto al grupo de individuos que realizan actividad física eventual.

Por otra parte, los niveles de azufre ( $p=0,009$ ), fósforo ( $p=0,007$ ), rubidio ( $p=0,020$ ), titanio ( $p=0,010$ ), vanadio ( $p<0,001$ ) y zinc ( $p=0,012$ ) en saliva también fueron significativamente mayores en el grupo de individuos que realizan nula actividad física frente al grupo de individuos que realizan actividad física de forma regular.

### **Presencia de hipertensión arterial.**

Se observaron diferencias significativas en cuanto a la presencia o no de hipertensión arterial y los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles en saliva de los siguientes elementos traza fueron significativamente más elevados en individuos con hipertensión arterial frente a aquellos sin hipertensión arterial: aluminio, azufre, berilio, boro, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc.

**Tabla 4.5.:** Resultados de la correlación entre los elementos traza en saliva y la presencia o no de hipertensión arterial en el total de la muestra.

Elementos traza en saliva	Grupo con Hipertensión arterial. <i>Media.</i>	Grupo sin Hipertensión arterial. <i>Media.</i>	Z	P valor
Aluminio	0,4869(mg/Kg)	0,2347(mg/Kg)	-5,330	$p<0,001$
Azufre	0,0099(g/100g)	0,0047(g/100g)	-5,519	$p<0,001$
Boro	0,1282(mg/Kg)	0,0692(mg/Kg)	-2,683	$p=0,007$
Calcio	0,0168(g/100g)	0,0078(g/100g)	-6,566	$p<0,001$
Cobre	0,0509(mg/Kg)	0,0287(mg/Kg)	-4,328	$p<0,001$
Cromo	0,0127(mg/Kg)	0,0076(mg/Kg)	-2,899	$p=0,004$
Estroncio	0,4447(mg/Kg)	0,1626(mg/Kg)	-6,381	$p<0,001$
Fósforo	0,0335(g/100g)	0,0199(g/100g)	-5,911	$p<0,001$
Hierro	0,7977(mg/Kg)	0,3686(mg/Kg)	-4,592	$p<0,001$
Magnesio	0,0026(g/100g)	0,0010(g/100g)	-6,037	$p<0,001$
Manganeso	0,4096(mg/Kg)	0,1975(mg/Kg)	-5,759	$p<0,001$
Níquel	0,0749(mg/Kg)	0,0358(mg/Kg)	-5,219	$p<0,001$
Plomo	0,0606(mg/Kg)	0,0294(mg/Kg)	-5,111	$p<0,001$
Rubidio	0,9058(mg/Kg)	0,5891(mg/Kg)	-5,064	$p<0,001$
Titanio	0,0519(mg/Kg)	0,0298(mg/Kg)	-4,119	$p<0,001$
Vanadio	0,0069(mg/Kg)	0,0030(mg/Kg)	-4,441	$p<0,001$
Zinc	0,1835(mg/Kg)	0,0876(mg/Kg)	-5,558	$p<0,001$

#### 4.3.3.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS.

##### Índice de masa corporal.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra en relación con el índice de masa corporal (IMC). La variable “índice de masa corporal” se codificó dos niveles:  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc en saliva y el índice de masa corporal de los individuos. Los citados elementos traza fueron significativamente más elevados en los individuos con un  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$  en relación con los individuos con un  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ , que presentaron niveles más bajos.

La excepción fue encontrada en los niveles de hierro en saliva, ya que los individuos con un  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  presentaban niveles más elevados con respecto a los individuos con un  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

**Tabla 4.6.:** Resultados de la correlación entre los elementos traza en saliva y el índice de masa corporal en el total de la muestra.

Elementos traza en saliva	Grupo con IMC <30 kg/m <sup>2</sup> . <i>Media.</i>	Grupo con IMC ≥30 kg/m <sup>2</sup> . <i>Media.</i>	Z	P valor
Aluminio	0,3138(mg/Kg)	0,5161(mg/Kg)	-3,798	p<0,001
Azufre	0,0063(g/100g)	0,0109(mg/Kg)	-4,533	p<0,001
Calcio	0,0108(g/100g)	0,0168(mg/Kg)	-5,696	p<0,001
Cobre	0,0371(mg/Kg)	0,0388(mg/Kg)	-4,455	p<0,001
Cromo	0,0088(mg/Kg)	0,0169(mg/Kg)	-2,148	p=0,032
Estroncio	0,2472(mg/Kg)	0,5003(mg/Kg)	-5,953	p<0,001
Fósforo	0,0240(g/100g)	0,0360(mg/Kg)	-4,867	p<0,001
Hierro	0,5365(mg/Kg)	0,5116(mg/Kg)	-3,414	p=0,001
Magnesio	0,0015(g/100g)	0,0028(mg/Kg)	-6,008	p<0,001
Manganeso	0,2629(mg/Kg)	0,4367(mg/Kg)	-4,756	p<0,001
Níquel	0,0489(mg/Kg)	0,0694(mg/Kg)	-4,939	p<0,001
Plomo	0,0404(mg/Kg)	0,0565(mg/Kg)	-4,098	p<0,001
Rubidio	0,6758(mg/Kg)	1,0457(mg/Kg)	-4,647	p<0,001
Titanio	0,0363(mg/Kg)	0,0583(mg/Kg)	-3,301	p=0,001
Vanadio	0,0043(mg/Kg)	0,0062(mg/Kg)	-3,447	p=0,001
Zinc	0,1159(mg/Kg)	0,1886(mg/Kg)	-5,185	p<0,001

## Perímetro de cintura.

### Perímetro de cintura en mujeres.

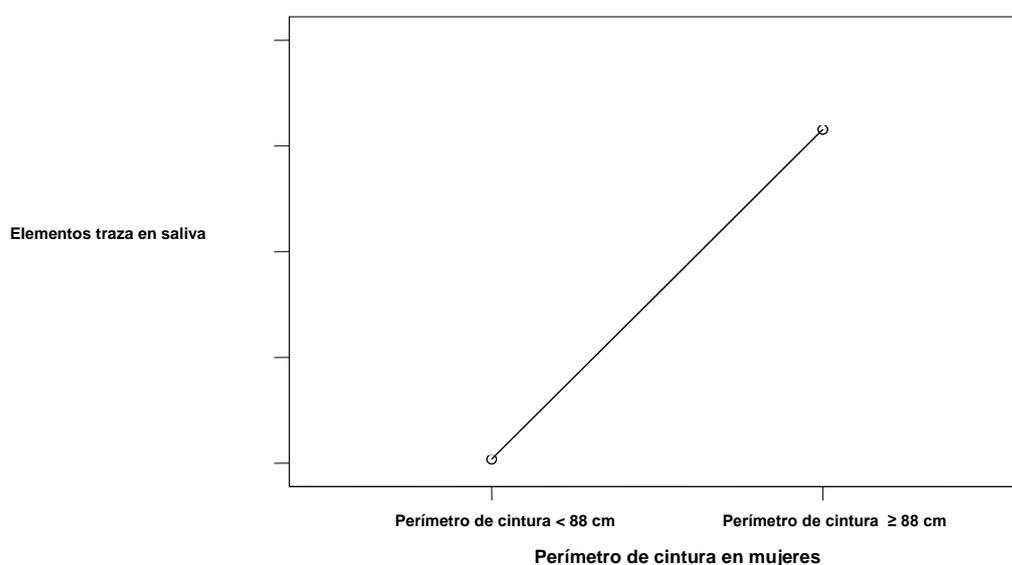
Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra en relación con el perímetro de cintura (PC) en mujeres.

La variable “perímetro de cintura en mujeres” se codificó dos niveles: perímetro de cintura <88 cm y perímetro de cintura  $\geq$  88cm.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de aluminio, azufre, berilio, calcio, cobre, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc en saliva y el perímetro de cintura en mujeres. Los citados elementos traza fueron significativamente más bajos en los individuos con un perímetro de cintura <88 cm en relación con los individuos con un perímetro de cintura  $\geq$ 88 cm, que presentaron niveles más altos.

**Gráfico 4.15.:** Representación gráfica de los niveles de elementos traza en saliva en relación con el perímetro de cintura en mujeres.



**Tabla 4.7.:** Resultados de la correlación entre los elementos traza en saliva y el perímetro de cintura en mujeres en el total de la muestra.

Elementos traza en saliva	Grupo con PC<88cm. Media.	Grupo con PC ≥88 cm. Media.	Z	P valor
Aluminio	0,2313(mg/Kg)	0,4183(mg/Kg)	-3,248	p=0,001
Azufre	0,0050(g/100g)	0,0081(g/100g)	-3,502	p<0,001
Berilio	0,0009(mg/Kg)	0,0011(mg/Kg)	-2,155	p=0,031
Calcio	0,0071(g/100g)	0,0146(g/100g)	-4,503	p<0,001
Cobre	0,0242(mg/Kg)	0,0474(mg/Kg)	-3,947	p<0,001
Estroncio	0,1308(mg/Kg)	0,3678(mg/Kg)	-4,395	p<0,001
Fósforo	0,0190(g/100g)	0,0297(g/100g)	-3,739	p<0,001
Hierro	0,3711(mg/Kg)	0,6074(mg/Kg)	-2,547	p=0,011
Magnesio	0,0008(g/100g)	0,0020(g/100g)	-4,053	p<0,001
Manganeso	0,1845(mg/Kg)	0,3524(mg/Kg)	-3,873	p<0,001
Níquel	0,0334(mg/Kg)	0,0700(mg/Kg)	-3,916	p<0,001
Plomo	0,0269(mg/Kg)	0,0513(mg/Kg)	-2,836	p=0,005
Rubidio	0,5577(mg/Kg)	0,8027(mg/Kg)	-3,506	p<0,001
Titanio	0,0286(mg/Kg)	0,0469(mg/Kg)	-2,658	p=0,008
Vanadio	0,0033(mg/Kg)	0,0056(mg/Kg)	-2,320	p=0,020
Zinc	0,0841(mg/Kg)	0,1707(mg/Kg)	-4,239	p<0,001

### Perímetro de cintura en varones.

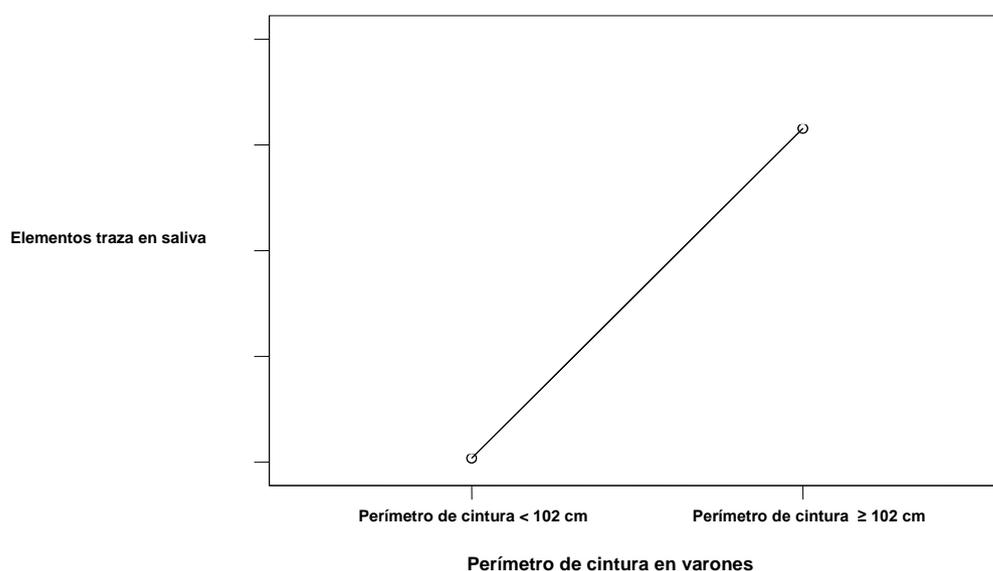
Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el total de la muestra en relación con el perímetro de cintura (PC) en varones.

La variable “perímetro de cintura en varones” se codificó dos niveles: perímetro de cintura <102 cm y perímetro de cintura  $\geq$  102cm.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de aluminio, azufre, calcio, cobre, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc en saliva y el perímetro de cintura en varones. Los citados elementos traza fueron significativamente más bajos en los individuos con un perímetro de cintura <102 cm en relación con los individuos con un perímetro de cintura  $\geq$ 102 cm, que presentaron niveles más altos.

**Gráfico 4.16.:** Representación gráfica de los niveles de elementos traza en saliva en relación con el perímetro de cintura en varones.



**Tabla 4.8.:** Resultados de la correlación entre los elementos traza en saliva y el perímetro de cintura en varones en el total de la muestra.

Elementos traza en saliva	Grupo con PC < 102 cm. <i>Media.</i>	Grupo con PC ≥ 102 cm. <i>Media.</i>	Z	P valor
Aluminio	0,2866(mg/Kg)	0,4296(mg/Kg)	-2,593	$p=0,010$
Azufre	0,0044(g/100g)	0,0098(g/100g)	-3,500	$p<0,001$
Calcio	0,0077(g/100g)	0,0169(g/100g)	-4,230	$p<0,001$
Cobre	0,0306(mg/Kg)	0,0517(mg/Kg)	-2,175	$p=0,030$
Estroncio	0,1696(mg/Kg)	0,4626(mg/Kg)	-4,311	$p<0,001$
Fósforo	0,0204(g/100g)	0,0333(g/100g)	-3,386	$p=0,001$
Hierro	0,3759(mg/Kg)	0,8502(mg/Kg)	-3,019	$p=0,003$
Magnesio	0,0011(g/100g)	0,0028(g/100g)	-4,374	$p<0,001$
Manganeso	0,1783(mg/Kg)	0,4248(mg/Kg)	-4,005	$p<0,001$
Níquel	0,0315(mg/Kg)	0,0710(mg/Kg)	-3,436	$p=0,001$
Plomo	0,0344(mg/Kg)	0,0603(mg/Kg)	-2,781	$p=0,005$
Rubidio	0,5804(mg/Kg)	0,9560(mg/Kg)	-3,462	$p=0,001$
Titanio	0,0294(mg/Kg)	0,0497(mg/Kg)	-3,035	$p=0,002$
Vanadio	0,0032(mg/Kg)	0,0062(mg/Kg)	-2,202	$p=0,028$
Zinc	0,1022(mg/Kg)	0,1520(mg/Kg)	-2,912	$p<0,004$

#### 4.3.3.3. VARIABLES ODONTOLÓGICAS.

##### Frecuencia de xerostomía.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva del total de la muestra en relación con la frecuencia de xerostomía.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

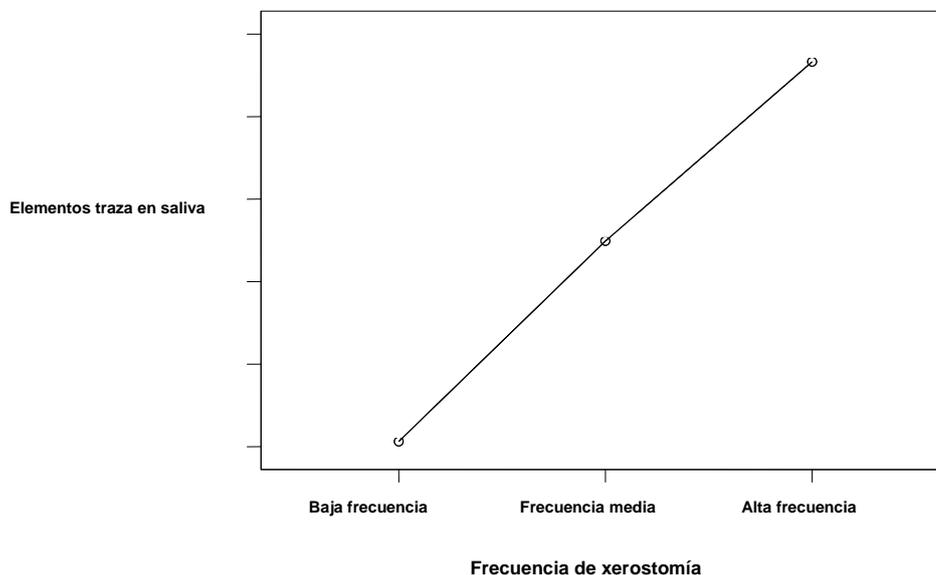
Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva y la frecuencia de xerostomía medida en tres niveles: baja, media y alta.

Los niveles de aluminio ( $p=0,001$ ), azufre ( $p<0,001$ ), calcio ( $p<0,001$ ), cobre ( $p=0,003$ ), cromo ( $p=0,025$ ), estroncio ( $p<0,001$ ), fósforo ( $p<0,001$ ), hierro ( $p<0,001$ ), magnesio ( $p<0,001$ ), manganeso ( $p<0,001$ ), níquel ( $p<0,001$ ), plomo ( $p<0,001$ ), rubidio ( $p<0,001$ ), vanadio ( $p=0,003$ ) y zinc ( $p=0,001$ ) mostraron niveles significativamente mayores en el grupo de alta frecuencia de xerostomía con respecto al grupo de individuos con una frecuencia baja de xerostomía.

Los niveles de aluminio ( $p=0,035$ ), calcio ( $p=0,006$ ), cobre ( $p=0,016$ ), estroncio ( $p=0,002$ ), magnesio ( $p=0,001$ ), manganeso ( $p=0,018$ ), níquel ( $p=0,001$ ) y zinc ( $p=0,022$ ) en saliva fueron significativamente mayores en el grupo de individuos con frecuencia de xerostomía media con respecto al grupo de individuos con una frecuencia de xerostomía baja.

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de azufre ( $p=0,004$ ), calcio ( $p=0,012$ ), estroncio ( $p=0,016$ ), fósforo ( $p=0,004$ ), hierro ( $p=0,043$ ), magnesio ( $p=0,044$ ), plomo ( $p=0,034$ ) y rubidio ( $p=0,001$ ) entre los individuos con una frecuencia de xerostomía alta respecto al grupo de individuos con una frecuencia media de xerostomía, siendo en este último grupo más bajos los niveles de metales en saliva con respecto al grupo de alta frecuencia.

**Gráfico 4.17.:** Representación gráfica de los niveles de elementos traza en saliva en relación con la frecuencia de xerostomía.



#### 4.3.3.4. VARIABLES DE LABORATORIO.

##### Grupo casos vs. grupo control.

Para estudiar las diferencias entre los niveles de elementos traza en saliva del grupo de casos frente al grupo control se empleó la prueba estadística de U de Mann-Whitney.

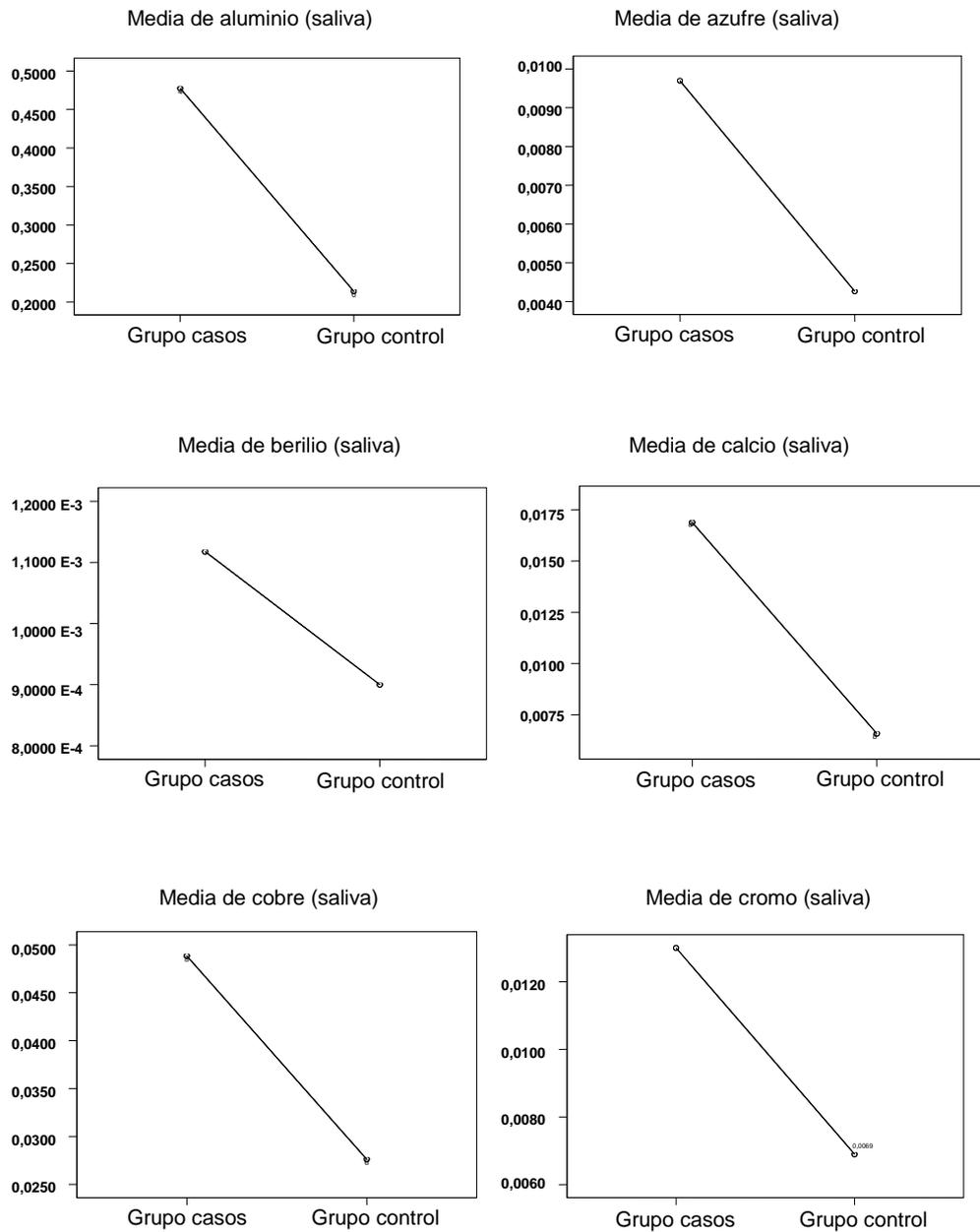
Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todos los elementos traza, a excepción del boro, litio y cobalto en saliva.

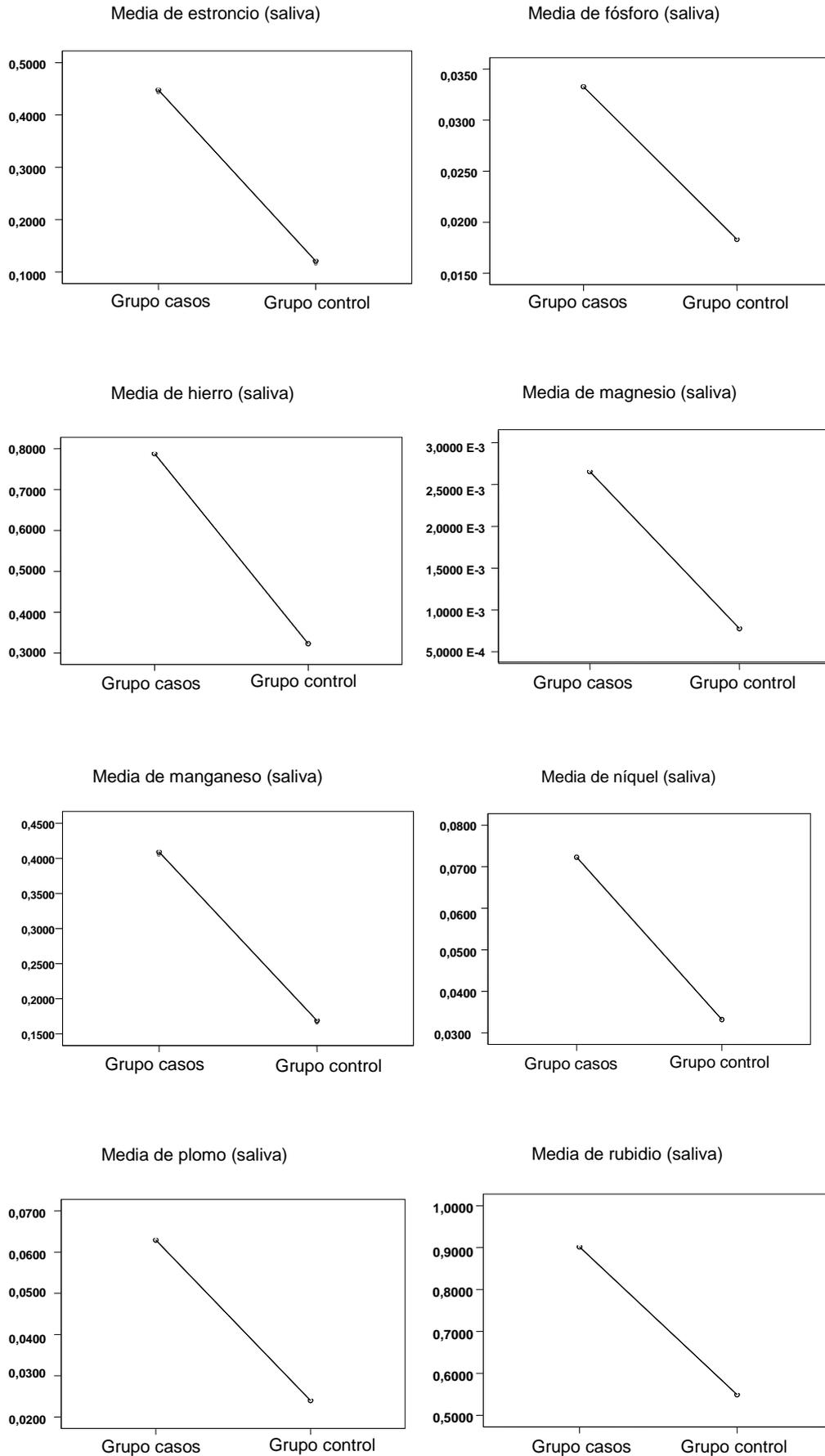
Los niveles en saliva de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc fueron significativamente más elevados en el grupo de casos frente al grupo control.

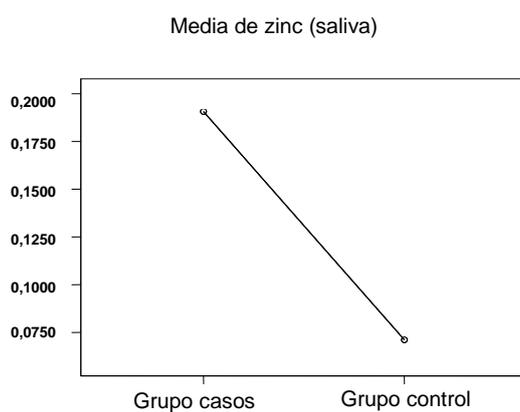
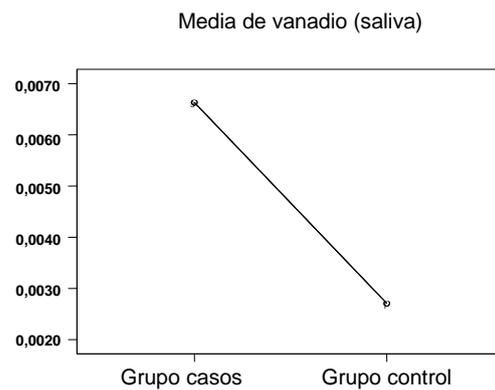
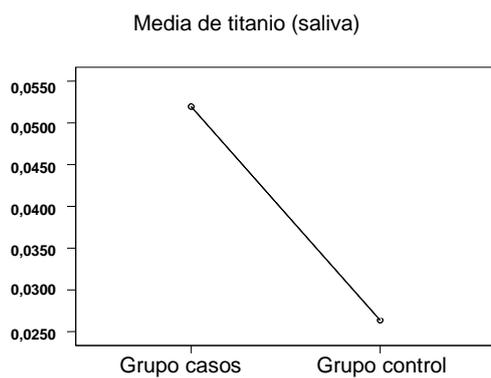
**Tabla 4.9.:** Resultados del estudio comparativo de los elementos traza en saliva entre el grupo de casos y el grupo control.

Elementos traza en saliva	Grupo de casos. <i>Media.</i>	Grupo control. <i>Media.</i>	Z	P valor
Aluminio	0,4774(mg/Kg)	0,2140(mg/Kg)	-6,064	$p<0,001$
Azufre	0,0097(g/100g)	0,0042(g/100g)	-6,667	$p<0,001$
Berilio	0,0011(mg/Kg)	0,0009(mg/Kg)	-2,428	$p=0,015$
Calcio	0,0168(g/100g)	0,0065(g/100g)	-7,865	$p<0,001$
Cobre	0,0488(mg/Kg)	0,0276(mg/Kg)	-4,851	$p<0,001$
Cromo	0,0130(mg/Kg)	0,0069(mg/Kg)	-3,427	$p=0,001$
Estroncio	0,4480(mg/Kg)	0,1210(mg/Kg)	-7,930	$p<0,001$
Fósforo	0,0332(g/100g)	0,0183(g/100g)	-6,848	$p<0,001$
Hierro	0,7878(mg/Kg)	0,3232(mg/Kg)	-6,078	$p<0,001$
Magnesio	0,0026(g/100g)	0,0007(g/100g)	-7,698	$p<0,001$
Manganeso	0,4090(mg/Kg)	0,1690(mg/Kg)	-6,702	$p<0,001$
Níquel	0,0723(mg/Kg)	0,0332(mg/Kg)	-5,754	$p<0,001$
Plomo	0,0629(mg/Kg)	0,0240(mg/Kg)	-7,104	$p<0,001$
Rubidio	0,9018(mg/Kg)	0,5494(mg/Kg)	-6,370	$p<0,001$
Titanio	0,0520(mg/Kg)	0,0264(mg/Kg)	-5,237	$p<0,001$
Vanadio	0,0066(mg/Kg)	0,0027(mg/Kg)	-4,703	$p<0,001$
Zinc	0,1907(mg/Kg)	0,0712(mg/Kg)	-6,854	$p<0,001$

**Gráfico 4.18.:** Representación gráfica de las diferencias estadísticamente significativas de los elementos traza en saliva entre el grupo de casos y grupo control.







#### 4.3.4. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA EN EL GRUPO DE CASOS.

##### 4.3.4.1. VARIABLES SOCIO-DEMOGRÁFICAS.

###### **Edad.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la edad (<65 años; ≥65 años). Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

No se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) de los elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la edad.

###### **Sexo.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en el grupo de casos en relación con el sexo de los individuos. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

No se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el sexo de los individuos.

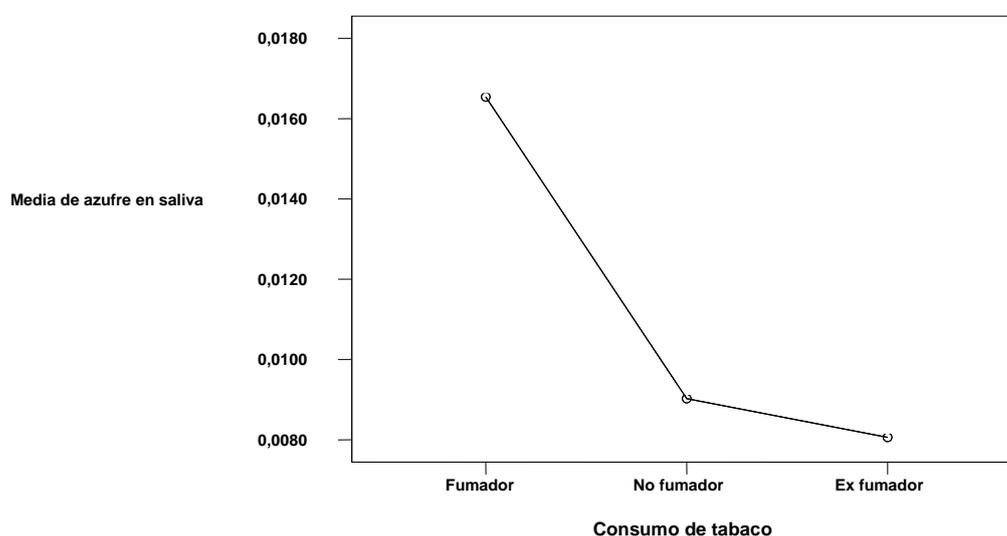
###### **Consumo de tabaco.**

Se analizaron los elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el consumo de tabaco (no fumadores, fumadores y ex fumadores).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\text{Chi}^2$  de Kruskal-Wallis con un intervalo de confianza del 98,3%, controlando el riesgo.

Los niveles de azufre en saliva fueron significativamente más altos ( $p=0,001$ ) en el grupo de fumadores con el respecto al grupo de no fumadores y ex fumadores. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en los niveles de azufre en saliva entre no fumadores y ex fumadores.

**Gráfico 4.19.:** Representación gráfica de los niveles azufre en saliva en el grupo de casos en relación con el consumo de tabaco.



### Consumo de alcohol.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el consumo de alcohol (>11,5 g/día; 1,5-11,5 g/día; <1,5 g/día).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva y el consumo de alcohol en el grupo de casos.

### Actividad física.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la realización de ejercicio físico (nula actividad física, actividad física eventual y actividad física regular).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

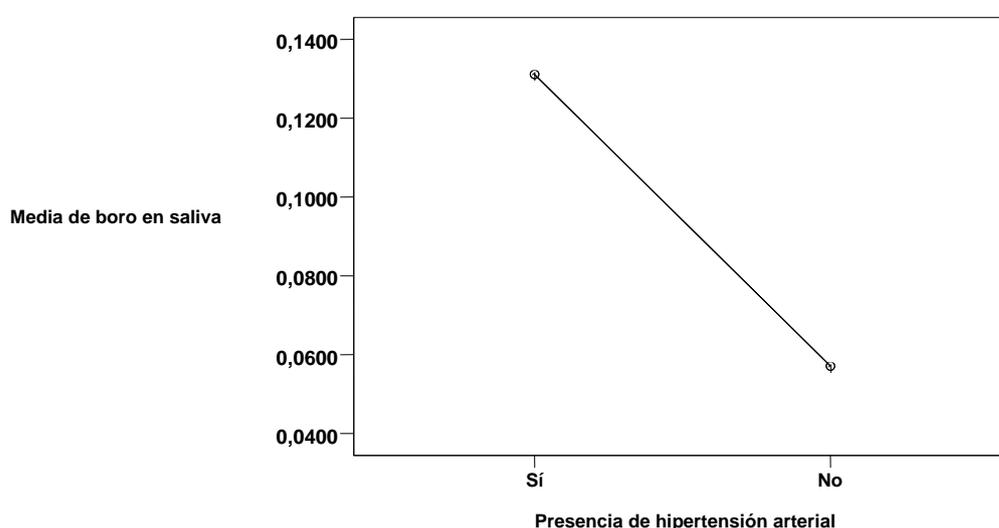
No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos y la realización de actividad física.

### Presencia de hipertensión arterial.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la presencia o no de hipertensión arterial. Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de boro en saliva fueron significativamente más elevados ( $p=0,038$ ) en aquellos pacientes con hipertensión arterial frente aquellos sin hipertensión arterial.

**Gráfico 4.20.:** Representación gráfica de los niveles de Boro en saliva en relación con la presencia de hipertensión arterial.



### 4.3.4.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS.

#### Índice de masa corporal.

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el índice de masa corporal ( $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ ;  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) de los elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el índice de masa corporal.

## Perímetro de cintura.

### Perímetro de cintura en mujeres.

Se analizaron los niveles de elementos traza en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en mujeres (<88 cm; ≥88 cm). Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

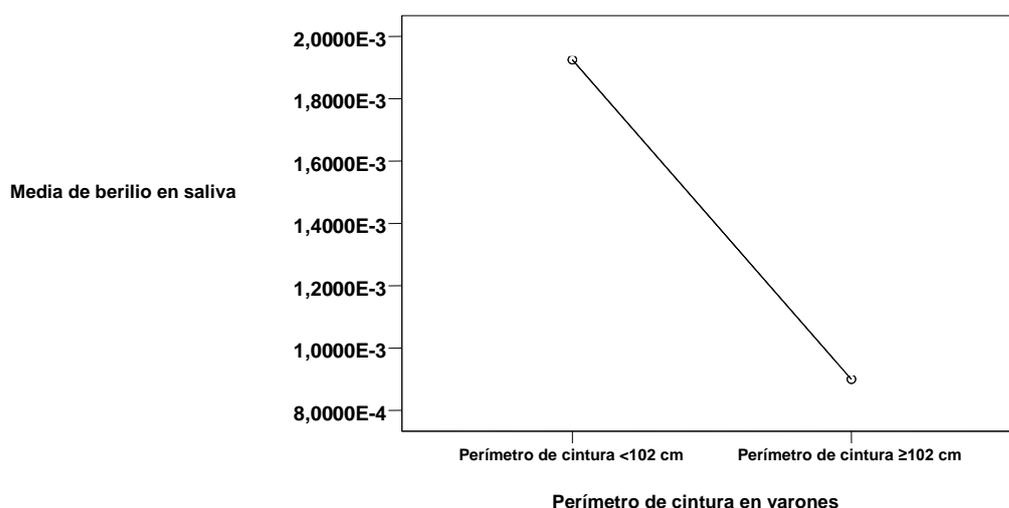
No se encontraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos y el perímetro de cintura en mujeres.

### Perímetro de cintura en varones.

Se analizaron los niveles de elementos traza en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en varones (<102 cm; ≥102 cm). Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de berilio en saliva fueron significativamente más elevados ( $p=0,012$ ) en el grupo de pacientes con un perímetro de cintura <102 cm con respecto al grupo de pacientes con un perímetro de cintura ≥102 cm, que fueron más bajos.

**Gráfico 4.21.:** Representación gráfica de los niveles de berilio salival en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en varones.



#### 4.3.4.3. VARIABLES DIABETOLÓGICAS Y DE PERFIL METABÓLICO.

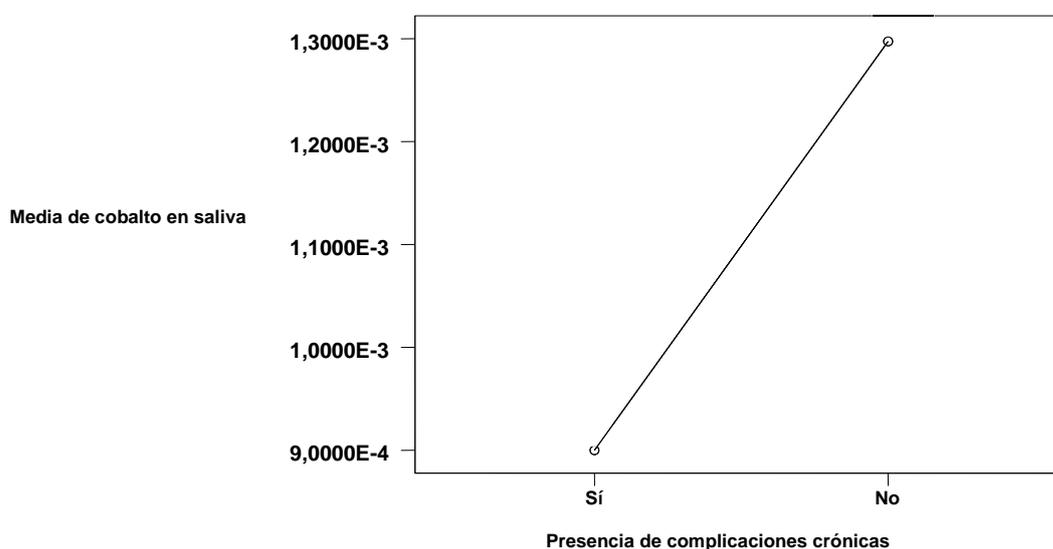
##### Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.

Fueron analizados los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la presencia o no de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a la presencia de complicaciones crónicas en el grupo de casos en relación con los niveles de elementos traza en saliva.

Los niveles en saliva de cobalto fueron significativamente más bajos ( $p=0,048$ ) en el grupo de pacientes diabéticos que presentaban complicaciones crónicas con respecto al grupo de los pacientes que no presentaban complicaciones crónicas, donde se objetivaron niveles más altos.

**Gráfico 4.22.:** Representación gráfica de los niveles de cobalto en saliva en relación con la presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.



### **Tratamiento antidiabético.**

#### Tratamiento dietético.

Fueron analizados los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el cumplimiento dietético en la diabetes. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

En los resultados no se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en cuanto al cumplimiento dietético y los niveles en saliva de elementos traza en el grupo de casos.

#### Tratamiento farmacológico.

Se analizaron los niveles de elementos traza en el grupo de casos en relación con el tratamiento antidiabético farmacológico. Esta variable fue dividida en dos niveles: pacientes con tratamiento insulínico y pacientes sin tratamiento insulínico.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) en los dos grupos de tratamiento en relación a los niveles de los elementos traza en saliva.

### **4.3.4.4. VARIABLES ODONTOLÓGICAS.**

#### **Frecuencia de xerostomía.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la frecuencia de xerostomía (baja, media y alta).

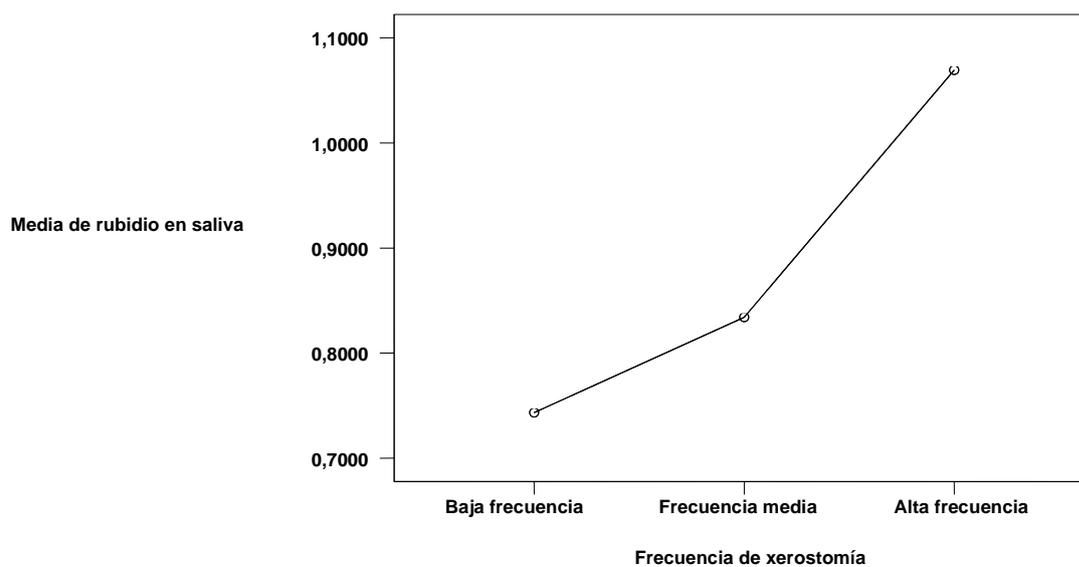
Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de rubidio y la frecuencia de xerostomía. Los niveles de rubidio fueron significativamente mayores ( $p=0,013$ ) en el grupo de alta frecuencia de xerostomía con respecto al grupo de individuos con una frecuencia baja de xerostomía.

No se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los niveles de rubidio en saliva entre el grupo de alta frecuencia de xerostomía con respecto a media

frecuencia. Tampoco entre el grupo de baja frecuencia de xerostomía con el de media frecuencia.

**Gráfico 4.23.:** Representación gráfica de los niveles de rubidio en saliva en relación con la frecuencia de xerostomía en el grupo de casos.



#### 4.3.4.5. VARIABLES DE LABORATORIO.

##### Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.

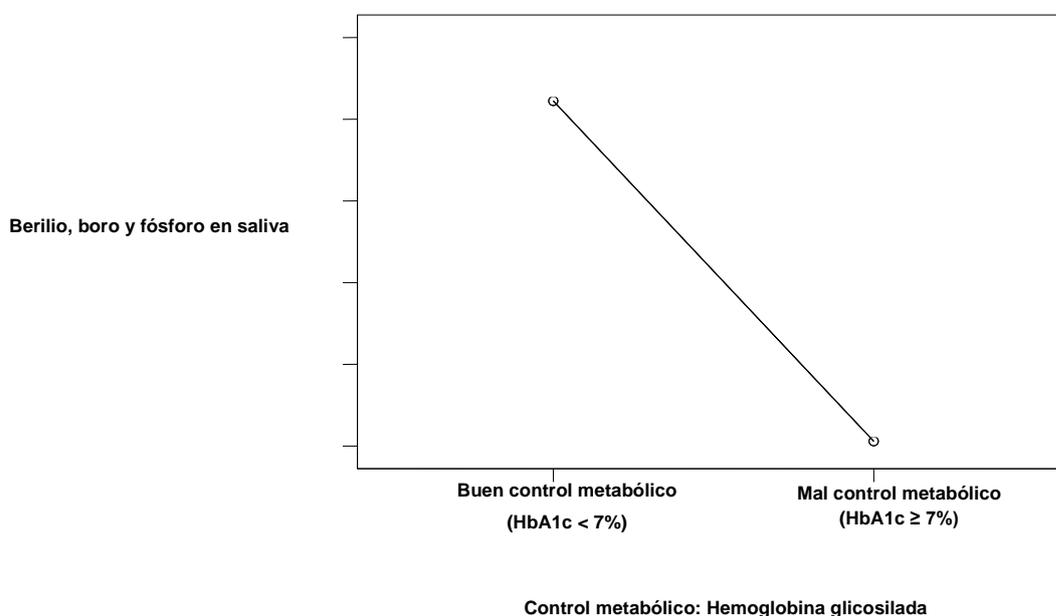
Se analizaron los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el las cifras de hemoglobina glicosilada venosa.

La variable “control metabólico” se codificó en dos niveles: buen control metabólico (cifras de HbA1c <7%) y mal control metabólico (cifras de HbA1c ≥7%).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de berilio ( $p=0,038$ ), boro ( $p=0,023$ ) y fósforo ( $p=0,046$ ) en saliva y el control metabólico medido a través de las cifras de hemoglobina glicosilada. Los citados elementos traza fueron significativamente más bajos en los individuos con cifras de HbA1c ≥7% en relación con los individuos con cifras de HbA1c <7%, que presentaron niveles más altos.

**Gráfico 4.24.:** Representación gráfica de los niveles de berilio, boro y fósforo en saliva en relación con el control metabólico, medido a través de las cifras de HbA1c.



#### 4.3.5. ELEMENTOS TRAZA EN PLASMA EN EL GRUPO DE CASOS.

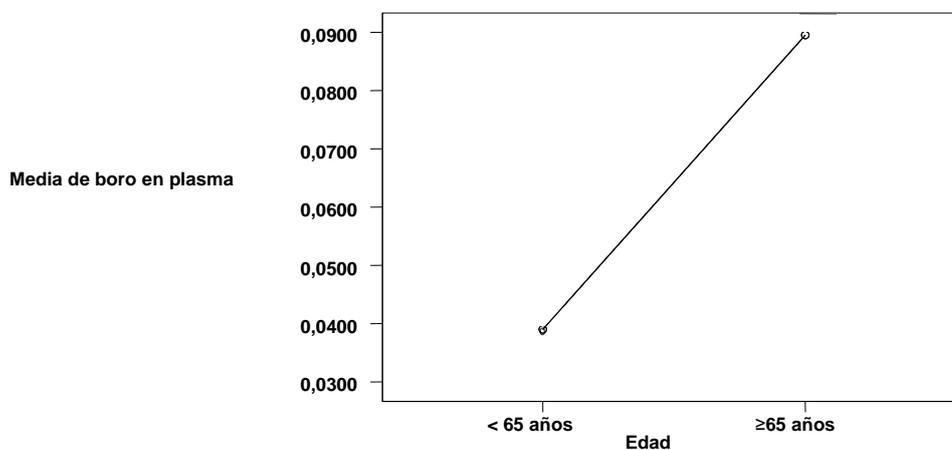
##### 4.3.5.1. VARIABLES SOCIO-DEMOGRÁFICAS.

##### Edad.

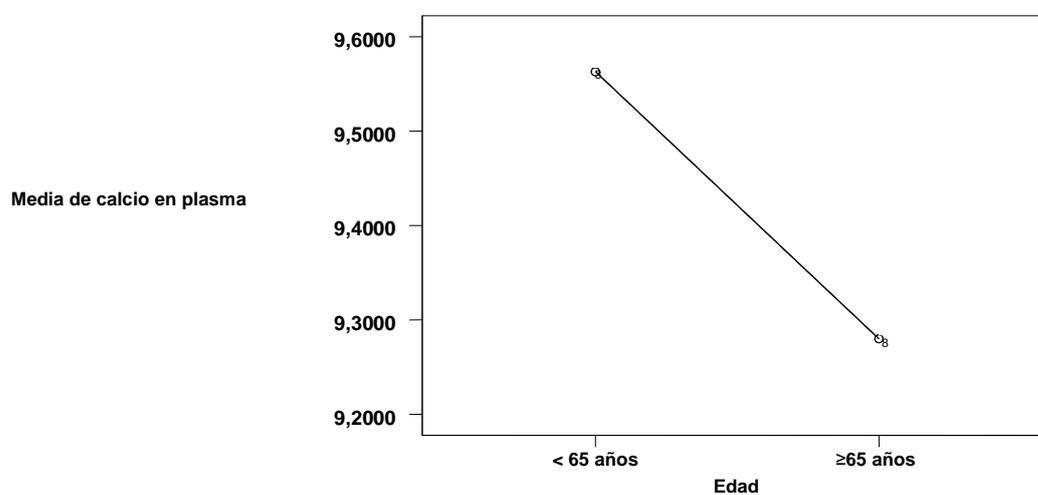
Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con la edad (<65 años; ≥65 años). Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de boro en plasma fueron significativamente más bajos ( $p=0,020$ ) en el grupo de <65 años con el respecto al grupo de ≥65 años. Por otro lado, los niveles de calcio plasmático fueron significativamente mayores ( $p=0,025$ ) en <65 años con el respecto al grupo de ≥65 años.

**Gráfico 4.25.:** Representación gráfica de los niveles de boro en plasma en relación con la edad en el grupo de casos.



**Gráfico 4.26.:** Representación gráfica de los niveles de calcio en plasma en relación con la edad en el grupo de casos.



**Sexo.**

Se analizaron los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de casos en relación con el sexo de los individuos. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se encontraron niveles de plomo y zinc en plasma significativamente más altos en el grupo de los hombres con respecto al grupo de las mujeres, con una significación de  $p=0,020$  y  $p=0,041$  para plomo y zinc respectivamente.

Por otro lado, los niveles de cobre plasmático fueron significativamente más bajos ( $p=0,004$ ) en el grupo de hombres con respecto al grupo de mujeres.

**Consumo de tabaco.**

Se analizaron los elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el consumo de tabaco (no fumadores, fumadores y ex fumadores).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\text{Chi}^2$  de Kruskal-Wallis con un intervalo de confianza del 98,3%, controlando el riesgo.

Los niveles de litio ( $p=0,001$ ), selenio ( $p=0,032$ ) y zinc ( $p=0,049$ ) plasmáticos fueron significativamente más altos en el grupo de fumadores con el respecto al grupo de no fumadores. Además, los niveles de litio fueron más elevados en fumadores con respecto a ex fumadores.

Por otro lado, los niveles de cobre ( $p=0,012$ ) fueron significativamente más elevados en no fumadores frente a los ex fumadores. Sin embargo, los niveles de selenio fueron más bajos en no fumadores frente a ex fumadores.

**Consumo de alcohol.**

Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el consumo de alcohol (>11,5 g/día; 1,5-11,5 g/día; <1,5 g/día).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\text{Chi}^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

Se encontraron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de cromo ( $p=0,043$ ), vanadio ( $p=0,001$ ) y cobre ( $p=0,028$ ) en relación con el consumo de alcohol en el grupo de casos.

Los niveles de cromo y vanadio en plasma fueron significativamente mayores en el grupo con un consumo de alcohol entre 1,5 a 11,5 g/día en relación con el grupo con un consumo de alcohol <1,5 g/día. Además, los niveles de vanadio en plasma también fueron significativamente mayores en el grupo con un consumo >11,5 g/día de alcohol en relación con el grupo con un consumo entre 11,5 y 1,5 g/día y con respecto al grupo de un consumo <1,5 g/día.

Por otra parte, los niveles de cobre fueron significativamente menores en el grupo de consumo entre 11,5 y 1,5 g/día de alcohol con respecto al grupo de consumo <1,5 g/día.

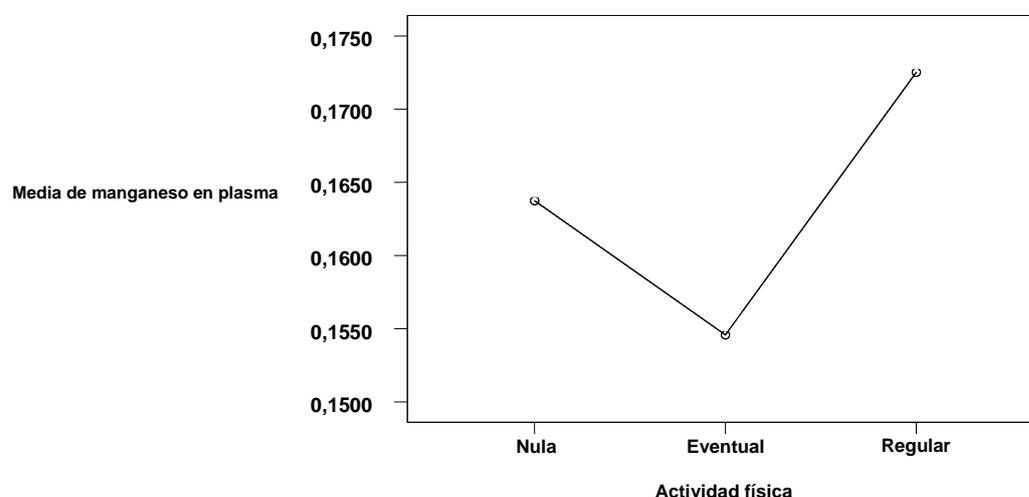
### Actividad física.

Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con la realización de ejercicio físico (nula actividad física, actividad física eventual y actividad física regular).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba  $\chi^2$  de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

Los niveles de manganeso fueron significativamente superiores ( $p=0,023$ ) en los pacientes que realizaban actividad física de forma regular en comparación con los pacientes que realizaban actividad física de forma eventual.

**Gráfico 4.27.:** Representación gráfica de los niveles de manganeso en plasma en el grupo de casos en relación con la actividad física.

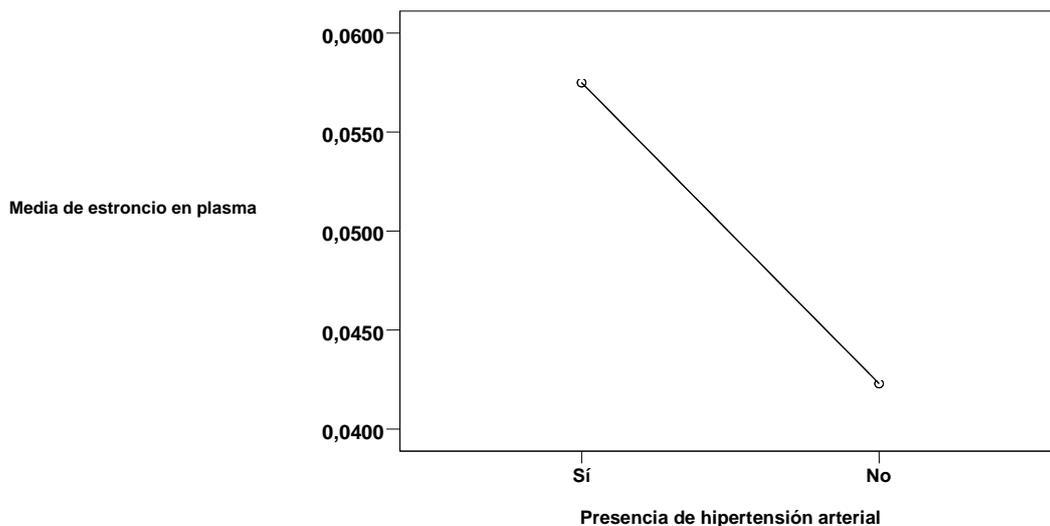


### Presencia de hipertensión arterial.

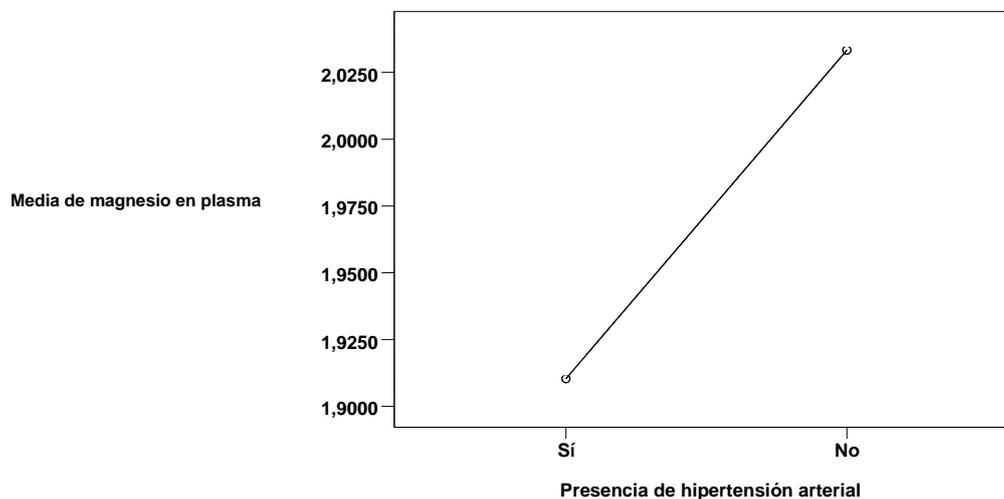
Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con la presencia o no de hipertensión arterial. Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de estroncio en plasma fueron significativamente más elevados ( $p=0,034$ ) en aquellos pacientes con hipertensión arterial frente aquellos sin hipertensión arterial. Mientras que los niveles de magnesio en plasma fueron significativamente más bajos ( $p=0,011$ ) en aquellos pacientes con hipertensión arterial frente aquellos sin hipertensión arterial.

**Gráfico 4.28.:** Representación gráfica de los niveles de estroncio en plasma en relación con la presencia de hipertensión arterial.



**Gráfico 4.29.:** Representación gráfica de los niveles de magnesio en plasma en relación con la presencia de hipertensión arterial.



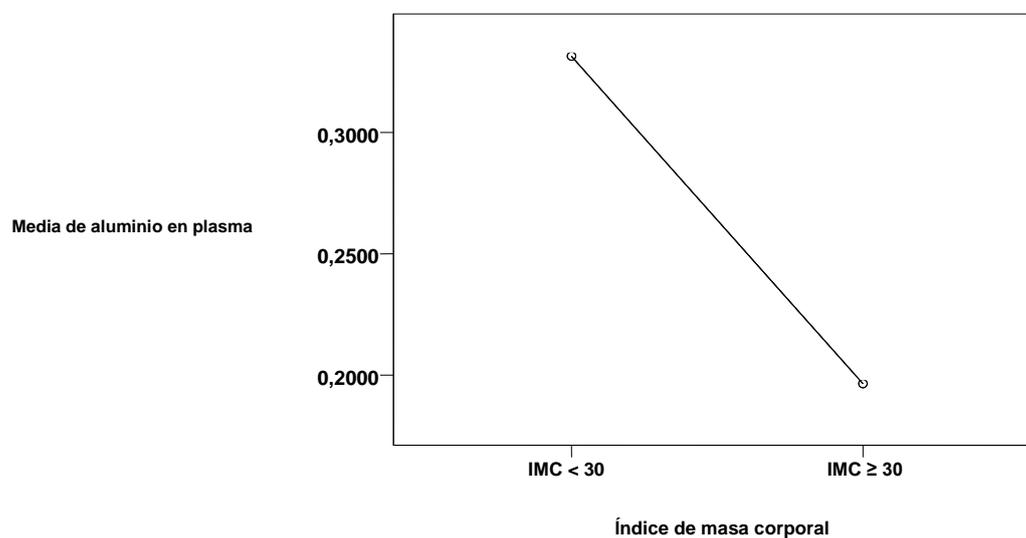
#### 4.3.5.2. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS.

##### Índice de masa corporal.

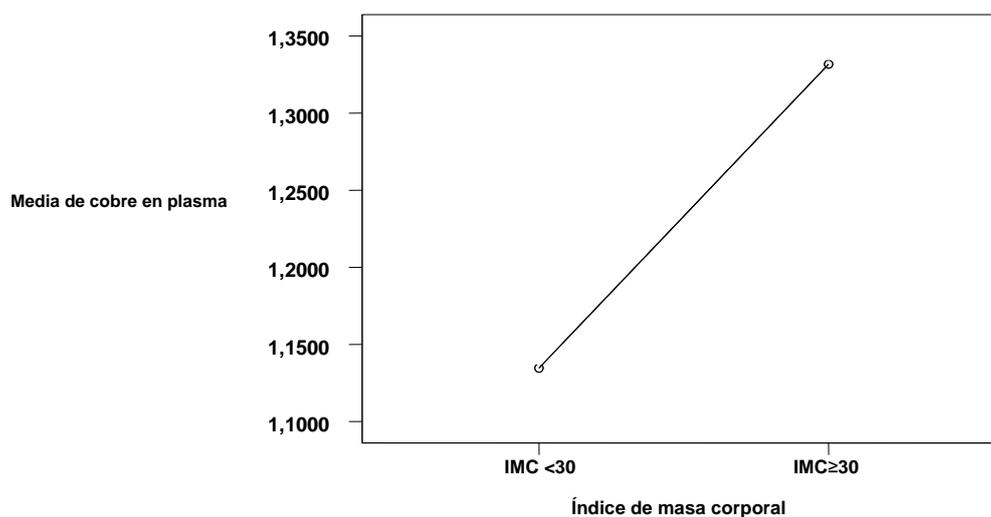
Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el índice de masa corporal ( $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ ;  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Para llevar a cabo dicho análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de aluminio en plasma fueron significativamente más elevados ( $p=0,012$ ) en el grupo con  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  con respecto al grupo con  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ . Por otra parte, se encontraron niveles de cobre significativamente más bajos ( $p=0,007$ ) en el grupo con  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  con respecto al grupo con  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

**Gráfico 4.30.:** Representación gráfica de los niveles de aluminio en plasma en relación con el índice de masa corporal en el grupo de casos.



**Gráfico 4.31.:** Representación gráfica de los niveles de cobre en plasma en relación con el índice de masa corporal en el grupo de casos.



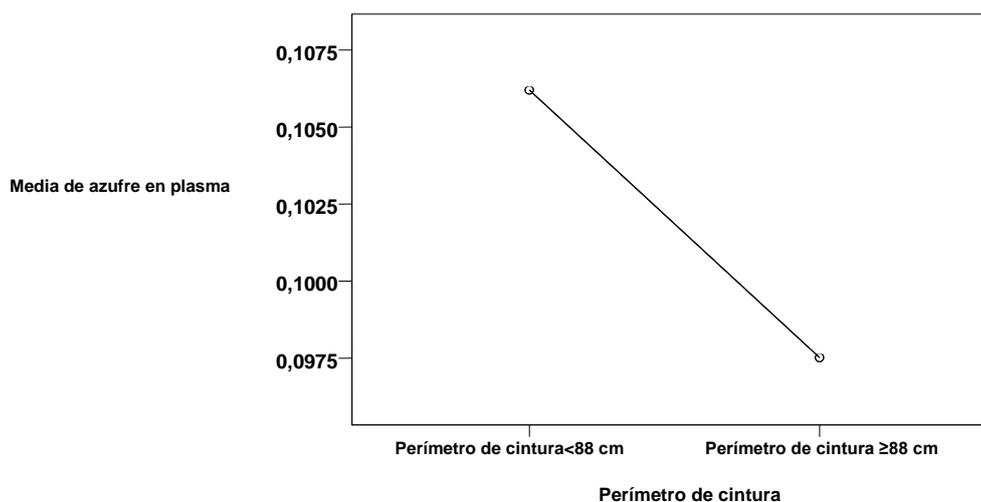
## Perímetro de cintura.

### Perímetro de cintura en mujeres.

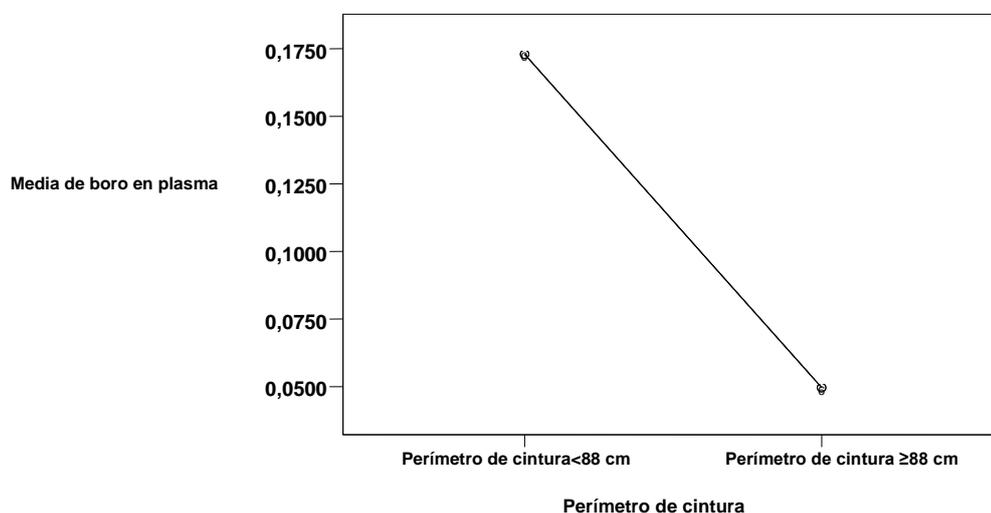
Se analizaron los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en mujeres (<88 cm; ≥88 cm). Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles plasmáticos de azufre, boro y vanadio fueron significativamente más elevados en las pacientes con un perímetro de cintura <88 cm con respecto a las pacientes con un perímetro de cintura ≥ 88 cm. La significación estadística encontrada fue en el azufre ( $p=0,045$ ), boro ( $p=0,048$ ) y vanadio ( $p=0,032$ ).

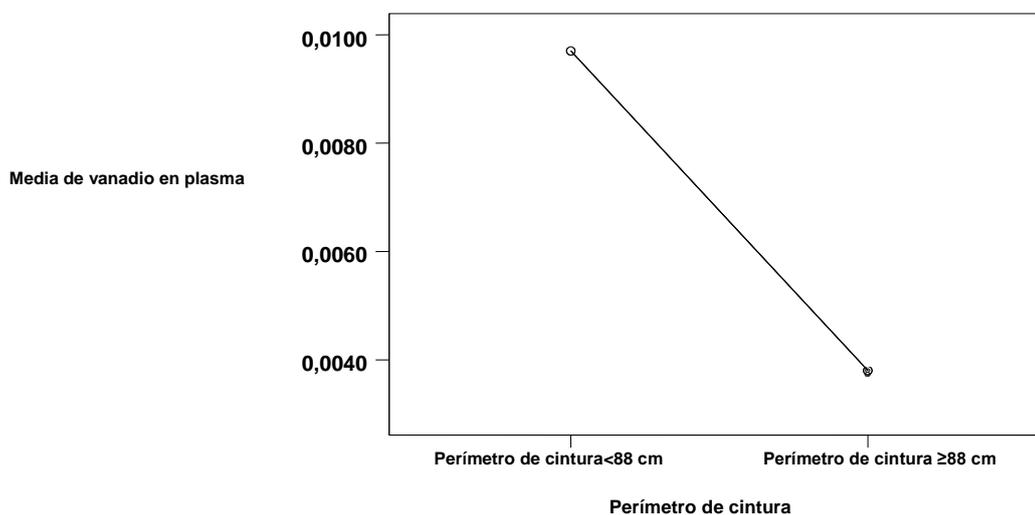
**Gráfico 4.32.:** Representación gráfica de los niveles de azufre en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en mujeres.



**Gráfico 4.33.:** Representación gráfica de los niveles de boro en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en mujeres.



**Gráfico 4.34.:** Representación gráfica de los niveles de vanadio en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en mujeres.

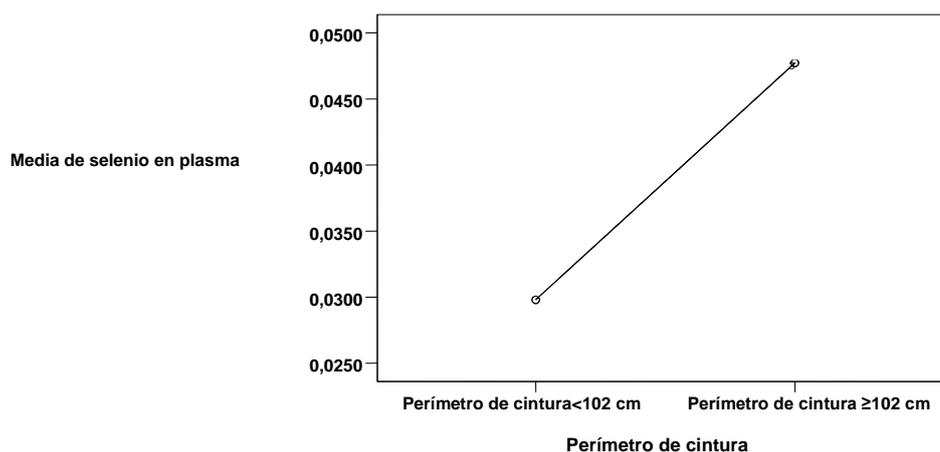


### Perímetro de cintura en varones.

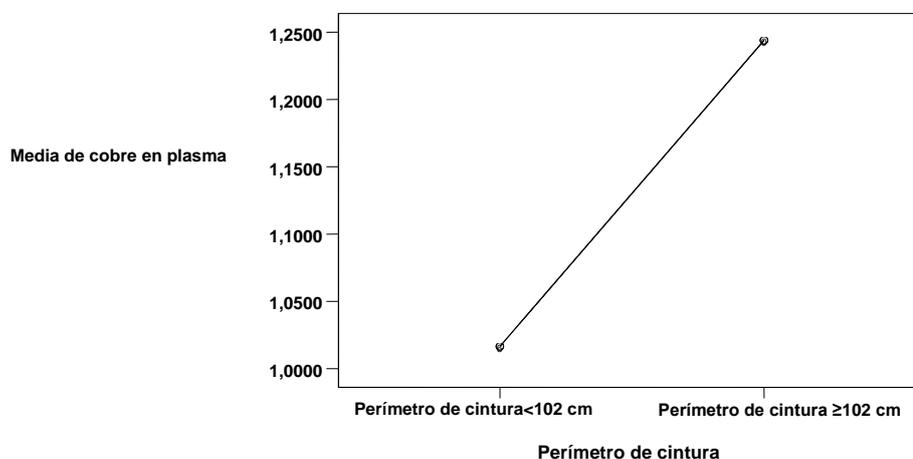
Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en varones (<102 cm; ≥102 cm). Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los niveles de selenio y cobre en plasma fueron significativamente más bajos en el grupo de pacientes con un perímetro de cintura <102 cm con respecto al grupo de pacientes con un perímetro de cintura ≥102 cm, que fueron más altos. La significación estadística tuvo un valor de  $p=0,035$  para el selenio y de  $p=0,013$  para el cobre.

**Gráfico 4.35.:** Representación gráfica de los niveles de selenio en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en varones.



**Gráfico 4.36.:** Representación gráfica de los niveles de cobre en plasma en el grupo de casos en relación con el perímetro de cintura en varones.



#### 4.3.5.3. VARIABLES DIABETOLÓGICAS Y DE PERFIL METABÓLICO.

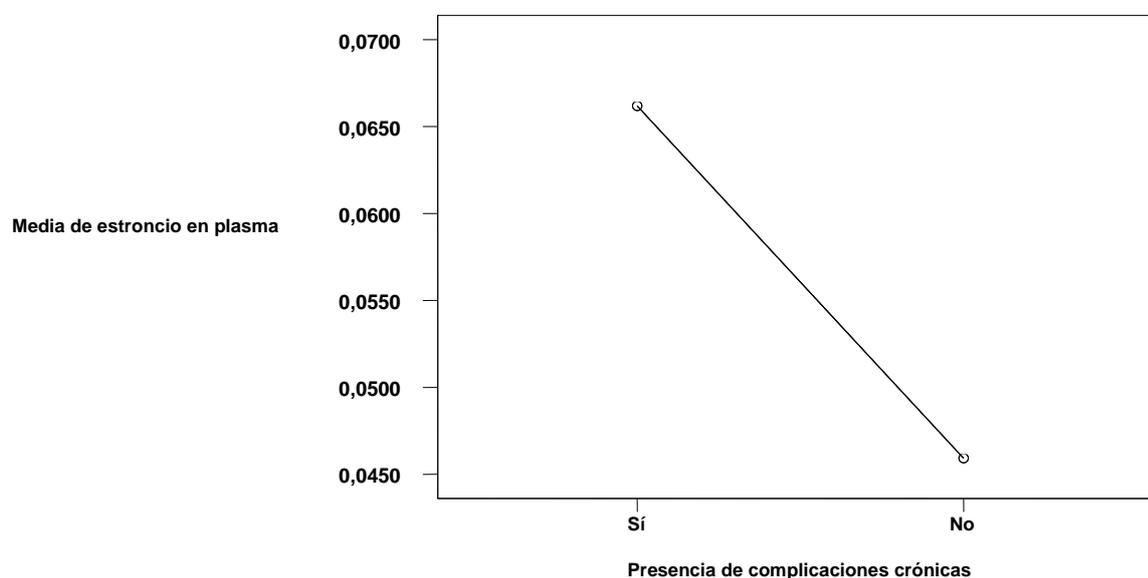
##### Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.

Fueron analizados los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de casos en relación con la presencia o no de complicaciones crónicas.

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney. Se observaron diferencias significativas en cuanto a la presencia de complicaciones crónicas en el grupo de casos en relación con los niveles de metales en plasma.

Los niveles en plasma de estroncio fueron significativamente más altos ( $p=0,001$ ) en el grupo de pacientes diabéticos que presentaban complicaciones crónicas con respecto al grupo de los pacientes que no presentaban complicaciones crónicas, donde se objetivaron niveles más bajos.

**Gráfico 4.37.:** Representación gráfica de los niveles de estroncio en plasma en relación con la presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.



#### **Tratamiento antidiabético.**

##### Tratamiento dietético.

Fueron analizados los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de casos en relación con el cumplimiento dietético en la diabetes. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

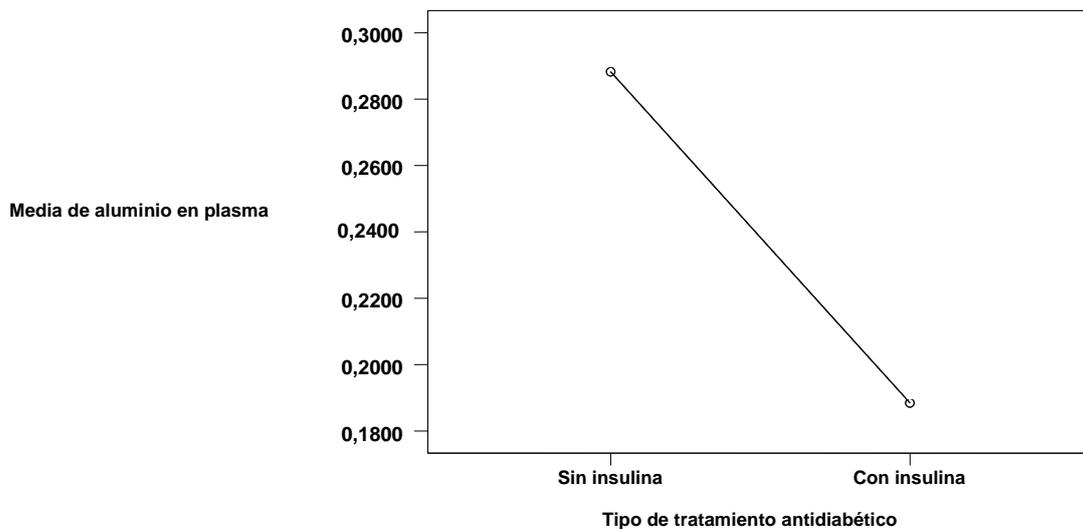
En los resultados no se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en cuanto al cumplimiento dietético y los niveles en plasma de elementos traza en el grupo de casos.

##### Tratamiento farmacológico.

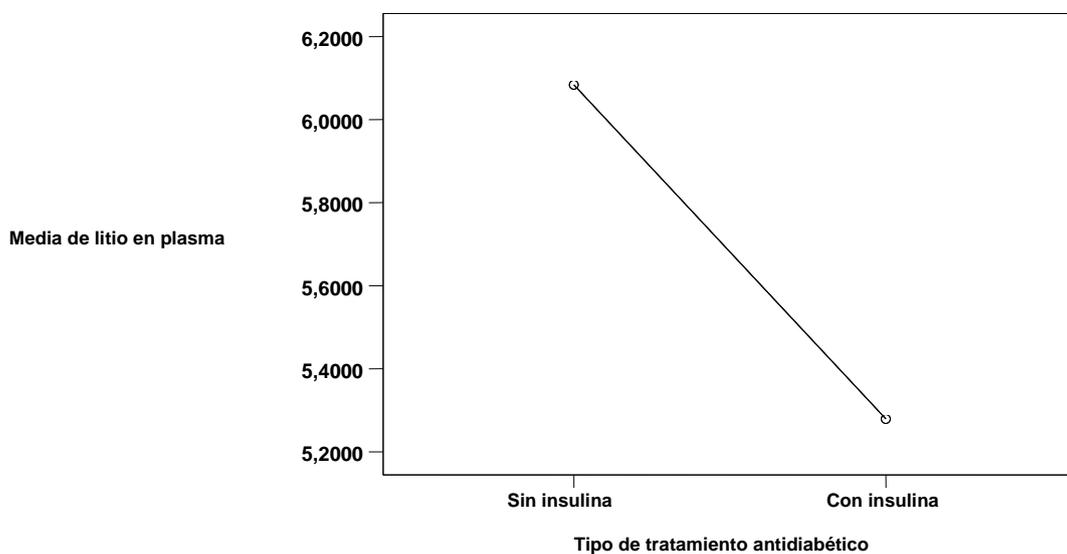
Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el tratamiento antidiabético farmacológico (con tratamiento insulínico y sin tratamiento insulínico). Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Los resultados obtenidos mostraron niveles de aluminio y litio en plasma significativamente más elevados en pacientes sin tratamiento insulínico con respecto a los pacientes con tratamiento insulínico. La significación estadística fue para el aluminio de  $p=0,036$ , mientras que para el litio fue de  $p=0,039$ .

**Gráfico 4.38.:** Representación gráfica de los niveles de aluminio en plasma en relación con el tratamiento antidiabético.



**Gráfico 4.39.:** Representación gráfica de los niveles de litio en plasma en relación con el tratamiento antidiabético.



#### 4.3.5.4. VARIABLES ODONTOLÓGICAS.

##### Frecuencia de xerostomía.

Se analizaron los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con la frecuencia de xerostomía (baja, media y alta).

Para el análisis estadístico se empleó la prueba Chi<sup>2</sup> de Kruskal-Wallis (IC 98.3%), controlando el riesgo.

No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en cuanto a los niveles de elementos traza en plasma y la frecuencia de xerostomía en el grupo de casos.

#### 4.3.5.5. VARIABLES DE LABORATORIO.

##### Determinaciones bioquímicas en plasma: Reactantes de fase aguda.

Los reactantes de fase aguda plasmáticos medidos en el grupo de pacientes fueron analizados en función de la división del grupo de casos en dos grupos de acuerdo con el control metabólico.

Para establecer la división entre buen o mal control metabólico se empleó el valor teórico como punto de corte de hemoglobina glicosilada (HbA1c) del 7%. Se dividieron en un grupo con buen control metabólico, con cifras de HbA1c <7% y otro grupo con mal control metabólico, con cifras de HbA1c ≥7%.

Las variables analíticas de reactantes de fase aguda fueron codificadas, dividiéndose cada una en dos niveles.

**Tabla 4.10.:** Codificación de los niveles de los reactantes de fase aguda en plasma. Puntos de corte.

Reactantes de fase aguda en plasma	Niveles
Albúmina	<3,2 ; ≥ 3,2 (g/dl)
Ferritina	< 291 ; ≥ 291 (ng/ml)
Proteína C reactiva	< 0,5 ; ≥ 0,5 (mg/dl)
Velocidad de sedimentación globular	< 25 ; ≥ 25 (mm/h)

Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney, mediante tablas de contingencia.

Los resultados no mostraron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los niveles de los distintos reactantes de fase aguda y el buen o mal control metabólico, medido a través de las cifras de HbA1c, en el grupo de casos.

#### **Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.**

Se analizaron los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de casos en relación con el las cifras de hemoglobina glicosilada venosa, considerando buen control metabólico (HbA1c <7%) y mal control metabólico (HbA1c  $\geq$ 7%).

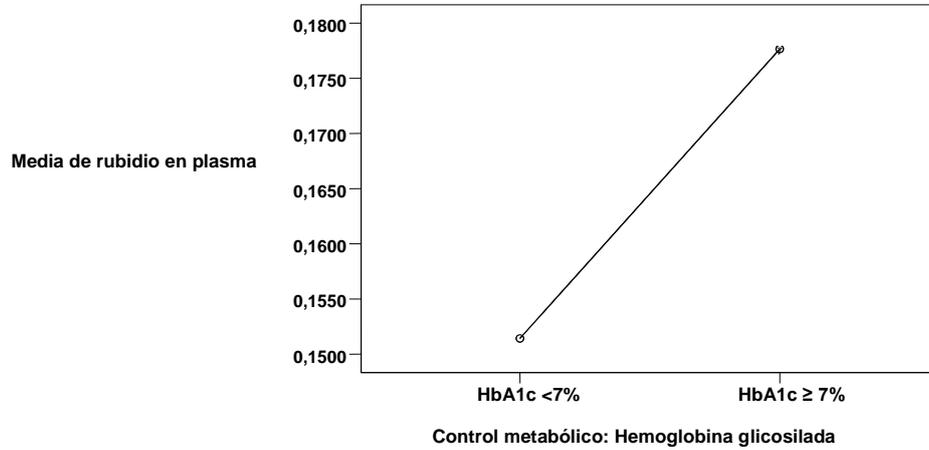
Para el análisis estadístico se empleó la prueba de Mann-Whitney.

Se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de rubidio ( $p=0,005$ ), titanio ( $p=0,016$ ) y zinc ( $p=0,013$ ) en plasma y el control metabólico medido a través de las cifras de hemoglobina glicosilada.

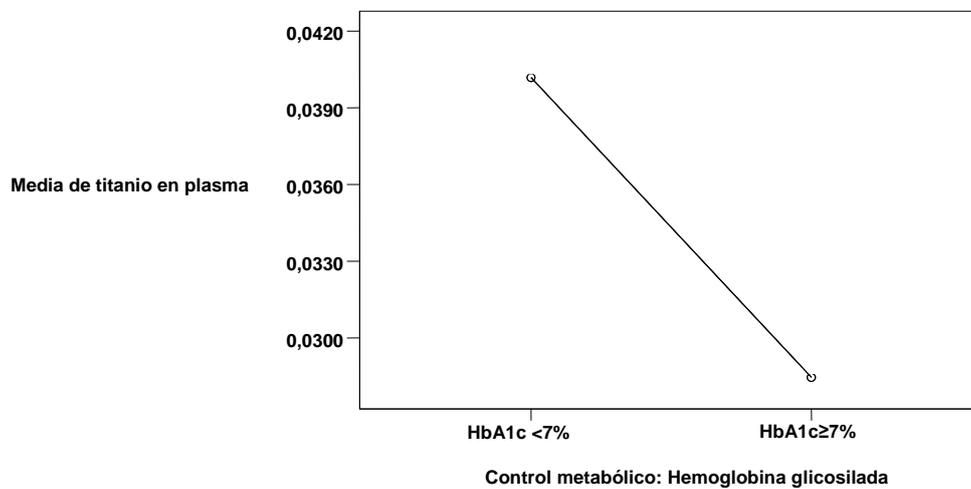
Los niveles de rubidio y zinc en plasma fueron significativamente más bajos en los individuos con cifras de HbA1c <7% en relación con los individuos con cifras de HbA1c  $\geq$ 7%, que presentaron niveles más altos.

Por otra parte, los niveles de titanio plasmáticos fueron significativamente más altos en los individuos con cifras de HbA1c <7% en relación con los individuos con cifras de HbA1c  $\geq$ 7%, que presentaron niveles más bajos.

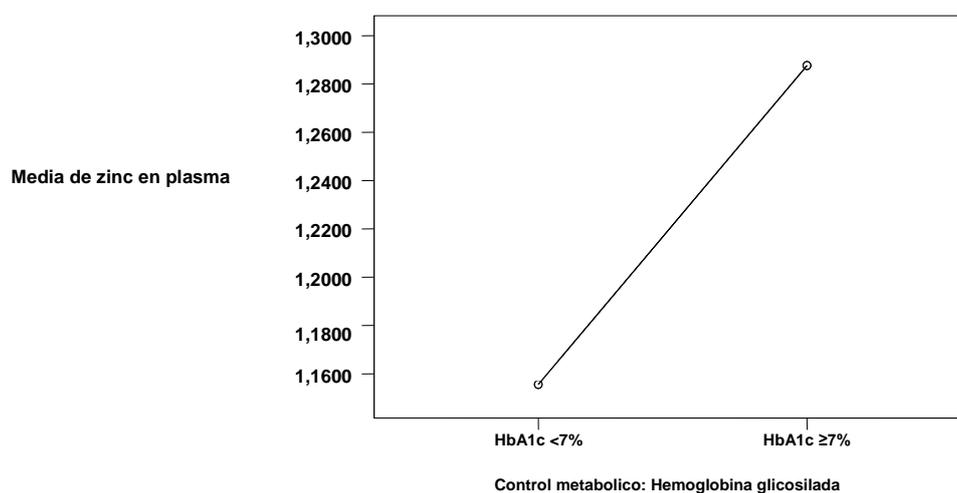
**Gráfico 4.40.:** Representación gráfica de los niveles de rubidio en plasma en relación con el control metabólico a través de la cifras de hemoglobina glicosilada.



**Gráfico 4.41.:** Representación gráfica de los niveles de titanio en plasma en relación con el control metabólico a través de la cifras de hemoglobina glicosilada.



**Gráfico 4.42.:** Representación gráfica de los niveles de zinc en plasma en relación con el control metabólico a través de la cifras de hemoglobina glicosilada.



#### 4.4. ESTUDIO DE REGRESIONES LOGÍSTICAS.

Los estudios de regresiones logísticas se llevaron a cabo sobre el grupo de casos (n=74) y sobre la muestra total (n=147).

Las variables dependientes empleadas fueron las siguientes (tabla 4.11.):

**Tabla 4.11.:** variables dependientes.



Las variables independientes empleadas fueron las siguientes agrupaciones de elementos traza tanto en saliva (tabla 4.12.), como en plasma (tabla 4.13.):

**Tabla 4.12.:** Variables independientes. Agrupaciones de metales en saliva.

<b>GRUPO 1 (saliva)</b>	Zinc, Cobre
<b>GRUPO 2 (saliva)</b>	Cromo, Magnesio, Hierro
<b>GRUPO 3 (saliva)</b>	Calcio, Manganeso, Plomo, Aluminio
<b>GRUPO 4 (saliva)</b>	Fosfato, Cobalto, Níquel, Azufre
<b>GRUPO 5 (saliva)</b>	Boro, Berilio, Litio, Estroncio
<b>GRUPO 6 (saliva)</b>	Titanio, Vanadio, Rubidio

**Tabla 4.13.:** Variables independientes. Agrupaciones de metales en plasma.

<b>GRUPO 1 (plasma)</b>	Zinc, Cobre
<b>GRUPO 2 (plasma)</b>	Cromo, Magnesio
<b>GRUPO 3 (plasma)</b>	Calcio, Manganeso, Plomo, Aluminio
<b>GRUPO 4 (plasma)</b>	Fosfato, Cobalto, Níquel, Azufre
<b>GRUPO 5 (plasma)</b>	Boro, Berilio, Litio, Estroncio
<b>GRUPO 6 (plasma)</b>	Titanio, Vanadio, Rubidio

#### **4.4.1. REGRESIONES LOGÍSTICAS EN EL GRUPO DE CASOS.**

##### **4.4.1.1. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA.**

###### **Índice de masa corporal.**

No se encontraron modelos explicativos del índice de masa corporal en dos niveles ( $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$  e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

###### **Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.**

No se encontraron modelos explicativos de las cifras de hemoglobina glicosilada en dos niveles ( $HbA1c < 7\%$ ;  $HbA1c \geq 7\%$ ) en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

###### **Presencia de síndrome metabólico.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no del síndrome metabólico en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

###### **Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

**Perímetro de cintura.**Varones

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles (PC <102 cm; PC ≥102 cm) en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

Mujeres

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles (PC <88 cm; PC ≥88 cm) en función de los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

**4.4.1.2. ELEMENTOS TRAZA EN PLASMA.****Índice de masa corporal.**

No se encontraron modelos explicativos del índice de masa corporal en dos niveles (IMC <30 kg/m<sup>2</sup> e IMC ≥30kg/m<sup>2</sup>) en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

**Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.**

No se encontraron modelos explicativos de las cifras de hemoglobina glicosilada en dos niveles (HbA1c <7%; HbA1c ≥7%) en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

**Presencia de síndrome metabólico.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no del síndrome metabólico en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

**Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

### **Perímetro de cintura.**

#### Varones

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles (PC <102 cm; PC  $\geq$ 102 cm) en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

#### Mujeres

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles (PC <88 cm; PC  $\geq$ 88 cm) en función de los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

## **4.4.2. REGRESIONES LOGÍSTICAS EN EL TOTAL DE LA MUESTRA.**

### **4.4.2.1. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA.**

#### **Índice de masa corporal.**

No se encontraron modelos explicativos del índice de masa corporal en dos niveles (IMC <30 kg/m<sup>2</sup> e IMC  $\geq$ 30 kg/m<sup>2</sup>) en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

#### **Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.**

No se encontraron modelos explicativos de las cifras de hemoglobina glicosilada en dos niveles (HbA1c <7%; HbA1c  $\geq$ 7%) en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

#### **Presencia de síndrome metabólico.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no del síndrome metabólico en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

#### **Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

**Perímetro de cintura.**

Mujeres

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles (PC <88 cm; PC ≥88 cm) en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

Varones

**Magnesio en saliva**

Se encontró un modelo explicativo del perímetro de cintura en dos niveles (PC <102 cm; PC ≥102 cm) en función del magnesio en saliva medido en los varones del total de la muestra.

El modelo presentó una constante con una p valor = 0,003. En dicho modelo, el magnesio presentó una p valor = 0,003.

**Tabla 4.14.:** Variables en la ecuación del perímetro de cintura en varones en función del grupo 2 de elementos traza en saliva (cromo, magnesio y hierro) con toda la muestra.

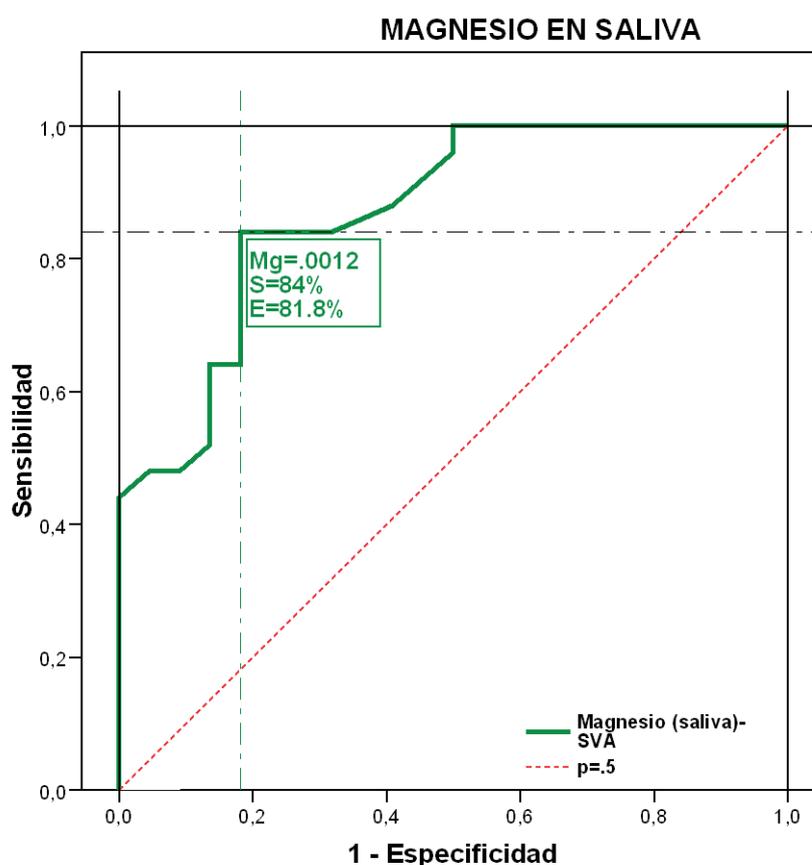
		Variables en la ecuación						I.C. 95,0% para EXP(B)	
		B	E. T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Paso 1	cromo_salivaSVA	-89,269	61,255	2,124	1	,145	,000	,000	23506688071175,740
	magnesio_salivaSVA	2400,608	797,957	9,051	1	,003	.	.	.
	hierro_salivaSVA	1,199	,904	1,757	1	,185	3,315	,563	19,510
	Constante	-2,742	,917	8,935	1	,003	,064		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: cromo\_salivaSVA, magnesio\_salivaSVA, hierro\_salivaSVA.

Columna B: coeficientes; Columna E.T.: errores estándar.

Se generaron curvas ROC del modelo explicativo del perímetro de cintura a partir del magnesio en saliva.

**Tabla 4.15.:** Curva ROC del perímetro de cintura en varones en función del magnesio en saliva con toda la muestra.



**Tabla 4.16.:** Área bajo la curva de la curva ROC del perímetro de cintura en varones en función del magnesio en saliva con toda la muestra.

**Área bajo la curva**

Variables resultado de contraste	Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Magnesio (saliva)-SVA	<b>,871</b>	,050	<b>,000</b>	,772	,970

La variable (o variables) de resultado de contraste: Magnesio (saliva)-SVA tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

- a. Bajo el supuesto no paramétrico
- b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Se determinó que los valores mayores a la variable de resultado de contraste elegida, 0,0012 (g/100g), indican una mayor evidencia de un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm.

La sensibilidad del modelo para clasificar correctamente a individuos varones con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm en varones a partir de los niveles de magnesio en saliva fue de un 84%.

Por otra parte, la especificidad del modelo para clasificar correctamente a individuos con un perímetro de cintura  $< 102$  cm en varones a partir de los niveles de magnesio en saliva fue de un 81,8%.

Se concluye, que el magnesio en saliva tiene capacidad para diferenciar personas con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm de personas con un perímetro de cintura  $< 102$  cm de manera no aleatoria, entre el colectivo de los varones.

### **Grupo de casos.**

Fueron encontrados cuatro modelos explicativos para diferenciar grupo de casos del grupo control en función de los elementos traza en saliva en el total de la muestra.

### ***Zinc en saliva.***

Se encontró un modelo explicativo para diferenciar individuos de todo el colectivo entre pertenecientes o no al grupo de casos en función del zinc en saliva medido en el total de la muestra.

El modelo presentó una constante con una  $p$  valor  $< 0,001$ . En dicho modelo, el zinc presentó una  $p$  valor  $< 0,001$ .

**Tabla 4.17.:** Variables en la ecuación de la variable dependiente “grupo de casos” en función del grupo 1 de elementos traza en saliva (zinc y cobre) con toda la muestra.

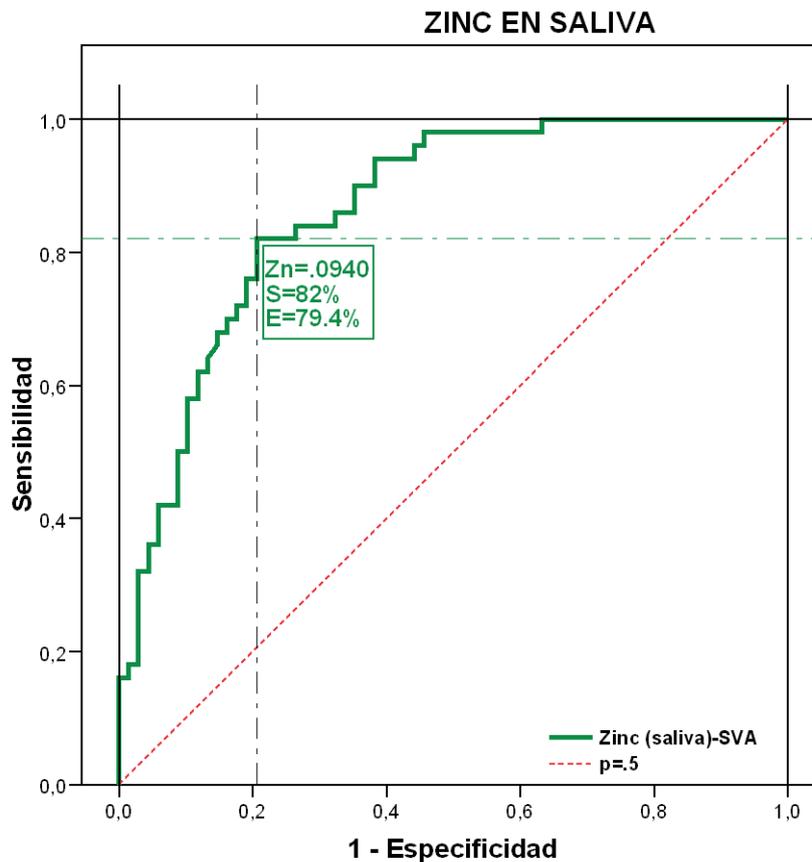
		Variables en la ecuación						I.C. 95,0% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Paso 1	zinc_salivaSVA	-18,319	4,122	19,754	1	,000	,000	,000	,000
	cobre_salivaSVA	-5,387	10,527	,262	1	,609	,005	,000	4173600,138
	Constante	2,545	,482	27,879	1	,000	12,749		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1 : zinc\_salivaSVA, cobre\_salivaSVA

Columna B: coeficientes; Columna E.T.: errores estándar.

Se generaron curvas ROC del modelo explicativo de la pertenencia o no al grupo de casos a partir del zinc en saliva.

**Tabla 4.18.:** Curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del zinc en saliva con toda la muestra.



**Tabla 4.19.:** Área bajo la curva de la curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del zinc en saliva con toda la muestra.

**Área bajo la curva**

Variables resultado de contraste	Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Zinc (saliva)-SVA	<b>,863</b>	,033	<b>,000</b>	,799	,928

La variable (o variables) de resultado de contraste: Zinc (saliva)-SVA tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

a. Bajo el supuesto no paramétrico

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Se determinó que los valores mayores a la variable de resultado de contraste elegida, 0,0940 (mg/Kg), indican una mayor evidencia de pertenecer al grupo de casos.

La sensibilidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de zinc en saliva fue de un 82%.

Por otra parte, la especificidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como no pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de zinc en saliva fue de un 79,4%.

Se concluye, que el zinc en saliva tiene capacidad para diferenciar personas enfermas de sanas de manera no aleatoria, entre todo el colectivo.

### ***Magnesio en saliva.***

Se encontró un modelo explicativo para diferenciar individuos de todo el colectivo entre pertenecientes o no al grupo de casos en función del magnesio en saliva medido en el total de la muestra.

El modelo presentó una constante con una  $p$  valor  $< 0,001$ . En dicho modelo, el magnesio presentó una  $p$  valor  $< 0,001$ .

**Tabla 4.20.:** Variables en la ecuación de la variable dependiente “grupo de casos” en función del grupo 2 de elementos traza en saliva (cromo, magnesio y hierro) con toda la muestra.

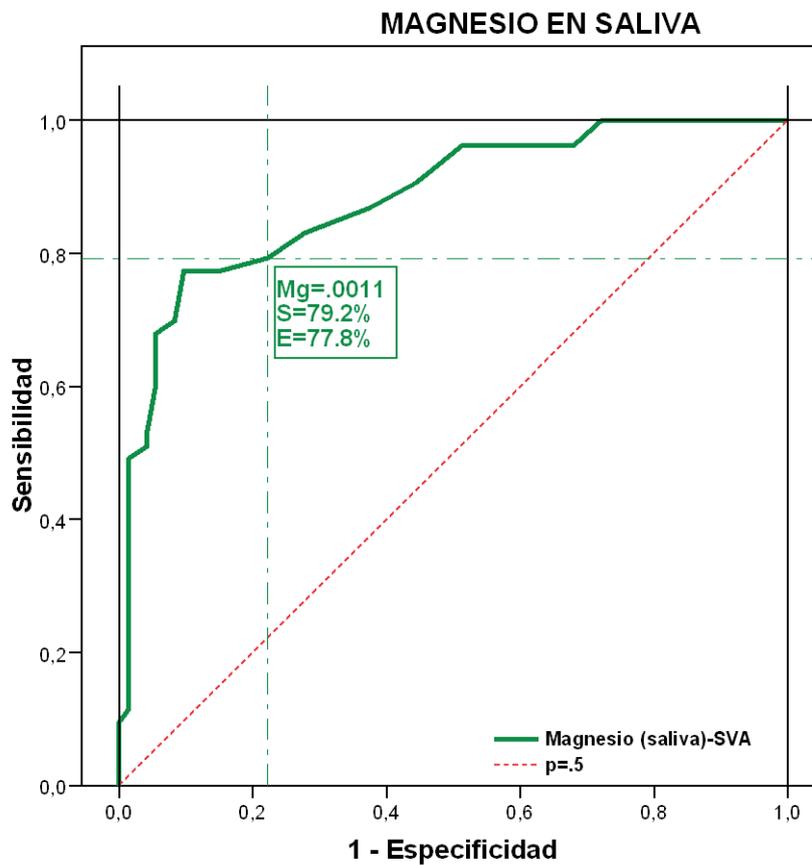
		Variables en la ecuación						I.C. 95,0% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Paso 1	cromo_salivaSVA	-12,390	19,596	,400	1	,527	,000	,000	199212399945,704
	magnesio_salivaSVA	-2049,417	427,903	22,939	1	,000	,000	,000	,000
	hierro_salivaSVA	-,594	,601	,977	1	,323	,552	,170	1,793
	Constante	3,229	,574	31,674	1	,000	25,252		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: cromo\_salivaSVA, magnesio\_salivaSVA, hierro\_salivaSVA.

Columna B: coeficientes; Columna E.T.: errores estándar.

Se generaron curvas ROC del modelo explicativo de la pertenencia o no al grupo de casos a partir del magnesio en saliva.

**Tabla 4.21.:** Curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del magnesio en saliva con toda la muestra.



**Tabla 4.22.:** Área bajo la curva de la curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del magnesio en saliva con toda la muestra.

**Área bajo la curva**

Variables resultado de contraste	Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Magnesio (saliva)-SVA	<b>,883</b>	,031	<b>,000</b>	,823	,943

La variable (o variables) de resultado de contraste: Magnesio (saliva)-SVA tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

a. Bajo el supuesto no paramétrico

b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Se determinó que los valores mayores a la variable de resultado de contraste elegida, 0,0011 (g/100g), indican una mayor evidencia de pertenecer al grupo de casos.

La sensibilidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de magnesio en saliva fue de un 79,2%.

Por otra parte, la especificidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como no pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de magnesio en saliva fue de un 77,8%.

Se concluye, que el magnesio en saliva tiene capacidad para diferenciar personas enfermas de sanas de manera no aleatoria, entre todo el colectivo.

### ***Plomo y calcio en saliva.***

Se encontró un modelo explicativo para diferenciar individuos de todo el colectivo entre pertenecientes o no al grupo de casos en función del plomo y calcio en saliva medido en el total de la muestra.

El modelo presentó una constante con una  $p$  valor  $< 0,001$ . En dicho modelo, el plomo presentó una  $p$  valor  $< 0,001$ , mientras que el calcio presentó una  $p$  valor  $= 0,013$ .

**Tabla 4.23.:** Variables en la ecuación de la variable dependiente “grupo de casos” en función del grupo 3 de elementos traza en saliva (calcio, manganeso, plomo y aluminio) con toda la muestra.

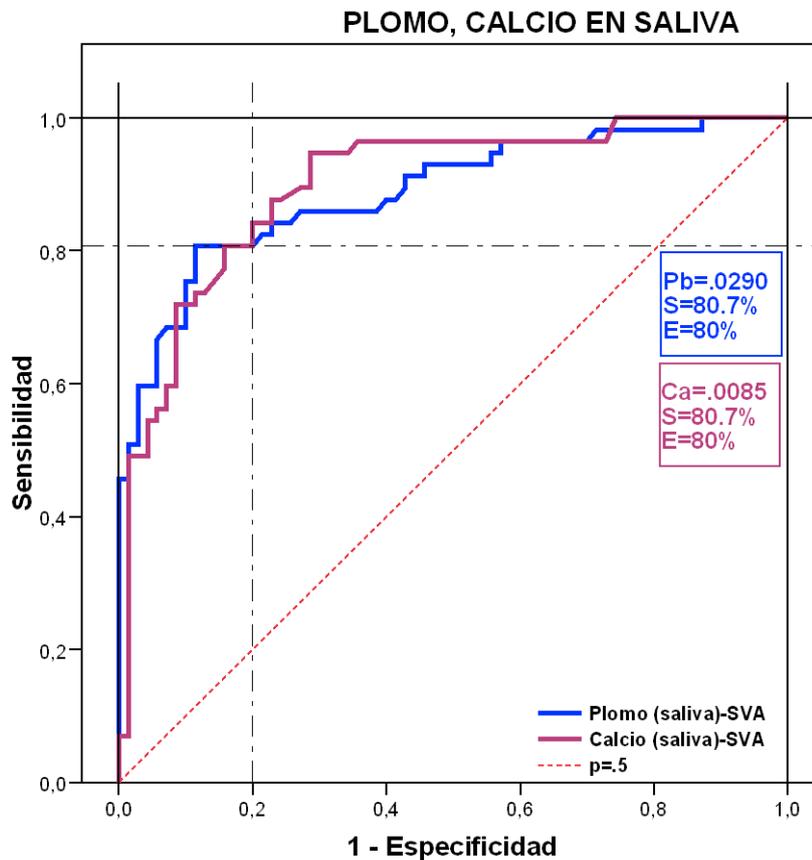
		Variables en la ecuación						I.C. 95,0% para EXP(B)	
		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	Inferior	Superior
Paso 1	calcio_salivaSVA	-243,633	97,855	6,199	1	,013	,000	,000	,000
	manganeso_salivaSVA	,516	2,876	,032	1	,858	1,674	,006	469,488
	plomo_salivaSVA	-87,418	25,064	12,165	1	,000	,000	,000	,000
	aluminio_salivaSVA	1,106	1,251	,782	1	,377	3,021	,260	35,052
	Constante	4,913	,858	32,761	1	,000	136,025		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: calcio\_salivaSVA, manganeso\_salivaSVA, plomo\_salivaSVA, aluminio\_salivaSVA.

Columna B: coeficientes; Columna E.T.: errores estándar.

Se generaron curvas ROC del modelo explicativo de la pertenencia o no al grupo de casos a partir del plomo y calcio en saliva.

**Tabla 4.24.:** Curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del plomo y calcio en saliva con toda la muestra.



**Tabla 4.25.:** Área bajo la curva de la curva ROC de la variable dependiente “grupo de casos” en función del plomo y calcio en saliva con toda la muestra.

Área bajo la curva

Variables resultado de contraste	Área	Error típ. <sup>a</sup>	Sig. asintótica <sup>b</sup>	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Plomo (saliva)-SVA	<b>,889</b>	,030	<b>,000</b>	,831	,947
Calcio (saliva)-SVA	<b>,899</b>	,028	<b>,000</b>	,844	,953

La variable (o variables) de resultado de contraste: Plomo (saliva)-SVA, Calcio (saliva)-SVA tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados.

- a. Bajo el supuesto no paramétrico  
b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Se determinó que los valores mayores a la variable de resultado de contraste elegida para el plomo, 0,0290 (g/100g), indican una mayor evidencia de pertenecer al grupo de casos.

La sensibilidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de plomo en saliva fue de un 80,7%.

Por otra parte, la especificidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como no pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de plomo en saliva fue de un 80%.

Se determinó que los valores mayores a la variable de resultado de contraste elegida para el calcio, 0,0085 (mg/Kg), indican una mayor evidencia de pertenecer al grupo de casos.

La sensibilidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de calcio en saliva fue de un 80,7%.

Por otra parte, la especificidad del modelo para clasificar correctamente a individuos como no pertenecientes al grupo de casos a partir de los niveles de calcio en saliva fue de un 80%.

Se concluye, que tanto el plomo como el calcio en saliva tienen capacidad para diferenciar personas enfermas de sanas de manera no aleatoria, entre todo el colectivo.

#### **4.4.2.2. ELEMENTOS TRAZA EN PLASMA.**

##### **Índice de masa corporal.**

No se encontraron modelos explicativos del índice de masa corporal en dos niveles ( $IMC < 30$  e  $IMC \geq 30$ ) en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

##### **Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.**

No se encontraron modelos explicativos de las cifras de hemoglobina glicosilada en dos niveles ( $HbA1c < 7\%$ ;  $HbA1c \geq 7\%$ ) en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

##### **Presencia de síndrome metabólico.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no del síndrome metabólico en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

##### **Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.**

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

##### **Perímetro de cintura.**

###### Mujeres

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles ( $PC < 88$  cm;  $PC \geq 88$  cm) en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

###### Varones

No se encontraron modelos explicativos del perímetro de cintura en dos niveles ( $PC < 102$  cm;  $PC \geq 102$  cm) en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

**Grupo de casos.**

No se encontraron modelos explicativos para diferenciar grupo de casos del grupo control en función de los elementos traza en plasma en el total de la muestra.

**4.4.3. REGRESIONES LOGÍSTICAS EN GRUPO DE CASOS POR SEGMENTACIONES.****4.4.3.1. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA.****Segmentado por el índice de masa corporal.**Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.

Se dividió el grupo de casos en dos niveles según el IMC:  $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$ ;  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

No se encontraron modelos explicativos de las cifras de hemoglobina glicosilada, dividida en dos niveles ( $HbA1c < 7\%$ ;  $HbA1c \geq 7\%$ ), en función del índice de masa corporal y los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

**Segmentado por el valor de hemoglobina glicosilada.**Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.

Se dividió el grupo de casos en dos niveles según el valor de HbA1c:  $HbA1c < 7\%$ ;  $HbA1c \geq 7\%$ .

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función del índice de las cifras de hemoglobina glicosilada y los elementos traza en saliva en el grupo de casos.

**4.4.3.2. ELEMENTOS TRAZA EN PLASMA.****Segmentado por el índice de masa corporal**Control metabólico: Hemoglobina glicosilada.

No se encontraron modelos explicativos de la hemoglobina glicosilada, dividida en dos niveles ( $HbA1c < 7\%$ ;  $HbA1c \geq 7\%$ ), en función del índice de masa corporal y los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

**Segmentado por el valor de hemoglobina glicosilada.**Presencia de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes.

No se encontraron modelos explicativos de la presencia o no de complicaciones crónicas en función de las cifras de hemoglobina glicosilada (HbA1c <7%; HbA1c  $\geq$  7%) y los elementos traza en plasma en el grupo de casos.

## **5. DISCUSIÓN**



## 5. DISCUSIÓN.

### 5.1. CONTEXTO ACTUAL.

Los biomarcadores han ayudado a la comprensión de diferentes aspectos de las enfermedades tales como diagnóstico, tratamiento, prevención, progresión de enfermedades, seguimiento y respuesta terapéutica (**Strimbu K y cols., 2010; Arango SS., 2012**). Estos biomarcadores pueden ser de utilidad en patologías tan prevalentes en nuestro medio como la diabetes mellitus tipo 2.

Podemos encontrar biomarcadores asociados al estrés oxidativo relacionados con el síndrome metabólico, el riesgo cardiovascular y con la presencia de trastornos del metabolismo de los hidratos de carbono y diabetes mellitus.

Los biomarcadores pueden ser medidos en matrices biológicas diversas tales como plasma o saliva. De hecho, la saliva es considerada una alternativa no invasiva a la sangre para el diagnóstico de multitud de patologías (**Desai GS y cols., 2014; Tirado Amador LR y cols., 2015; Srinivasan M y cols., 2015; Zhang CZ y cols., 2016**). La determinación de biomarcadores en saliva permite realizar estudios poblacionales de forma sencilla y coste-efectiva (**Calatrava Oramas LA., 2014; Srinivasan M y cols., 2015**).

En referencia a biomarcadores y diabetes mellitus, se han realizado multitud de estudios que reflejan esta relación entre diabetes y elementos traza. Se postula que tanto el exceso como el defecto de estos metales puedan tener un papel importante en el desarrollo y evolución de la diabetes mellitus (**Walter RM y cols., 1991; Zheng Y y cols., 2008**).

Una de las limitaciones de la mayoría de los estudios realizados que relacionan elementos traza y diabetes radica en que están constituidos por una muestra limitada en cuanto al número de individuos incluidos. Tal es el caso de trabajos como el realizado por **Isbir T y cols., 1994**, sobre una muestra de 20 pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus. En el año **2001**, **Ekmekcioglu C y cols.** publicaron un estudio realizado sobre 53 pacientes diabéticos frente a 50 controles sanos.

Más recientemente, han sido publicados otros estudios, como el llevado a cabo por **Badran M y cols., 2016**, sobre una muestra de 40 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y con 36 individuos sanos como grupo control. Así mismo, en **2017**, **Simić A y cols.**, contó en su estudio con una muestra de 267 pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 y 609 controles sanos.

En nuestro estudio la muestra estaba formada por 74 individuos diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2, incluidos en el grupo de casos, y 73 individuos sanos incluidos en el grupo control. La muestra total de participantes estaba formada por 147 individuos. Se trata de una muestra más numerosa de la encontrada en la mayoría de los estudios precedentes. Este mayor tamaño muestral permite una mayor potencia a la hora del análisis estadístico.

A la hora de analizar los distintos elementos traza, la mayoría de estudios emplearon la espectrometría de masas como método para su determinación (**Basaki M y cols., 2012; Badran M y cols., 2016; Simić A y cols., 2017**).

En nuestro estudio también empleamos la espectrometría de masas para determinar los niveles de elementos traza en saliva y plasma. Se determinaron los niveles de elementos traza en saliva tanto en el grupo de casos (n=74) como en el grupo control (n=73), mientras que los niveles de elementos traza plasmáticos sólo se pudieron determinar en el grupo de casos, pues no se disponía de muestras de plasma del grupo control.

La gran parte de los estudios realizados a este respecto sobre pacientes con diabetes mellitus y grupo control midieron los elementos traza únicamente en plasma (**Isbir T y cols., 1994; Kimura K, 1996; Anderson RA y cols., 1997; Chausmer AB., 1998; Terrés-Martos C y cols., 1998; Zargar AH y cols., 1998; Ekmekcioglu C y cols., 2001; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009; Basaki M y cols., 2012; Badran M y cols., 2016; Yary T y cols., 2016; Simić A y cols., 2017**).

El número de estudios llevado a cabo sobre pacientes con diabetes mellitus y controles sanos en los que se determinaron los niveles de elementos traza en saliva son más limitados (**Shiraishi y cols., 1988; Mata AD y cols., 2004; Lasisi TJ y cols., 2012; Ladgotra A y cols., 2016**).

Los resultados obtenidos de los estudios que relacionan diabetes mellitus y elementos traza resultan en muchas ocasiones contradictorios, existiendo bastantes discrepancias en cuanto a cómo se sitúan los niveles de estos metales en los pacientes con diabetes con respecto a los individuos sin diabetes.

## 5.2. ELEMENTOS TRAZA EN PLASMA.

En lo que corresponde a nuestro estudio y a los resultados obtenidos en referencia a los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (n=74), se encontraron diferencias significativas en cuanto al control metabólico en este grupo de pacientes.

Los pacientes con mejor control metabólico (HbA1c <7%) presentaron niveles de rubidio ( $p=0,005$ ), y zinc ( $p=0,013$ ) en plasma significativamente más bajos que en los pacientes con mal control metabólico (HbA1c  $\geq 7\%$ ). Por otro lado, niveles significativamente más elevados de titanio ( $p=0,016$ ) en plasma se asociaron con un mejor control metabólico.

Estos hallazgos, que muestran diferencias significativas de los elementos traza en plasma en relación con el control metabólico, no concuerdan con los postulados de autores como **Ekmekcioglu C y cols., 2001**, en los que se defiende que las concentraciones de elementos traza no dependen del grado de control glucémico, determinado mediante las cifras de HbA1c, al correlacionarlo con los niveles plasmáticos de los elementos traza.

Este hecho puede explicarse por la complejidad existente en cuanto a la estandarización de cifras de hemoglobina glicosilada que definan lo que se considera un buen o mal control metabólico, dada la gran variabilidad de los contextos clínicos (**Hicks J y cols., 2007**). Elegir un punto de corte u otro como objetivo de control metabólico puede variar según el tipo de población estudiada, pues las guías clínicas tampoco ofrecen un consenso definitivo en cuanto al establecimiento de un punto de corte único en base a las cifras de hemoglobina glicosilada, ya que depende de muchos factores tales como la edad del paciente, la presencia o no de complicaciones crónicas, la tasa de hipoglucemias, la esperanza de vida y otras comorbilidades.

En nuestro estudio el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 tenía una edad media que oscilaba entre  $59,00 \pm 9,07$  años, con una media de años de evolución de la diabetes en torno a  $11,50 \pm 7,67$  años. Además, se trataba de una población con un índice de masa corporal medio entre  $35,98 \pm 6,89$  kg/m<sup>2</sup>, y un perímetro de cintura medio de  $117,14 \pm 14,55$  cm, dichas cifras hacen referencia a una obesidad de predominio abdominal que se asocia con un alto riesgo cardiovascular. Nuestro grupo de pacientes también presentaba otros factores de riesgo cardiovascular tales como una frecuencia de hipertensión arterial del 79,7% y tabaquismo (entre fumadores y ex fumadores) del 64,8%. A todos estos factores se

añadiría que un 41,9% ya presentaban complicaciones crónicas macro o microvasculares asociadas a la diabetes.

Todos estos aspectos convierten a nuestra muestra en una población diabética de edad media y con importantes factores de riesgo cardiovascular u enfermedad cardiovascular establecida, por lo que el objetivo de control metabólico se individualizó en base al tipo de población estudiada.

De acuerdo con guías de consenso consultadas respecto al objetivo terapéutico (*American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology y American Diabetes Association 2015*), se establece como control glucémico cifras de HbA1c <7%, procurando mantener cifras de HbA1c >6,5% en pacientes con enfermedades concomitantes graves y con riesgo de hipoglucemia. Estos límites en cuanto al control metabólico se basan en los estudios *ACCORD* (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes), *ADVANCE* (Action in Diabetes and Vascular Disease Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation) y *VADT* (Veterans Affairs Diabetes Trials), cuya conclusión se basaba en que un control metabólico estricto en pacientes de edad media con diabetes mellitus tipo 2 evolucionada y un alto riesgo vascular no reduce la mortalidad cardiovascular, sino que se asocia con un incremento de episodios hipoglucémicos graves, considerados como marcador de mortalidad cardiovascular y total en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Por todo ello, se eligió en nuestra muestra de pacientes el punto de corte entre buen y mal control metabólico en 7% de hemoglobina glicosilada.

La mayoría de estudios asocian niveles significativamente más bajos de zinc plasmático en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 comparados con controles sanos (**Walter RMy cols., 1991; Isbir T y cols., 1994; Kimura K, 1996; Chausmer AB., 1998; Terrés-Martos C y cols., 1998; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009; Basaki M y cols., 2012; Badran M y cols., 2016**). Este hecho puede estar relacionado con las alteraciones observadas en la secreción y en la acción de la insulina que se pueden relacionar con la disminución en las concentraciones del zinc en plasma. Esta relación entre insulina y zinc se debe a que el zinc actúa como cofactor de la insulina. Además, aproximadamente el 0.5% de la estructura hexamérica de la insulina cristalina está constituida por zinc. No obstante el mecanismo del zinc en relación al metabolismo de los hidratos de carbono no está del todo claro (**Kimura K, 1996; Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009**).

En nuestro estudio desconocemos las diferencias en cuanto a los niveles plasmáticos de zinc entre pacientes con diabetes e individuos sanos. No obstante, dentro del grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, el hecho de que los niveles de zinc plasmático sean significativamente más bajos en los individuos con buen control metabólico frente a los que presentan un mal control metabólico, podría tener relación con recibir o no tratamiento con insulina. En relación a esto, se analizaron en nuestro estudio los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con el tratamiento antidiabético, variable dividida en pacientes con tratamiento insulínico y pacientes sin tratamiento insulínico. Los resultados no aportaron diferencias significativas de los niveles de zinc plasmático en relación con el tratamiento insulínico, hecho que sí ocurrió con metales tales como el aluminio y el litio plasmáticos, que se asociaron con niveles significativamente más altos en el grupo de pacientes sin tratamiento con insulina.

Ante estos resultados obtenidos, la hipótesis de que el tratamiento con o sin insulina se relaciona con los niveles de zinc plasmático no parece plausible, pese a la relación entre dicho elemento traza y la insulina. Es esperable que existan otras variables implicadas no controladas en referencia a los resultados obtenidos, así como otras alternativas de puntos de inflexión como cifra de hemoglobina glicosilada diferenciadora entre buen o mal control metabólico, que serían un campo de interés para abordar en futuros estudios.

Tampoco se han encontrado referencias bibliográficas que apoyen los resultados referentes a los significativamente más bajos niveles de rubidio plasmático en individuos catalogados como buen control metabólico, así como niveles de titanio plasmático significativamente más altos en relación con un mejor control metabólico. Se precisarán de más estudios en esta dirección para explicar estos resultados.

Por otro lado, en referencia a los resultados obtenidos con respecto a los niveles de aluminio ( $p=0,036$ ) y litio ( $p=0,039$ ) en plasma significativamente más elevados en pacientes sin tratamiento insulínico con respecto a los que sí reciben tratamiento insulínico, no se encuentra una explicación al por qué de dichos hallazgos, por lo que también se abre un camino a futuras investigaciones.

En relación a los niveles de zinc plasmático al comparar un grupo de pacientes con diabetes mellitus frente a controles sanos, existen otras posturas que difieren a lo expresado anteriormente. Autores como **Zargar AH y cols.**, en el año **1998**, o más recientemente autores como **Simić A y cols.**, en **2017**, encontraron que los niveles de zinc plasmático eran similares en el grupo de pacientes con diabetes mellitus respecto a los individuos sin diabetes, no encontrándose diferencias significativas.

Otros autores observaron en sus estudios niveles de zinc en plasma significativamente más elevados en el grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 frente a individuos sin diabetes (**Anderson RA y cols.**, **1997**; **Yary T y cols.**, **2016**).

En lo referente a los elementos traza plasmáticos medidos en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y las complicaciones crónicas asociadas a la diabetes, ya sean macro o microvasculares, nuestro estudio reveló una significación estadística al realizar dicha correlación. Concretamente, se objetivó que los niveles en plasma de estroncio fueron significativamente más altos ( $p=0,001$ ) en el grupo de pacientes diabéticos que presentaban complicaciones crónicas con respecto al grupo de los pacientes que no presentaban dichas complicaciones. Se desconoce cuál puede ser el papel del estroncio en su relación con las complicaciones crónicas del paciente diabético y si podría convertirse en un biomarcador más a la hora de clasificar un paciente diabético como de alto riesgo de presentar complicaciones crónicas. A este respecto no se han encontrado referencias bibliográficas que corroboren este hallazgo, por lo que será preciso realizar más estudios controlados donde sería interesante concretar los tipos de complicaciones crónicas macro o microvasculares presentes, tales como cardiopatía isquémica, accidente cerebro vascular, arteriopatía periférica, pie diabético, nefropatía diabética o retinopatía diabética, entre otras.

Por otra parte, en nuestro estudio se relacionaron los niveles de elementos traza plasmáticos en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con variables relacionadas con el riesgo cardiovascular, habitualmente asociadas al paciente con diabetes mellitus, como la obesidad y el perímetro de cintura aumentado.

En referencia a la obesidad, se trata de una enfermedad metabólica crónica y de origen multifactorial que lleva consigo una alteración física y psíquica de la persona, que se asocia a patologías que limitan la esperanza de vida de quien la padece. La característica primordial que define a la obesidad es el exceso de grasa corporal (**Ravussin E y cols.**, **1992**). Se establece como obesidad sobrepasar el rango de

normalidad que se sitúa entre el 12-20% del peso corporal en hombres y el 20-30% en mujeres (**Bray GA y cols., 1998**). En la práctica diaria se emplea el índice de masa corporal (IMC) para determinar si un individuo es o no obeso. Existe un consenso a nivel internacional para considerar a una persona adulta (18-60 años) como obeso si su IMC es igual o superior a 30 kg/m<sup>2</sup>, tanto en hombres como en mujeres, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO).

En relación con la obesidad, los resultados de nuestro estudio mostraron una correlación entre elementos traza en plasma y la presencia o no de obesidad según el índice de masa corporal en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Los niveles de aluminio en plasma fueron significativamente más elevados ( $p=0,012$ ) en el grupo de no obesos (IMC <30 kg/m<sup>2</sup>) con respecto al grupo de obesos (IMC ≥30 kg/m<sup>2</sup>). Además, se encontraron niveles de cobre significativamente más bajos ( $p=0,007$ ) en el grupo de no obesos con respecto al grupo de obesos. Al comparar nuestros resultados con otros estudios previos, no encontramos una relación entre el aluminio plasmático relacionado con el índice de masa corporal en pacientes con diabetes. Sin embargo, sí encontramos referencias bibliográficas al cobre plasmático y su relación con los pacientes con diabetes en trabajos previos, tales como los presentados por **Anderson RA y cols.**, en el año **1997**, **Zargar AH y cols.**, en el año **1998** y, más recientemente, **Badran M y cols.**, en el año **2016**. En mencionados estudios, se encontraron niveles de cobre significativamente más elevados en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente a los individuos sin diabetes. Estos resultados podrían guardar relación con nuestros resultados respecto a niveles de cobre plasmáticos más elevados en el grupo de pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2, dada la alta prevalencia de obesidad observada en la población con diabetes mellitus tipo 2. De hecho, se ha constatado que el 80-95% de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 presentan obesidad (**Mafong D y cols., 2008**).

En relación con el perímetro abdominal, este parámetro es uno de los que mejor se correlaciona con la presencia de grasa abdominal, elemento central de la resistencia insulínica que caracteriza a la diabetes mellitus tipo 2. Este parámetro es básico para definir el síndrome metabólico y determinar el riesgo cardiovascular, de acuerdo con el *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III). Los valores de referencia para considerar un alto riesgo cardiovascular se establecen en un perímetro de cintura ≥ 102 cm para varones ≥ 88 cm para mujeres (**Grundy y cols., 2005**).

En referencia al perímetro de cintura, en nuestro estudio se dividió el grupo de pacientes diabéticos tipo 2 en mujeres y hombres.

En el grupo de mujeres, los resultados mostraron niveles significativamente más elevados de azufre ( $p=0,045$ ), boro ( $p=0,048$ ) y vanadio ( $p=0,032$ ) en pacientes con un perímetro de cintura  $<88$  cm con respecto al grupo de pacientes con un perímetro de cintura  $\geq 88$  cm, que fueron más bajos. Estos hallazgos no se reprodujeron en otros estudios, lo cual abre a la posibilidad de realizar más estudios donde estuvieran implicados estos elementos traza.

En el grupo de los varones, los resultados mostraron niveles de selenio ( $p=0,035$ ) y cobre ( $p=0,013$ ) en plasma significativamente más bajos en el grupo de pacientes con un perímetro de cintura  $<102$  cm con respecto al grupo de pacientes con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm, que fueron más altos. Los resultados obtenidos en relación con el incremento de cobre plasmático en pacientes diabéticos varones con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm pueden relacionarse con los obtenidos por diversos autores que relacionan un incremento en los niveles de cobre plasmático en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente a individuos sanos (**Walter RM y cols., 1991; Isbir T y cols., 1994; Anderson RA y cols., 1997; Zargar AH y cols., 1998; Rodríguez Flores C y cols., 2011; Badran M y cols., 2016**).

Estos resultados respecto al cobre plasmático contrastan con el hecho de que suele ser la deficiencia de cobre la que se ha asociado con un mayor estrés oxidativo, incremento de la inflamación, así como con anomalías en el metabolismo de la glucosa y el colesterol. Todas estas situaciones que caracterizan al paciente diagnosticado de diabetes mellitus tipo 2 y obesidad central (**Williams DM., 1983; Saari JT., 2000; Gómez García A y cols., 2003; Uriu-Adams JY y cols., 2005; Tirado Amador y cols., 2015**). A este respecto, otros autores como **Terrés-Martos C y cols.**, en el año **1998**, no encontraron diferencias significativas entre los niveles de cobre plasmático entre pacientes con y sin diabetes mellitus, resultados que coinciden con lo publicado más recientemente, en **2017**, por **Simić A y cols.**

Por otra parte, nuestros resultados en referencia al selenio plasmático, el cual parece incrementados en varones diabéticos tipo 2 con obesidad central (perímetro de cintura  $\geq 102$  cm) contradicen la mayoría delo publicado hasta ahora en otros trabajos. La mayoría de estudios previos asocian niveles significativamente bajos de selenio plasmático con pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 frente a controles sanos (**Anderson RA y cols., 1997; Ekmekcioglu C y cols., 2001; Badran M y cols.,**

**2016**). Sin embargo, nuestros resultados pueden relacionarse con los obtenidos recientemente por **Cancarini A y cols.**, en **2017**, que observa un incremento de los niveles de selenio plasmático en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 respecto a controles sanos. La discrepancia de nuestros resultados con la mayoría de los estudios publicados pudiera explicarse por el sesgo de selección de nuestra muestra, donde se seleccionaron sólo varones y con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm. Además, dicho grupo no se comparó con controles sanos sin diabetes.

Con respecto a las complicaciones crónicas asociadas a la diabetes mellitus, ya sean macro o microvasculares, en nuestro estudio se obtuvieron datos que mostraban un incremento significativo ( $p=0,001$ ) de los niveles en plasma de estroncio en el grupo de pacientes diabéticos que presentaban complicaciones crónicas con respecto al grupo de los pacientes que no presentaban complicaciones crónicas, donde se objetivaron niveles más bajos. Esta variación en los niveles de estroncio plasmático no coincide con los estudios previos que asocian la presencia de complicaciones crónicas de la diabetes con niveles elevados de cobre plasmático (**Walter RM y cols.**, 1991; **Rodríguez Flores C y cols.**, 2011) y molibdeno plasmático (**Rodríguez Flores C y cols.**, 2011).

En lo que respecta a la salud oral y la diabetes mellitus tipo 2, cabe destacar que existe una intensa relación entre enfermedades orales como la periodontitis y la diabetes mellitus. A este respecto, se ha descrito que en pacientes con casos de periodontitis más graves, la incidencia de diabetes mellitus es mayor, lo cual muestra la estrecha relación entre ambas enfermedades (**Ide R y cols.**, 2011). Además, se ha relacionado a la periodontitis avanzada con concentraciones más elevadas de hemoglobina glicosilada (**Chapple ILC y cols.**, 2013). En este sentido, la pérdida de dientes secundaria a la enfermedad periodontal podría estar relacionada con la diabetes mellitus. En nuestro estudio, se observaron diferencias significativas ( $p<0,001$ ) en relación con la ausencia dental (<12 dientes perdidos;  $\geq 12$  dientes perdidos), siendo mayor en el grupo de casos con respecto al grupo control. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en cuanto al número de dientes perdidos en el grupo de casos en función del buen o mal control metabólico. Este hecho puede tener relación con la menor muestra disponible al subdividir a la población de casos en buen o mal control metabólico, a la ausencia dental por otras causas o a la elección del punto de corte de hemoglobina glicosilada como buen o mal control metabólico.

En lo que respecta al flujo salival en los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus, se observa una mayor prevalencia de xerostomía e hiposalivación en la población diabética con respecto a individuos sin diabetes (**Mata AD y cols., 2004; Carda C y cols., 2006; Borges BC y cols., 2010; Lasisi TJ y cols., 2012; Aitken-Saavedra J y cols., 2015; López-Pintor RM y cols., 2016; Puttaswamy KA y cols., 2017**) en un porcentaje en torno al 12,5%-53,5% en diabéticos en comparación con un 0-30% en la población no diabética (**López-Pintor RM y cols., 2016**). En nuestro estudio fueron analizados los niveles de elementos traza en plasma en el grupo de casos en relación con la frecuencia de xerostomía, no encontrándose diferencias significativas.

Durante el desarrollo de nuestro estudio fueron evaluadas otras variables secundarias en relación con los elementos traza plasmáticos y el grupo de casos mediante análisis de correlación: edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol, presencia de hipertensión arterial, actividad física, cumplimiento dietético en diabetes y reactantes de fase aguda plasmáticos.

Respecto la edad, se observaron niveles de boro plasmático significativamente más bajos en el grupo de <65 años con el respecto a los ≥65 años. Por otro lado, los niveles de calcio plasmático fueron significativamente mayores en <65 años con respecto a los ≥65 años.

En cuanto al sexo, los niveles de plomo y zinc en plasma fueron significativamente más altos en los varones frente a las mujeres, mientras que los niveles de cobre plasmático fueron significativamente más bajos en el grupo de varones con respecto al grupo de mujeres.

En relación al consumo de tabaco, los niveles de litio, selenio y zinc plasmáticos fueron significativamente más altos en el grupo de fumadores con el respecto al grupo de no fumadores.

Si nos centramos en el consumo de alcohol, un consumo medio-alto de alcohol (de 1,5 a ≥11,5 g/día), se asocia con niveles de cromo y vanadio en plasma significativamente mayores que en los individuos con un bajo-nulo consumo de alcohol (<1,5 g/día). Así mismo, un consumo medio de alcohol se relacionó con niveles significativamente menores de cobre plasmático con respecto a un bajo-nulo consumo de alcohol.

En referencia a la hipertensión arterial, se hallaron niveles de estroncio en plasma significativamente más elevados en pacientes hipertensos frente a no hipertensos. Este hecho puede relacionarse con la presencia de complicaciones crónicas de la diabetes, donde también se observaron niveles elevados de estroncio plasmático, ya que la hipertensión arterial está frecuentemente asociada con la hiperglucemia y puede considerarse una complicación más de la diabetes mellitus **(Tamler J y cols., 1993; Reaven GM y cols., 1996; Wan WM y cols., 1999; Sereday M y cols., 2008)**.

En nuestro estudio, los niveles de magnesio en plasma fueron significativamente más bajos en pacientes con hipertensión arterial frente aquellos sin hipertensión arterial. Este hecho puede guardar relación con el efecto directo del magnesio sobre la capacidad de relajación de las células del músculo liso y sobre la regulación del reemplazo celular de otros cationes implicados en la presión sanguínea como el sodio, el potasio y el calcio intracelular **(Rosanoff A y cols., 2005)**. Se han realizado estudios epidemiológicos que muestran que la ingesta/excreción de magnesio está inversamente correlacionada con la presión sanguínea y que una suplementación con magnesio podría prevenir la hipertensión arterial, aunque no se disponen de estudios genéticos moleculares que demuestren la importancia del magnesio en la regulación de la presión arterial **(Funato Y y cols., 2017)**. En este sentido, se han realizado estudios empleando la suplementación oral con magnesio para el tratamiento de la hipertensión arterial esencial, pero no parece ser efectivo **(Lind L y cols., 1991)**.

A propósito de la actividad física, los niveles de manganeso fueron significativamente superiores en los pacientes que realizaban actividad física de forma regular en comparación con los pacientes que realizaban actividad física de forma eventual.

Otra variable analizada fue el cumplimiento dietético en los pacientes diabéticos, que no mostró diferencias significativas al relacionarla con los elementos traza en plasma.

Por último, destacar que no se encontraron diferencias significativas entre los niveles de los distintos reactantes de fase aguda medidos en plasma, tales como proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, ferritina y albúmina, y el buen o mal control metabólico, medido a través de las cifras de HbA1c, en el grupo de casos.

Por otra parte los estudios estadísticos de regresión logística llevados a cabo, empleando como variable independiente los elementos traza en plasma, no encontraron modelos explicativos de la realidad con respecto a las distintas variables dependientes que intervinieron, tales como el índice de masa corporal, las cifras de hemoglobina glicosilada, la presencia o no de síndrome metabólico, la presencia o no de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes, el perímetro de cintura en varones y en mujeres, así como la diferenciación entre individuos con diabetes de individuos sanos.

Tampoco los estudios de regresión logística segmentados por el índice de masa corporal o por la hemoglobina glicosilada mostraron modelos explicativos de la realidad. Estos resultados pueden deberse al insuficiente tamaño muestral y a otras variables no controladas en el periodo de selección muestral.

En definitiva, los resultados obtenidos en cuanto a variables secundarias y su relación con los elementos traza plasmáticos precisan de más estudios controlados para corroborar estos datos. Pueden suponer interesantes líneas de investigación en trabajos futuros.

### 5.3. ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA.

En lo referente a los elementos traza determinados en saliva, en nuestro estudio se midieron tanto el grupo de casos ( $n=74$ ) como el grupo control ( $n=73$ ), constituyendo una muestra total de 147 individuos.

En primer lugar se trató de establecer una correlación entre los elementos traza medidos en saliva y los elementos traza medidos en plasma de toda la muestra, buscando una equivalencia entre saliva y plasma para cada elemento traza consigo mismo. En este sentido, los resultados mostraron que únicamente el boro se correlaciona consigo mismo en plasma y saliva con una significación estadística de  $p<0,001$ . En relación al boro, no se ha encontrado una explicación a este hecho ni referencias bibliográficas a este respecto. En cambio respecto al zinc, nuestros resultados coinciden con autores como **Greger JL y cols.**, en **1979** y **Bales CW y cols.**, en **1990**, que tampoco encontraron una correlación adecuada entre los niveles de zinc en saliva y plasma. Sin embargo, para **Bales CW y cols.**, en **1990** sí existía una adecuada correlación con los niveles de cobre en plasma y saliva, al contrario de lo que observamos en nuestro estudio. Tampoco encontramos en nuestro estudio una

buena correlación entre plasma y saliva con relación a los niveles de calcio y fósforo, correlación que sí está descrita por **Ladgotra A y col.**, en el año **2016**.

En nuestro estudio se buscaron las diferencias existentes entre el grupo de pacientes diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2 y el grupo control en relación a los niveles de elementos traza en saliva. Fueron encontradas diferencias significativas en los niveles de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc, que fueron significativamente más elevados en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente al grupo control.

Los niveles elevados de calcio en saliva en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente al grupo control encontrados en nuestro estudio, coinciden con los estudios de otros autores, tales como **Mata AD y cols.**, en **2004** y **Ladgotra A y cols.**, en **2016**. No obstante, otros autores como **Lasisi TJ y cols.**, en el año **2012**, hallaron niveles de calcio en saliva similares en pacientes con diabetes mellitus frente a individuos sanos.

Por otra parte, en el estudio de **Ladgotra A y cols.**, en **2016** también se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de fósforo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente a controles sanos, siendo los niveles de fósforo en saliva más elevados en el grupo de pacientes con diabetes. Este hecho coincide también con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Si nos centramos en otros elementos traza en saliva con importante relación con la diabetes como el caso del zinc, los resultados en estudios anteriores son dispares. Se han encontrado niveles significativamente bajos de zinc en saliva en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente a controles sanos (**Mata AD y cols.**, **2004**), así como niveles de zinc en saliva sin diferencias significativas en ambos grupos (**Shiraishi y cols.**, **1988**). Estos hallazgos no coinciden con los datos obtenidos en nuestro estudio, que muestran niveles de zinc en saliva significativamente más elevados en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente al grupo control.

Tampoco existe consenso entre los diferentes autores y nuestro estudio en relación a los niveles de cobre y magnesio en saliva.

Para autores como **Shiraishi y cols.**, en su estudio del **1988**, el cobre en saliva de los pacientes diabéticos era similar al de los individuos no diabéticos, resultados que difieren con nuestro estudio, donde los niveles de cobre en saliva son

significativamente más elevados en el grupo de pacientes diabéticos frente a los no diabéticos.

En relación al magnesio en saliva, nuestro estudio mostró niveles significativamente más elevados en el grupo de pacientes con diabetes frente al grupo control, hecho que confronta con los resultados presentados por **Mata AD y cols., en 2004**, que encuentran niveles inferiores de magnesio en saliva en el grupo de pacientes diabéticos frente a no diabéticos.

Todos estos resultados ponen de manifiesto las diferencias existentes en la composición salival de los individuos con diabetes mellitus frente a individuos sanos, que pueden relacionarse con una mayor susceptibilidad a infecciones y complicaciones orales en los pacientes diabéticos (**Carda C y cols., 2006; Panchbhai AS y cols., 2010**). Sin embargo, resulta difícil establecer un patrón claro de cómo se hallan los elementos traza en saliva en pacientes con diabetes mellitus con respecto a la población sana y su relación con la disfunción en la capacidad secretora de las glándulas salivales en estos pacientes (**Mata AD y cols., 2004; Carda C y cols., 2006; Borges BC y cols., 2010; Lasisi TJ y cols., 2012; Aitken-Saavedra J y cols., 2015; López-Pintor RM y cols., 2016**) y el control metabólico. Se precisarán de más estudios determinando elementos traza en saliva y su comparación con individuos sin diabetes para concretar este aspecto de la composición salivar del paciente con diabetes mellitus tipo 2.

En lo que concierne al control metabólico, en el grupo de pacientes con diabetes y elementos traza en saliva, nuestro estudio mostró una relación significativa entre el mal control metabólico, catalogado como cifras de HbA1c  $\geq 7\%$ , y niveles más elevados de berilio ( $p=0,038$ ), boro ( $p=0,023$ ) y fósforo ( $p=0,046$ ) en saliva. No existen referencias bibliográficas que apoyen estos resultados y se precisarían de más estudios en esta línea.

En el grupo de pacientes se buscaron relaciones entre el tratamiento antidiabético con o sin insulina y los niveles de elementos traza en saliva, pero no se obtuvieron diferencias significativas.

Tampoco se encontraron diferencias significativas de los elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con el índice de masa corporal, entre obesos y no obesos.

En relación al perímetro de cintura como factor de riesgo cardiovascular y los elementos traza en saliva en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2, no se hallaron diferencias significativas en el grupo de mujeres, tomando como punto de corte un perímetro de cintura  $\geq 88$  cm ó  $< 88$  cm.

Sin embargo, en el grupo de varones si se encontraron niveles de berilio en saliva significativamente más elevados ( $p=0,012$ ) en aquellos con un perímetro de cintura  $< 102$  cm con respecto al grupo de pacientes con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm, que fueron más bajos. Estos hallazgos no se corresponden con los obtenidos en plasma, lo que indica la gran variabilidad existente en este campo entre plasma y saliva. Tampoco existen otras fuentes bibliográficas que avalen estos resultados.

Por otro lado, en referencia a la presencia de complicaciones crónicas en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los niveles de elementos traza en saliva, parece existir un descenso significativo de los niveles en saliva de cobalto ( $p=0,048$ ) en el grupo con complicaciones respecto al grupo sin complicaciones, donde se objetivaron niveles más altos. Estos hallazgos no se corroboran por otros estudios, por lo que será preciso iniciar otras líneas de investigación en este sentido.

En el plano de las manifestaciones orales, en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y los elementos traza en saliva, se observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de rubidio en saliva y la frecuencia de xerostomía. Los niveles de rubidio fueron significativamente mayores ( $p=0,013$ ) en el grupo de alta frecuencia de xerostomía con respecto al grupo de individuos con una frecuencia baja de xerostomía. El rubidio podría emplearse como marcador de xerostomía en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, reflejo de la disfunción en las glándulas salivales de estos pacientes. Aunque se precisan de más estudios en la búsqueda de elementos traza en saliva como marcadores de xerostomía en el paciente diabético.

Por otra parte, se evaluaron otras variables secundarias en relación con los elementos traza en saliva y el grupo de casos mediante análisis de correlación: edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol, presencia de hipertensión arterial, actividad física y cumplimiento de dieta de diabetes.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos en relación con la edad ( $\geq 65$  años ó  $< 65$  años) o con el sexo.

En el caso del consumo de tabaco en el grupo de pacientes diabéticos y su relación con los elementos traza en saliva, se hallaron niveles significativamente más altos de azufre en saliva ( $p=0,001$ ) en el grupo de fumadores con el respecto al grupo de no fumadores y ex fumadores.

En lo que refiere al consumo de alcohol por parte del grupo de pacientes con diabetes, los niveles de elementos traza en saliva no mostraron diferencias significativas.

Sin embargo, los pacientes diabéticos tipo 2 con hipertensión arterial presentaron niveles de boro en saliva significativamente más elevados ( $p=0,038$ ) frente a los que no presentaban hipertensión arterial.

Finalmente, tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a los niveles de elementos traza en saliva en el grupo de casos y la realización de actividad física o el cumplimiento dietético.

Por otro lado, los estudios estadísticos de regresión logística efectuados en el grupo de casos y empleando como variable independiente los elementos traza en saliva, no encontraron modelos explicativos de la realidad con respecto a las distintas variables dependientes analizadas, tales como el índice de masa corporal, las cifras de hemoglobina glicosilada, la presencia o no de síndrome metabólico, la presencia o no de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes y el perímetro de cintura en varones y mujeres.

Así mismo, tampoco los estudios de regresión logística segmentados por el índice de masa corporal o por la hemoglobina glicosilada mostraron modelos explicativos de la realidad. Estos resultados pueden deberse al insuficiente tamaño muestral y a otras variables no controladas en el periodo de selección muestral.

Los resultados obtenidos en cuanto a variables secundarias y su relación con los elementos traza en saliva en el grupo de casos precisan de más estudios controlados para corroborar estos datos. Pueden suponer interesantes líneas de investigación en trabajos futuros.

En nuestro estudio se realizaron diversas correlaciones estadísticas de los elementos traza en saliva con otras variables en el total de la muestra ( $n=147$ ), incluyendo al grupo de casos y controles.

En cuanto a parámetros antropométricos asociados al riesgo cardiovascular como la obesidad, se observó que los niveles en saliva de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc fueron significativamente más elevados en los individuos con un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> con respecto a los individuos con un IMC  $< 30$  kg/m<sup>2</sup>. Por el contrario, los niveles de hierro en saliva fueron significativamente más bajos en los individuos con un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>.

En lo referente al perímetro de cintura en el grupo de mujeres, los niveles en saliva de aluminio, azufre, berilio, calcio, cobre, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc fueron significativamente más elevados en los individuos con un perímetro de cintura  $\geq 88$  cm en relación con los individuos con un perímetro de cintura  $< 88$  cm.

En el caso del perímetro de cintura en el grupo de varones, los niveles en saliva de aluminio, azufre, calcio, cobre, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc fueron significativamente más altos en los individuos con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm en relación con los individuos con un perímetro de cintura  $< 102$  cm.

Por otra parte, en el estudio analizamos variables orales en el total de la muestra y su relación con los elementos traza en saliva. En referencia a la frecuencia de xerostomía y su relación con los elementos traza en saliva, se hallaron niveles significativamente más elevados de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, vanadio y zinc en individuos con una alta frecuencia de xerostomía con respecto al grupo de individuos con una frecuencia baja de xerostomía.

Fueron estudiadas las variables secundarias edad, sexo, consumo de tabaco, consumo de alcohol, presencia de hipertensión arterial y actividad física en el total de la muestra y su correlación con los elementos traza en saliva.

En referencia a la edad en el total de la muestra y su correlación con los elementos traza en saliva, se observaron niveles significativamente más elevados en saliva de aluminio, azufre, calcio, cromo, estroncio, fósforo, magnesio, plomo, rubidio y zinc en los individuos de mayor o igual edad de 65 años con respecto a los menores de 65 años.

También se hallaron diferencias significativas en cuanto al sexo, siendo los niveles en saliva de estroncio, fósforo y magnesio significativamente más elevados en varones respecto a las mujeres.

En el caso del consumo de tabaco en el total de la muestra y su relación con elementos traza en saliva, los niveles de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, plomo, rubidio, titanio y zinc en saliva fueron significativamente más altos en fumadores y ex fumadores con respecto a no fumadores. No obstante, los niveles de boro en saliva fueron significativamente más bajos en fumadores con respecto a no fumadores y ex fumadores.

Con respecto al consumo de alcohol del total de individuos de la muestra y su relación con los niveles de elementos traza en saliva, se observaron niveles significativamente más elevados de calcio, cromo, estroncio, magnesio, plomo, titanio, vanadio y zinc en saliva en el grupo de mayor consumo de alcohol (>11,5 g/día de alcohol) con respecto al grupo de un menor consumo de alcohol (<1,5 g/día de alcohol).

En referencia a la presencia o no de hipertensión arterial y su relación con los elementos traza en saliva en el total de individuos del estudio, se objetivaron niveles significativamente más elevados de aluminio, azufre, berilio, boro, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc en saliva en individuos con hipertensión arterial frente a aquellos que no presentaban hipertensión arterial.

Por último, evaluamos en nuestro estudio la relación entre actividad física y niveles de elementos traza en el total de los individuos. Se observó que los niveles de azufre, fósforo, rubidio, titanio, vanadio y zinc en saliva fueron significativamente mayores en el grupo de individuos que realizaba nula actividad física frente al grupo de individuos que realizan actividad física de forma regular.

Por otro lado, se realizaron estudios estadísticos de regresión logística sobre el total de la muestra, empleando como variable independiente los elementos traza en saliva. No se encontraron modelos explicativos de la realidad con respecto a las siguientes variables dependientes: las cifras de hemoglobina glicosilada, la presencia o no de síndrome metabólico, la presencia o no de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes y el perímetro de cintura en mujeres.

Sin embargo, si se encontró un modelo explicativo de la realidad del perímetro de cintura considerado de alto riesgo cardiovascular en varones en función del magnesio en saliva ( $p=0,003$ ). Dicho modelo determina que valores de magnesio en saliva  $\geq 0,0012$  (g/100g), detectan a los varones con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm con una sensibilidad del 84% y una especificidad del 81,8%. Se concluye que el magnesio en saliva tiene capacidad para diferenciar personas con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm, considerado de alto riesgo cardiovascular, de personas con un perímetro de cintura  $< 102$  cm de manera no aleatoria, entre el colectivo de los varones.

En referencia al magnesio y su relación con la obesidad central o visceral, se conoce que los estados carenciales de magnesio sérico se han asociado con una mayor actividad inflamatoria crónica y un estrés oxidativo aumentado, que se encuentran presentes en el paciente con obesidad central y en el cual suele existir una deficiencia de dicho elemento. Esta deficiencia también se ha asociado a otras enfermedades inflamatorias crónicas como la hipertensión arterial, arteriosclerosis, diabetes mellitus o cáncer (**Guerrero Romero F y cols., 2002; Lares MJ y cols., 2004; King DE y cols., 2005; Nielsen FH., 2010**). Los resultados obtenidos en nuestro estudio relacionan la obesidad central con el magnesio en saliva. Estos hallazgos sugieren que el magnesio en saliva podría ser empleado como un marcador de riesgo cardiovascular al asociarse a cuadros de obesidad central con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm en varones, considerado de alto riesgo cardiovascular.

También con relación al magnesio en saliva, se encontró un modelo explicativo para diferenciar entre pacientes con diabetes mellitus tipo 2 e individuos sanos sin diabetes de todo el colectivo en función del magnesio en saliva ( $p < 0,001$ ). Dicho modelo determina que valores de magnesio en saliva  $\geq 0,0011$  (g/100g) detectan a los individuos con diabetes con una sensibilidad del 79,2% y una especificidad del 77,8%. Se concluye que el magnesio en saliva tiene capacidad para diferenciar personas con diabetes mellitus tipo 2 de individuos sanos sin diabetes de forma no aleatoria, entre el colectivo total de individuos. Estos resultados pueden guardar relación con el hecho de que el magnesio en sangre se encuentra activamente involucrado como cofactor en numerosas reacciones del organismo relacionadas con el metabolismo de los hidratos de carbono y el control glucémico. De hecho, la hipomagnesemia se ha asociado con estados de prediabetes, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 e, incluso, con la progresión de complicaciones crónicas asociadas a la diabetes (**Mooren FC., 2015; Bertinato J y cols., 2017**). Por todo ello, se ha empleado la suplementación

oral con magnesio en situaciones de prediabetes y diabetes mellitus tipo 2 para control glucémico con resultados heterogéneos (**Mooren FC., 2015**). En vista a los resultados obtenidos en nuestro estudio, se podría considerar al magnesio en saliva como un marcador asociado a la diabetes mellitus tipo 2.

Por otra parte, se encontró un modelo explicativo para diferenciar pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de individuos sin diabetes, en todo el colectivo, en función del zinc en saliva ( $p < 0,001$ ). El modelo determina que valores de zinc en saliva  $\geq 0,0940$  (mg/Kg), detectan a los individuos con diabetes con una sensibilidad del 82% y una especificidad del 79,4%. Se concluye que el zinc en saliva tiene capacidad para diferenciar personas con diabetes mellitus tipo 2 de individuos sanos sin diabetes de forma no aleatoria, entre el colectivo total de individuos. Los resultados de nuestro estudio sugieren que el zinc puede ser un buen marcador de la diabetes mellitus tipo 2, lo cual guarda relación con el ya conocido papel del zinc como cofactor de la insulina y su importante relación con el metabolismo de los hidratos de carbono. Las alteraciones en el estatus del zinc corporal se han asociado a la resistencia a la insulina, intolerancia a los hidratos de carbono, diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares (**Kimura K, 1996; Chausmer AB., 1998; Gómez García A y cols., 2003; Jansen J y cols., 2009**).

Por último, se encontraron otros modelos explicativos para diferenciar individuos con diabetes mellitus tipo 2 de otros individuos sin diabetes del total del colectivo en función de elementos traza como el plomo ( $p < 0,001$ ) y el calcio ( $p = 0,013$ ) en saliva. Valores de plomo en saliva  $\geq 0,0290$  (g/100g) detectan a los individuos con diabetes con una sensibilidad del 80,7% y una especificidad del 80%. Por otra parte, valores de calcio en saliva  $\geq 0,0085$  (mg/Kg) detectan a los individuos con diabetes con una sensibilidad del 80,7% y una especificidad del 80%.

En el caso del calcio y su relación con la diabetes mellitus tipo 2, la evidencia acumulada sugiere que alteraciones en la homeostasis del calcio y vitamina D podrían jugar un importante papel en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2. En este sentido, el calcio es esencial para la mediación de la insulina en los procesos intracelulares y la respuesta insulínica en los tejidos. Cambios en las concentraciones de calcio podrían contribuir a la resistencia periférica a la insulina e incrementar el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2. En consecuencia, se han asociado bajas ingestas de calcio con la incidencia de diabetes mellitus tipo 2 y síndrome metabólico, encontrándose niveles más bajos de calcio en pacientes con diabetes comparado con controles sanos (**Pittas AG y cols., 2007**). Se han realizado estudios prospectivos,

donde la suplementación con calcio y vitamina D parece tener un potencial beneficio en cuanto a la reducción del riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (**Pittas AG y cols., 2006**). Por todo ello, los resultados de nuestro estudio ponen de manifiesto el posible papel del calcio como marcador de diabetes mellitus tipo 2.

En referencia a la asociación entre diabetes mellitus tipo 2 y plomo, no se establece una clara relación entre ambos en las diferentes fuentes bibliográficas. No obstante, en el estudio realizado por **Simić A y cols., en 2017**, relaciona niveles bajos de plomo en plasma en pacientes con diabetes tipo 2 respecto a los individuos sin diabetes. Pese a todo, no encontramos una respuesta satisfactoria a los resultados de nuestro estudio en relación al plomo en saliva, por lo que se requieren de más estudios en esta línea, controlando posibles factores que interfieran en las concentraciones de plomo en saliva, entre otras variables.

#### **5.4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO Y PERSPECTIVAS FUTURAS.**

En lo que se refiere a las limitaciones que se han encontrado a la hora de llevar a cabo nuestro estudio, primeramente habría que destacar que se trata de un estudio transversal, por lo que únicamente se dispone de una medida y no podemos conocer la evolución de los individuos incluidos de la muestra a lo largo del tiempo para la obtención de nuevas medidas que corroboren o validen nuestros hallazgos.

Otro aspecto importante hace referencia al posible sesgo de selección, ya que la población estudiada es de origen hospitalario, lo cual dificulta la extrapolación de los hallazgos del estudio a otras poblaciones. Por otra parte, unos criterios más estrictos y controlados a la hora de seleccionar a los individuos incluidos en el estudio, podría contribuir a evitar los posibles sesgos de confusión de factores tales como el tabaquismo y su relación con los elementos traza en saliva o la salud oral.

Así mismo, en lo que se refiere al tamaño de la muestra, un tamaño muestral mayor habría permitido obtener resultados significativos en algunas de las correlaciones estadísticas de las variables analizadas.

Otra limitación la encontramos a la hora de fijar los puntos de corte de algunas de las variables estudiadas, ya que en muchos casos no se tratan de puntos de corte claramente definidos y podrían haberse señalado otros, pudiendo variar los resultados obtenidos en algunos casos.

Finalmente, señalar que no se disponen de muchos estudios que evalúen los rangos de normalidad de la gran parte de los elementos traza estudiados tanto en plasma como en saliva, lo cual explica la gran variabilidad de resultados entre los distintos estudios y la dificultad a la hora de valorar los resultados obtenidos en nuestro estudio.

La discrepancia de resultados existente entre los distintos estudios en cuanto a la relación entre los elementos traza en plasma o saliva y la diabetes mellitus tipo 2, pone en evidencia la necesidad de realizar más estudios controlados que aborden este tema, profundizando en los mecanismos a través de los cuales el metabolismo mineral se relaciona con el metabolismo de los hidratos de carbono y sus trastornos asociados. De este modo, se podrían hallar biomarcadores que ayudaran en la detección precoz de la diabetes y de sus complicaciones, así como posibles vías terapéuticas basadas en los elementos traza.

Por otra parte, la relación entre el metabolismo mineral y el riesgo cardiovascular también supone un reto para futuras investigaciones. Será preciso estudiar en profundidad el papel de los elementos traza en los factores de riesgo cardiovascular y en el desarrollo de eventos cardiovasculares. Todo ello con el objetivo de encontrar nuevos biomarcadores de detección del riesgo cardiovascular que permitan una actuación precoz, además de constituir una nueva diana terapéutica y de prevención en las enfermedades cardiovasculares.

## **6. CONCLUSIONES**



## 6. CONCLUSIONES.

1. No existe una buena correlación entre los niveles de elementos traza en saliva y plasma, salvo el caso del boro, que sí muestra una buena correlación en ambos medios.
2. Existen diferencias en los niveles de elementos traza en saliva entre individuos con diabetes mellitus tipo 2 y los individuos sin diabetes, siendo los niveles en saliva de aluminio, azufre, calcio, cobre, cromo, estroncio, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, rubidio, titanio, vanadio y zinc más elevados en el grupo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 frente al grupo de individuos sin diabetes. El magnesio, zinc, plomo y calcio en saliva pueden ser buenos marcadores para diferenciar pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de individuos sin diabetes.
3. Encontramos diferencias entre los niveles de elementos traza en saliva con relación al control metabólico de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, siendo los niveles de berilio, boro y fósforo más elevados en los pacientes con mal control metabólico ( $HbA1c \geq 7\%$ ). En el caso del plasma, niveles elevados de rubidio y zinc, junto con niveles bajos de titanio, se asociaron con un mal control metabólico.
4. La presencia de complicaciones crónicas macro y microvasculares asociadas a la diabetes mellitus tipo 2 se relaciona con menores niveles de cobalto en saliva y niveles mayores de estroncio en plasma. Así mismo, factores de riesgo cardiovascular como la obesidad, el perímetro de cintura, el tabaquismo o la hipertensión arterial muestran diferencias en los niveles de elementos traza en plasma y saliva. De esta forma, el magnesio en saliva puede ser un buen marcador para diferenciar varones con un perímetro de cintura  $\geq 102$  cm, considerado de alto riesgo cardiovascular.
5. Los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 presentan un mayor número de dientes perdidos con respecto a los individuos no diabéticos, aunque la ausencia dental no se asocia con el control metabólico.



## **7. BIBLIOGRAFÍA**



## 7. BIBLIOGRAFÍA.

- Ahmad J. The diabetic foot. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 2016; 10:48-60.
- Aitken JP, Ortíz C, Morales-Bozo I, Rojas-Alcayaga G, Baeza M, Beltran C, Escobar A.  $\alpha$ -2-Macroglobulin in Saliva Is Associated with Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Disease Markers* 2015; 1-5.
- Aitken-Saavedra J, Rojas-Alcayaga G, Maturana-Ramírez A, Escobar-Álvarez A, Cortés-Coloma A, Reyes-Rojas M, Viera -Sapiain V, Villablanca-Martínez C, Morales-Bozo I. Salivary gland dysfunction markers in type 2 diabetes mellitus patients. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 2015; 7:501-505.
- Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine* 1998; 15:539-553.
- Al-Dohan JA, Haddad NS, Al-Rubaye H, Jawad MM. The Relation between Trace Elements Levels and Some Cardiovascular Risk Factors in Patients with Obstructive Coronary Artery Disease in Basra. *Biology and Medicine* 2015; 3:1-6.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33:62-69.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2014; 37:81-90.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care 2012. Position Statement. *Diabetes Care* 2012; 35:11-63.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Position Statement in Physical Activity. *Diabetes Care* 2015; 38:20-30.
- Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, Polansky MM, Cheng N, Chi J, Feng J. Elevated Intakes of Supplemental Chromium Improve Glucose and Insulin Variables in Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes* 1997; 46:1786-1791.
- Anderson RA. Trace elements and cardiovascular diseases. *Acta Pharmacologica et Toxicologica (Copenh)* 1986; 59:317-324.
- Anık A, Çatlı G, Abacı A, Böber E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 2015; 28:251-263.

- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir E, Altun M. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper(II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radical Research* 2005; 39:949-961.
- Arana C, Cutando A, Ferrera MJ, Gómez-Moreno G, Vander Worf C, Bolaños MJ, Escames G, Acuña-Castroviejo D. Parameters of oxidative stress in saliva from diabetic and parenteral drug addict patients. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 2006; 35:554-559.
- Aranda P, Planells E, Llopis J. Magnesio. *Scientific Communication: Art o Technique? Ars Pharmaceutica* 2000; 41:91-100.
- Arango SS. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 2011; 30:75-82.
- Asenjo S, Muzzo S, Pérez MV, Ugarte F, Willshaw ME. Consenso en el diagnóstico y tratamiento de la diabetes tipo 1 del niño y del adolescente. *Revista Chilena de Pediatría* 2007; 78:534-541.
- Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *The Lancet* 2014; 383:69-82.
- Badran M, Morsy R, Soliman H, Elnimr T. Assessment of trace elements levels in patients with Type 2 diabetes using multivariate statistical analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2016; 33:114-119.
- Bales CW, Freeland-Graves JH, Askey S, Behmardi F, Pobocik RS, Fickel JJ, Greenlee P. Zinc, magnesium, copper, and protein concentrations in human saliva: age- and sex-related differences. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1990; 51:462-469.
- Bantle JP, Wylie-Rosett J, Albright AL, Apovian CM, Clark NG, Franz MJ, Hoogwerf BJ, Lichtenstein AH, Mayer-Davis E, Mooradian AD, Wheeler ML. Nutrition recommendations and interventions for diabetes: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2008; 31:61-78. Erratum in: *Diabetes Care* 2010; 33:1911.
- Barrio R. Diabetes monogénicas: enfoque diagnóstico y tipos más frecuentes. *Avances en Diabetología* 2007; 23:333-340.
- Basaki M, Saeb M, Nazifi S, Shamsaei HA. Zinc, Copper, Iron, and Chromium Concentrations in Young Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Biological Trace Element Research* 2012; 148:161-164.
- Bertinato J, Wang KC, Hayward S. Serum Magnesium Concentrations in the Canadian Population and Associations with Diabetes, Glycemic Regulation, and Insulin Resistance. *Nutrients* 2017; 9:1-13.

- Boccio J, Salgueiro J, Lysionek A, Zubillaga M, Goldman C, Weill R, Caro R. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2003; 53: 119-132.
- 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 & Preventive Dentistry 2010; 8:153-158.
- Bosch X, Alfonso F, Bermejo J. Diabetes y enfermedad cardiovascular. Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI. Revista Española de Cardiología 2002; 55:525-527.
- Bray GA, Bouchard C, James WPT. Definitions and proposed current classifications of obesity. En: Bray G, Bouchard C, James WPY, editores. Handbook of obesity. Nueva York: Marcel Dekker; 1998.p. 31-40.
- Calatrava Oramas LA. La saliva: una ventana para el diagnóstico. Revista Venezolana de Investigación Odontológica de la IADR 2014; 2:65-74.
- Cancarini A, Fostinelli J, Napoli L, Gilberti ME, Apostoli P, Semeraro F. Trace elements and diabetes: Assessment of levels in tears and serum. Experimental Eye Research 2017; 154:47-52.
- Cannata-Andía JB, Rodríguez-García M, Gómez-Alonso C. Mecanismo de acción del ranelato de estroncio. Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral 2010; 2:5-9.
- Carda C, Mosquera-Lloreda N, Salom L, Gómez de Ferraris ME, Peydró A. Alteraciones salivares en pacientes con diabetes tipo 2. Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal 2006; 11:309-314.
- Caridad C. El pH, Flujo Salival y Capacidad Buffer en Relación a la Formación de la Placa Dental. ODOUS Científica 2008; 9:25-32.
- Chapple ILC, Genco R, working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. Journal of Periodontology 2013; 84:106-112.
- Chausmer AB. Zinc, insulin and diabetes. Journal of the American College of Nutrition 1998; 17:109-115.
- Chu A, Foster M, Samman S. Zinc Status and Risk of Cardiovascular Diseases and Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review of Prospective Cohort Studies. Nutrients 2016; 8:1-19.
- Chung TJ, Hsu KY, Chen JH, Liu JS, Chang HW, Li PF, Huang CL, Shieh YS, Lee CH. Association of salivary alpha 2-macroglobulin levels and clinical

- characteristics in type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Investigation* 2016; 7: 190- 196.
- Crespo Mojena N, Martínez Hernández A, Rosales González E, Crespo Valdés N, García Roura J. Diabetes Mellitus e hipertensión: Estudio en el nivel primario de salud. *Revista Cubana de Medicina General Integral* 2002; 18:331-335.
  - Cruz Hernández J, Licea Puig ME, Hernández García P, Abraham Marcel EA, Yanes Quesada M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Revista Mexicana de Patología Clínica* 2011; 58:4-15.
  - Cuerda C, Luengo LM, Valero MA, Vidal A, Burgos R, Calvo FL, Martínez C. Antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia. *Nutrición Hospitalaria* 2011; 26:68-78.
  - Desai GS, Mathews ST. Saliva as a non-invasive diagnostic tool for inflammation and insulin-resistance. *World Journal of Diabetes* 2014; 5:730-738.
  - Dhanya M, Hegde S. Salivary glucose as a diagnostic tool in Type II diabetes mellitus: A case-control study. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2016; 19: 486-490.
  - Díaz Díaz O, Cabrera Rode E, Orlandi González N, Araña Rosaínz MJ, Díaz Horta O. Aspectos epidemiológicos de la prediabetes, diagnóstico y clasificación. *Revista Cubana de Endocrinología* 2011; 22:3-10.
  - Díaz Guzmán LM, Castellanos Suárez JL. Prevención de enfermedades bucales en pacientes con trastornos sistémicos. Parte II: Diabetes mellitus. *Revista de la Asociación Dental Mexicana* 2013; 70:169-176.
  - Dodds MW, Dodds AP. Effects of glycemic control on saliva flow rates and protein composition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology* 1997; 83:465-470.
  - Ekmekcioglu C, Prohaska C, Pomazal K, Steffan I, Scherthaner G, Guntram R, Marktl W. Concentrations of seven trace elements in different hematological matrices in patients with type 2 diabetes as compared to healthy controls. *Biological Trace Element Research* 2001; 79:205-219.
  - Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Journal of the American Medical Association* 2001; 285:2486-2497.

- Fabre B, Mesch V, Oneto A, Macalini G, Grosman H, Aranda C, Berg G. La saliva y su utilidad en la evaluación de la función endocrinológica. *Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva* 2009; 16: 26-43.
- Faghihi T, Radfar M, Barmal M, Amini P, Qorbani M, Abdollahi M, Larijani B. A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Selenium Supplementation in Patients With Type 2 Diabetes: Effects on Glucose Homeostasis, Oxidative Stress, and Lipid Profile. *American Journal of Therapeutics* 2014; 21: 491-495.
- 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. *Archives of Internal Medicine* 2007; 167:1145-1151.
- Freitas EP, Cunha AT, Aquino SL, Pedrosa LF, Lima SC, Lima JG, Almeida MG, Sena-Evangelista KC. Zinc Status Biomarkers and Cardiometabolic Risk Factors in Metabolic Syndrome: A Case Control Study. *Nutrients* 2017; 9:1-13.
- Funato Y, Yamazaki D, Miki H. Renal function of cyclin M2 Mg<sup>2+</sup> transporter maintains blood pressure. *Journal of Hypertension* 2017; 35:585-592.
- Gaetke LM, Chow CK. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 2003; 189:147-163.
- García Gabarra A. Ingesta de Nutrientes: Conceptos y Recomendaciones Internacionales (1ª Parte). *Nutrición Hospitalaria* 2006; 21:291-299.
- García Triana BE, Delfín Soto O, Lavandero Espina AM, Saldaña Bernabeu A. Principales proteínas salivales: estructura, función y mecanismos de acción. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2012; 11:450-456.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19:257-267.
- Goday A. Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias. *Revista Española de Cardiología* 2002; 55:657-670.
- Gómez García A, Magaña Garns P. Papel del cromo y del cinc en el metabolismo de la insulina. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 2004; 42:347-352.
- Greenfield JR, Samaras K, Hayward CS, Chisholm D, Campbell LV. Beneficial Postprandial Effect of a Small Amount of Alcohol on Diabetes and Cardiovascular Risk Factors: Modification by Insulin Resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; 90:661-672.

- Greger JL, Sickles VS. Saliva zinc levels: potential indicators of zinc status. *The American Journal of Clinical Nutrition* 1979; 32:1859-1866.
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112:2735-2752.
- Guerrero Romero F, Rodríguez Morán M. Low serum magnesium levels and metabolic syndrome. *Acta Diabetologica* 2002; 39:209-213.
- Heredia D, Fernández D, Alfonso J, Rodríguez E, Santana L, Rodríguez M. Sistema antioxidante enzimático e indicadores de daño oxidativo en pacientes diabéticos tipo 2. *Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes* 2014; 7: 94-98.
- Hicks J, Muller M, Panteghini M, John G, Deeb L, Buse J, Nathan DM, Kahn R, Ferrannini E, Heine R, Silink M, Mbanya JC. Consensus Statement on the Worldwide Standardization of the Hemoglobin A1C Measurement: The American Diabetes Association, European Association for the Study of Diabetes, International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, and the International Diabetes Federation. *Diabetes Care* 2007; 30: 2399-2400.
- Hosseini B, Saedisomeolia A, Skilton MR. Association between Micronutrients Intake/Status and Carotid Intima Media Thickness: A Systematic Review. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 2017; 117:69-82.
- Houtman JPW. Trace Elements and Cardiovascular Diseases. *European Journal of Preventive Cardiology* 1996; 3:18-24.
- Huang L, Teng T, Bian B, Yao W, Yu X, Wang Z, Xu Z, Sun Y. Zinc Levels in Left Ventricular Hypertrophy. *Biological Trace Elements Research* 2017; 176:48-55.
- Ide R, Hoshuyama T, Wilson D, Takahashi K, Higashi T. Periodontal disease and incident diabetes: a seven-year study. *Journal of Dental Research* 2011; 90:41-46.
- Iglesias González R, Barutell Rubio L, Artola Menéndez S, Serrano Martín R. Resumen de las recomendaciones de la American Diabetes Association (ADA) 2014 para la práctica clínica en el manejo de la diabetes mellitus. *Diabetes Práctica* 2014; 5:1-24.

- Iglesias-González IM, Padilla-Docal D, Dorta-Contreras AJ, Junco-Calzadilla R, Ramírez Agüera PJ, Torres López D, Janero Valdés A. Reactantes de fase aguda en reumatología. *Revista Cubana de Reumatología* 2014; 16:59-62.
- Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Peters AL, Tsapas A, Wender R, Matthews DR. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered Approach: Update to a Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2015; 38:140-149.
- Isbir T, Tamer L, Taylor A, Isbir M. Zinc, Copper and Magnesium Status in Insulin-Dependent Diabetes. *Diabetes Research* 1994; 26:41-45.
- Jansen J, Karges W, Rink L. Zinc and diabetes. Clinical links and molecular mechanisms. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 2009; 20:399-417.
- Kimura K. Role of essential trace elements in the disturbance of carbohydrate metabolism. *Nihon Rinsho. Japanese journal of clinical medicine* 1996; 54:79-84.
- King DE, Mainous AG, Geesey ME, Woolson RF. Dietary Magnesium and C-reactive Protein Levels. *Journal of the American College of Nutrition* 2005; 24:166-171.
- Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Risk of cardiovascular mortality in alcohol drinkers, ex-drinkers and nondrinkers. *The American Journal of Cardiology* 1990; 66:1237-1242.
- Klevay LM. Cardiovascular Disease from Copper Deficiency: A History. *Journal of Nutrition* 2000; 130:489-492.
- Ko GT, Cockram CS. Cause as well as effect: smoking and diabetes. *Diabetes Voice* 2005; 50:19-22.
- Kok FJ, Van Duijn CM, Hofman A, Van Der Voet GB, De Wolff FA, Paays CH, Valkenburg HA. Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. *American Journal of Epidemiology* 1988; 128:352-359.
- Kruse-Jarres JD, Rügauer M. Trace elements in diabetes mellitus. Peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2000; 14:21-27.
- Kuk JL, Katzmarzyk PT, Nichaman MZ, Church TS, Blair SN, Ross R. Visceral fat is an independent predictor of all-cause mortality in men. *Obesity* 2006; 14:336-341.

- Ladgotra A, Pradhuman V, Seetharamaiah S. Estimation of Salivary and Serum Biomarkers in Diabetic and Non Diabetic Patients - A Comparative Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2016; 10:56-61.
- Laires MJ, Moreira H, Monteiro CP, Sardinha L, Limão F, Veiga L, Gonçalves A, Ferreira A, Bicho M. Magnesium, Insulin Resistance and Body Composition in Healthy Postmenopausal Women. *Journal of American College of Nutrition* 2004; 23:510-513.
- Lasisi TJ, Fasanmade AA. Salivary flow and composition in diabetic and non-diabetic subjects. *Nigerian journal of physiological sciences* 2012; 27:79-82.
- Leal J, Gray AM, Clarke PM. Development of life-expectancy tables for people with type 2 diabetes. *European Heart Journal* 2009; 30:834-839.
- Lind L, Lithell H, Pollare T, Ljunghall S. Blood pressure response during long-term treatment with magnesium is dependent on magnesium status. A double-blind, placebo-controlled study in essential hypertension and in subjects with high-normal blood pressure. *American Journal of Hypertension* 1991; 4:674-679.
- Llena Puy C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal* 2006; 11:449-455.
- López-Pintor RM, Casañas E, González-Serrano J, Serrano J, Ramírez L, de Arriba L, Hernández G. Xerostomia, Hyposalivation, and Salivary Flow in Diabetes Patients. *Journal of Diabetes Research* 2016; 1-15.
- Lowe NM, Fekete K, Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 89:1-12.
- Mafong D, Henry R. Exenatide as a treatment for diabetes and obesity: implications for cardiovascular risk reduction. *Current Atherosclerosis Reports* 2008; 10:55-60.
- Malavige LS, Levy JC. Erectile Dysfunction in Diabetes Mellitus. *The Journal of Sexual Medicine* 2009; 6:1232-1247.
- Maret W, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; 20:3-18.
- Martínez-Gómez D, Eisenmann JC, Gómez-Martínez S, Veses A, Marcos A, Veiga OL. Sedentarismo, adiposidad y factores de riesgo cardiovascular en adolescentes. Estudio AFINOS. *Revista Española de Cardiología* 2010;63:277-285.

- Mascarenhas P, Fatela B, Barahona I. Effect of Diabetes Mellitus Type 2 on Salivary Glucose – A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *PLoS ONE* 2014; 9:1-14.
- Mata AD, Marqués D, Rocha S, Francisco H, Santos C, Mesquita MF, Singh J. Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2004; 261:137-142.
- Mertz W. The essential trace elements. *Science* 1981; 213:1332-1338.
- Metzger BE, Buchanan TA, Coustan DR, de Leiva A, Dunger DB, Hadden DR, Hod M, Kitzmiller JL, Kjos SL, Oats JN, Pettitt DJ, Sacks DA, Zoupas C. Summary and Recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2007; 30:251-260.
- Millán MM, Reviriego J, Del Campo J. Revaluación de la versión española del cuestionario Diabetes Quality of Life (EsDQOL). *Endocrinología y Nutrición* 2002; 49:322-324.
- Miller CS, Foley JD, Bailey AL y cols. Current developments in salivary diagnostics. *Biomarkers in Medicine* 2010; 4:171-189.
- Montero-Martín J, Bravo-Pérez M, Albadalejo-Martínez A, Hernández-Martín LA, Rosel-Gallardo E. Validation the Oral Health Impact Profile (OHIP-14sp) for adults in Spain. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal* 2009; 14:44-50.
- Mooren FC. Magnesium and disturbances in carbohydrate metabolism. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2015; 17:813-823.
- Mussavira S, Dharmalingam M, Omana Sukumaran B. Salivary glucose and antioxidant defense markers in type II diabetes mellitus. *Turkish Journal Of Medical Sciences* 2015; 45:141-147.
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JC, Genuth SM, Lachin JM, Orchard TJ, Raskin P, Zinman B. Intensive Diabetes Treatment and Cardiovascular Disease in Patients with Type 1 Diabetes. *The New England Journal of Medicine* 2005; 353:2643-2653.
- Navarro Alarcón M, Gil Hernández F. Selenio, manganeso, cromo, molibdeno, yodo y otros oligoelementos minoritarios. En: Sánchez de Medina F, coordinador. *Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición. 2ª ed. Madrid: Panamericana; 2010.p. 705-733.*
- Nicklas BJ, Penninx BW, Ryan AS, Berman DM, Lynch NA. Visceral Adipose Tissue Cutoffs Associated With Metabolic Risk Factors for Coronary Heart Disease in Women. *Diabetes Care* 2003; 26:1413-1420.

- Nielsen FH. Magnesium, inflammation, and obesity in chronic disease. *Nutrition Reviews* 2010; 68:333-340.
- Olivares Grohnert M, Arredondo Olgún M, Pizarro Aguirre F. Hierro. En: Sánchez de Medina F, coordinador. *Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición. 2ª ed.* Madrid: Panamericana; 2010.p. 669-686.
- Panchbhai AS, Deqwekar SS, Bhowte RR. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *Journal of Oral Science* 2010; 52:359-68.
- Pascot A, Després JP, Lemieux I, Bergeron J, Nadeau A, Prud'homme D, Tremblay A, Lemieux S. Contribution of visceral obesity to the deterioration of the metabolic risk profile in men with impaired glucose tolerance. *Diabetologia* 2000; 43:1126-1135.
- Pérez-Llamas F, Gil Hernández A, Zamora Navarro S. Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación. En: Sánchez de Medina F, coordinador. *Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición. 2ª ed.* Madrid: Panamericana; 2010.p. 641-667.
- Phelan S. Windows of Opportunity for Lifestyle Interventions to Prevent Gestational Diabetes Mellitus. *American Journal of Perinatology* 2016; 33:1291-1299.
- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Vitamin D and Calcium Intake in Relation to Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes Care* 2006; 29:650-656.
- Pittas AG, Lau J, Hu F, Dawson-Hughes B. The Role of Vitamin D and Calcium in type 2 diabetes. A systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92:2017-2029.
- Podzimek S, Vondrackova L, Duskova J, Janatova T, Broukal Z. Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. *Disease Markers* 2016; 1-8.
- Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2006; 26:968-976.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-Reactive Protein, Interleukin 6, and Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of the American Medical Association*. 2001; 286:327-334.

- Prasad AS, Miale A, Farid Z, Sandstead HH, Schulert AR. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism, and hypogonadism. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1963; 61:537-549.
- Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *The Lancet* 2002; 360:1903-1913.
- Puttaswamy KA, Puttabudhi JH, Raju S. Correlation between Salivary Glucose and Blood Glucose and the Implications of Salivary Factors on the Oral Health Status in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry* 2017; 7:28-33.
- Quesada Gómez JM, Sosa Henríquez M. Nutrición y osteoporosis. Calcio y vitamina D. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* 2011; 4:165-182.
- Quilliot D, Dousset B, Guerci B, Dubois F, Drouin P, Ziegler O. Evidence That Diabetes Mellitus Favors Impaired Metabolism of Zinc, Copper, and Selenium in Chronic Pancreatitis. *Pancreas* 2001; 22:299-306.
- Rajeshwari SG, Choudhry AA, Gururaja A, Prabhu K. Correlation of Plasma Lipid Profile with Salivary Oxidative Stress Markers in Type II Diabetes Mellitus Patients. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 2014; 8:8-10.
- Ramos Ibarra ML, Batista González CM, Gómez Meda BC, Zamora Pérez AL. Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en salud* 2006; 8:7-15.
- Ravussin E, Swinburn BA. Pathophysiology of obesity. *The Lancet* 1992; 15: 404-408.
- Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *The New England Journal of Medicine* 1996; 334:374-381.
- Ribeiro-Filho FF, Faria AN, Kohlmann O, Ajzen S, Ribeiro AB, Zanella MT, Ferreira S. Ultrasonography for the Evaluation of Visceral Fat and Cardiovascular Risk. *Hypertension* 2001; 38:713-717.
- Rodríguez Flores C, Preciado Puga M, Wrobel K, Garay Sevilla M<sup>ª</sup>E, Wrobel K. Trace elements status in diabetes mellitus type 2: Possible role of the interaction between molybdenum and copper in the progress of typical complications. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2011; 91:333-341.

- Rodríguez-Rodríguez E, Perea JM, López-Sobaler AM, Ortega RM. Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutrición Hospitalaria* 2009; 24:415-421.
- Rosanoff A. Magnesium and hypertension. *Clinical Calcium* 2005; 15: 255-260.
- Roussel AM, Kerkeni A, Zouari N, Mahjoub S, Matheau JM, Anderson RA. Antioxidant Effects of Zinc Supplementation in Tunisians with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of the American College of Nutrition* 2003; 22:316-321.
- Rutter GA. Think zinc: New roles for zinc in the control of insulin secretion. *Islets* 2010; 2:49-50.
- Saari JT. Copper deficiency and cardiovascular disease: role of peroxidation, glycation, and nitration. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 2000; 78:848-855.
- Saigí I, Pérez A. Manejo de la hiperglucemia inducida por corticoides. *Revista Clínica Española* 2010; 210:397-403.
- Salonen J, Alfthan G, Huttunen J, Pikkarainen J, Puska P. Association Between Cardiovascular Death and Myocardial Infarction and Serum Selenium in a Matched-Pair Longitudinal Study. *The Lancet* 1982; 320:175-179.
- Sere day M, Damiano M, Lapertosa S. Complicaciones crónicas en personas con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico. *Endocrinología y Nutrición* 2008; 55:64-68.
- Shiraishi S, Ohta T, Fuse H, Yamada S, Takimoto I, Tsunasima I, Tsubouchi R, Haneda M, Shibata Y, Kotake Y. On the Concentration of Each Element, Zinc and Copper in Human Saliva Concerning the Taste Acuity. *Trace Nutrients Research* 1988; 127-132.
- Simić A, Hansen AF, Åsvold BO, Romundstad PR, Midthjell K, Syversen T, Flaten TP. Trace element status in patients with type 2 diabetes in Norway: The HUNT3 Survey. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2017; 41:91-98.
- Singh RB, Niaz MA, Rastogi SS, Bajaj S, Gaoli Z, Shoumin Z. Current Zinc Intake and Risk of Diabetes and Coronary Artery Disease and Factors Associated with Insulin Resistance in Rural and Urban Populations of North India. *Journal of the American College of Nutrition* 1998; 17:564-570.
- Soriano Perera P, De Pablos Velasco PL. Epidemiología de la diabetes mellitus. *Endocrinología y Nutrición* 2007; 54:2-7.

- Srinivasan M, Blackburn C, Mohamed M, Sivagami AV, Blum J. Literature-Based Discovery of Salivary Biomarkers for Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomarker Insights* 2015; 10:39-45.
- Srinivasan M, Blackburn C, Mohamed M, Sivagami AV, Blum J. Literature-Based Discovery of Salivary Biomarkers for Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomarker Insights* 2015; 10:39-45.
- Strimbu K, Tavel JA. What are Biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS* 2010; 5:463-466.
- Tamler J, Vaccaro O, Neator JD, Wentworth D. Diabetes other risk factor, and 12-year cardiovascular mortality for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Diabetes Care* 1993; 16:434-436.
- Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, Pellequer JL, Wasco W, Ross R, Romano DM, Parano E, Pavone L, Brzustowicz LM, Devoto M, Peppercorn J, Bush AI, Sternlieb I, Pirastu M, Gusella JF, Evgrafov O, Penschaszadeh GK, Honig B, Edelman IS, Soares MB, Scheinberg IH, Gilliam TC. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nature Genetics* 1993; 5:344-350.
- Terrés-Martos C, Navarro-Alarcón M, Marín –Lagos F, López-García De La Serrana H, Pérez-Valero V, López-Martínez MC. Serum Zinc and Copper Concentrations and Cu/Zn ratios in Patients with Hepatopathies or Diabetes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 1998; 12:44-49.
- Tirado Amador LR, González-Martínez FD, Martínez Hernández LJ, Wilches Vergara LA, Celedon-Suarez JN. Niveles de metales pesados en muestras biológicas y su importancia en salud. *Revista Nacional de Odontología* 2015; 11:83-98.
- Tóthová L, Kamodyová N, Červenka T, Celec P. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2015; 5:1-23.
- Ugalde Meza E. Perfil de la Salud Oral (OHIP-14) en pacientes de la Clínica U Dental, con base en la incapacidad psicológica según el sexo. *Revista electrónica de la Facultad de Odontología, ULACIT* 2014; 7:33-46.
- Umpierre D, Ribeiro PA, Kramer CK, Leitão CB, Zucatti AT, Azevedo MJ, Gross JL, Ribeiro JP, Schaan BD. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of American Medical Association* 2011; 305:1790-1799.

- Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine* 2005; 26:268-298.
- Vázquez San Miguel F. Manejo de la hiperglucemia secundaria al tratamiento con corticoides. *Avances en Diabetología* 2006; 22:194-199.
- Vinik AL, Mehrabyan a. Diabetic neuropathies. *The Medical clinics of North America* 2004; 88:947-999.
- Walsh LJ. Aspectos clínicos de biología salival para el Clínico Dental. *The Journal of Minimum Intervention in Dentistry* 2008; 1:5-23.
- Walter RM, Uriu-Hare JY, Lewis Olin K, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, Keen CL. Copper, Zinc, Manganese, and Magnesium Status and Complications of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1991; 14:1050-1056.
- Wan WM, Letchuman R, Novairi N, Ropilah AN. Systolic hypertension and duration of diabetic mellitus are important determinants of retinopathy and microalbuminuria in young diabetics. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1999; 46:213-221.
- Wang D, Du X, Zheng W. Alteration of saliva and serum concentrations of manganese, copper, zinc, cadmium and lead among career welders. *Toxicology Letters* 2008; 176:40-47.
- Willi C, Bodenmann P, Ghali WA, Faris PD, Cornuz J. Active Smoking and the Risk of Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of the American Medical Association* 2007; 298:2654-2664.
- Williams DM. Copper deficiency in humans. *Seminars in Hematology* 1983; 20:118-128.
- Yary T, Virtanen JK, Ruusunen A, Toumainen TP, Voutilainen S. Serum zinc and risk of type 2 diabetes incidence in men: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2016; 33:120-124.
- Zargar AH, Shah NA, Masoodi SR, Laway BA, Dar FA, Khan AR, Sofi FA, Wani AI. Copper, zinc and magnesium levels in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Postgraduate Medical Journal* 1998; 74:665-668.
- Zeballos López L, Alejo Limachi A. Magnesio, Cobalto y Molibdeno. *Revista de Actualización Clínica* 2014; 41:2160-2163.
- Zhang CZ, Cheng XQ, Li JY, Zhang P, Yi P, Xu Xin, Zhou XD. Saliva in the diagnosis of diseases. *International Journal of Oral Science* 2016; 8:133-137.

- Zheng Y, Li XK, Wang Y, Cai L. The Role of Zinc, Copper and Iron in the Pathogenesis of Diabetes and Diabetic Complications: Therapeutic Effects by Chelators. Hemoglobin 2008; 32:135-145.



## **8. ANEXOS**



## 8. ANEXOS.

### ANEXO 1

#### **DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA ASOCIACIÓN MÉDICA MUNDIAL**

Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y  
enmendada por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington  
2002

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008

64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013

#### **A. INTRODUCCIÓN**

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo debe ser aplicado con consideración de todos los otros párrafos pertinentes.
2. Conforme al mandato de la AMM, la Declaración está destinada principalmente a los médicos. La AMM insta a otros involucrados en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.

## **B. PRINCIPIOS GENERALES**

3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica".
4. El deber del médico es promover y velar por la salud, bienestar y derechos de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos.
6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones probadas deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.
7. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales.
8. Aunque el objetivo principal de la investigación médica es generar nuevos conocimientos, este objetivo nunca debe tener primacía sobre los derechos y los intereses de la persona que participa en la investigación.
9. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.
11. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente.
12. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la educación, formación y calificaciones científicas y éticas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente.
13. Los grupos que están subrepresentados en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.
14. El médico que combina la investigación médica con la atención médica debe involucrar a sus pacientes en la investigación sólo en la medida en que esto acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.
15. Se debe asegurar compensación y tratamiento apropiados para las personas que son dañadas durante su participación en la investigación.

### **C. RIESGOS, COSTOS Y BENEFICIOS**

16. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo y los costos para la persona que participa en la investigación.
17. Toda investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y los grupos que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o grupos afectados por la enfermedad que se investiga. Se deben implementar medidas para reducir al mínimo los riesgos. Los riesgos deben ser monitoreados, evaluados y documentados continuamente por el investigador.
18. Los médicos no deben involucrarse en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Cuando los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados definitivos, los médicos deben evaluar si continúan, modifican o suspenden inmediatamente el estudio.

### **D. GRUPOS Y PERSONAS VULNERABLES**

19. Algunos grupos y personas sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y pueden tener más posibilidades de sufrir abusos o daño adicional. Todos los grupos y personas vulnerables deben recibir protección específica.
20. La investigación médica en un grupo vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades o prioridades de salud de este grupo y la investigación no puede realizarse en un grupo no vulnerable.

Además, este grupo podrá beneficiarse de los conocimientos, prácticas o intervenciones derivadas de la investigación.

#### **E. REQUISITOS CIENTÍFICOS Y PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN**

21. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

22. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos deben describirse claramente y ser justificados en un protocolo de investigación. El protocolo debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración.

El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y la información sobre las estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación.

En los ensayos clínicos, el protocolo también debe describir los arreglos apropiados para las estipulaciones después del ensayo.

## **F. COMITÉS DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN**

23. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación al comité de ética de investigación pertinente antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser transparente en su funcionamiento, debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida y debe estar debidamente calificado. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración.

El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ninguna enmienda en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité. Después que termine el estudio, los investigadores deben presentar un informe final al comité con un resumen de los resultados y conclusiones del estudio.

## **G. PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD**

24. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal.

## **H. CONSENTIMIENTO INFORMADO**

25. La participación de personas capaces de dar su consentimiento informado en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona capaz de dar su consentimiento informado debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

26. En la investigación médica en seres humanos capaces de dar su consentimiento informado, cada participante potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento, estipulaciones post estudio y todo otro aspecto pertinente de la investigación. El participante potencial debe ser informado del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada participante potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información.

Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

Todas las personas que participan en la investigación médica deben tener la opción de ser informadas sobre los resultados generales del estudio.

27. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el participante potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

28. Cuando el participante potencial sea incapaz de dar su consentimiento informado, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud del grupo representado por el participante potencial y esta investigación no puede realizarse en personas capaces de dar su consentimiento informado y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.
29. Si un participante potencial que toma parte en la investigación considerado incapaz de dar su consentimiento informado es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del participante potencial debe ser respetado.
30. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria del grupo investigado. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe afectar de manera adversa la relación médico-paciente.
32. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, como la investigación sobre material o datos contenidos en biobancos o depósitos similares, el médico debe pedir el consentimiento informado para la recolección, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones excepcionales en las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

#### **I. USO DEL PLACEBO**

33. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con las mejores intervenciones probadas, excepto en las siguientes circunstancias:

Cuando no existe una intervención probada, el uso de un placebo, o ninguna intervención, es aceptable; o cuando por razones metodológicas científicamente sólidas y convincentes, sea necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención el uso de cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el uso de un placebo o ninguna intervención.

Los pacientes que reciben cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el placebo o ninguna intervención, no correrán riesgos adicionales de daño grave o irreversible como consecuencia de no recibir la mejor intervención probada.

Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

**J. ESTIPULACIONES POST ENSAYO**

34. Antes del ensayo clínico, los auspiciadores, investigadores y los gobiernos de los países anfitriones deben prever el acceso post ensayo a todos los participantes que todavía necesitan una intervención que ha sido identificada como beneficiosa en el ensayo. Esta información también se debe proporcionar a los participantes durante el proceso del consentimiento informado.

**K. INSCRIPCIÓN Y PUBLICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS**

35. Todo estudio de investigación con seres humanos debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

36. Los investigadores, autores, auspiciadores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación y difusión de los resultados de su investigación. Los investigadores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Todas las partes deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

**L. INTERVENCIONES NO PROBADAS EN LA PRÁCTICA CLÍNICA**

37. Cuando en la atención de un enfermo las intervenciones probadas no existen u otras intervenciones conocidas han resultado ineficaces, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Tales intervenciones deben ser investigadas posteriormente a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

**ANEXO 2:**

UNIVERSIDAD DE  
MURCIA | Vicerrectorado de  
Investigación

**CEI** Comisión de  
Ética de  
Investigación

**cmn**  
CAMPUS MARE NOSTRUM

**INFORME DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE MURCIA**

Jaime Peris Riera, Catedrático de Universidad y Secretario de la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia

**CERTIFICA:**

Que D<sup>a</sup>. María Pía López Jornet ha presentado el proyecto de investigación titulado "*Estudio y características clínicas orales y salivales en pacientes diabéticos*", a la Comisión de Ética de Investigación de la Universidad de Murcia.

Que dicha Comisión analizó toda la documentación presentada, y de conformidad con lo acordado el día 16 de octubre de 2014<sup>1</sup>, por unanimidad, se emite INFORME FAVORABLE.

Y para que conste y tenga los efectos que correspondan, firmo esta certificación, con el visto bueno del Presidente de la Comisión, en Murcia a 16 de octubre de 2014.

Vº Bº  
EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN  
DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN  
DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA

  
Fdo.: Antonio Juan García Fernández



<sup>1</sup> A los efectos de lo establecido en el art. 27.5 de la Ley 30/1992 de 26 de noviembre de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del P.A.C. (B.O.E. 27-11), se advierte que el acta de la sesión citada está pendiente de aprobación

**ANEXO 3**

**CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS (CRD). GRUPO DE PACIENTES.**



UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

**ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA Y PLASMA Y SU RELACIÓN CON  
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN DIABETES  
MELLITUS TIPO 2.**

**CÓDIGO PACIENTE**

**INICIALES PACIENTE**

**Nombre:**

**Primer apellido:**

**Segundo apellido:**

**CÓDIGO PACIENTE**

**INICIALES PACIENTE**

**VISITA:**

Fecha de la visita: ...../...../.....

**DATOS DEL PACIENTE**

Edad: .....Años

Sexo:1: Masculino

2: Femenino

Fecha de nacimiento: ...../...../.....

Nº de Historia clínica:

**CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Paciente mayor de 18 años:    SÍ    NO
- Diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 de más de tres meses de evolución:    SÍ    NO
- Consentimiento informado escrito antes de participar en el estudio:    SÍ    NO

**CRITERIOS EXCLUSIÓN**

- Pacientes que han recibido tratamiento sistémico reciente con corticoides, ciclosporina u otros inmunosupresores en el último mes    SÍ    NO
- Embarazo o lactancia    SÍ    NO
- No firmar el consentimiento informado    SÍ    NO

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

¿Ha leído el paciente la hoja de “Información al paciente” y ha dado su consentimiento por escrito para participar en el estudio?    SÍ    NO

El paciente ha recibido la hoja de información general

con fecha ...../...../.....

---

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

---

DECLARO BAJO MI RESPONSABILIDAD:

Que he sido correctamente informado de la naturaleza y el propósito del ESTUDIO que seré sometido, cuyo objetivo es el estudio de pacientes diabéticos tipo 2, que forma parte del proyecto de investigación con título,

**“Elementos traza en saliva y plasma y su relación con factores de riesgo cardiovascular en diabetes mellitus tipo 2”**

así como los riesgos que pueden existir en el mismo.

Que no padezco ninguna enfermedad que no haya declarado.

Que acepto y autorizo la realización de los exámenes complementarios necesarios: ANALÍTICA SANGUÍNEA (bioquímica, hemograma y elementos traza) y ANÁLISIS SALIVAL (elementos traza), toma de medidas antropométricas, así como las encuestas de bienestar y salud.

Que autorizo la utilización del material de mi examen para que se utilice de manera ANÓNIMA en la enseñanza, investigación o publicación científica.

Que doy mi consentimiento explícito para que mis datos sean incluidos en un fichero que estará sometido a la Ley 15/1999 del 13 de Diciembre con todas las garantías derivadas de la misma.

Y para que así conste a todos los efectos.

Cartagena,.....de.....de.....

Fdo.:.....

**CÓDIGO PACIENTE****INICIALES PACIENTE****Enfermedades sistémicas y orales:****Tratamiento actual:****Hipertensión:** Sí NO**Tabaco:** Sí Nº cigarrillos /día No Ex fumador**Consumo de Alcohol:**>11,5g/día (0 puntos); 1,5 a 11,5 g/día (1 punto); <1,5 g/día (2 puntos)**Ejercicio físico:** NUNCA EVENTUAL REGULAR**Tiempo de evolución de Diabetes Mellitus tipo 2:****Tratamiento Diabetes Mellitus:** ADOs / ADOs + insulina / Insulinoterapia / Análogos de GLP-1.**Observaciones:****Ingresos previos por descompensación diabética:** Sí No**Complicaciones crónicas asociadas a la diabetes:** Sí No**Dieta de diabético:** Sí No**Observaciones:****Talla:****Peso:****IMC:****Perímetro abdominal:****Tensión arterial:**

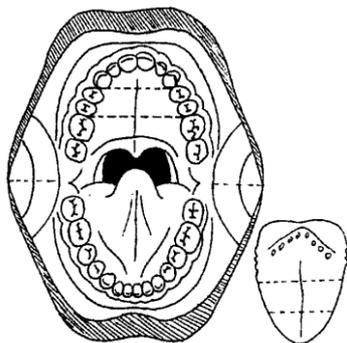
CUMPLE CRITERIOS DE SD. METABÓLICO: SÍ NO.

**AFECTACIÓN ORAL:**

	Sí	No
Lesiones mucosas		
Prótesis removible metálica		
Corona		
Boca séptica		

**Observaciones:**

Dientes ausentes en arcada superior:



Dientes ausentes en arcada inferior:

**Índice de O'Leary:**

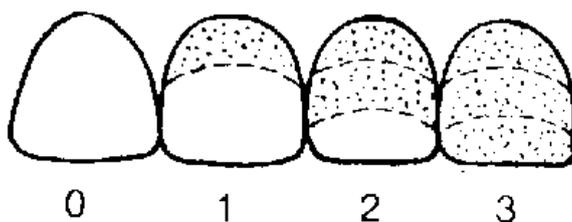
**- Depósitos Blandos:**

0 → No hay depósitos ni pigmentaciones.

1 → Existen depósitos en no más del 1/3, o no hay pigmentación.

2 → Existen depósitos que cubren más del 1/3, pero menos que 2/3.

3 → Los depósitos cubren más de 2/3 de la superficie dentaria.



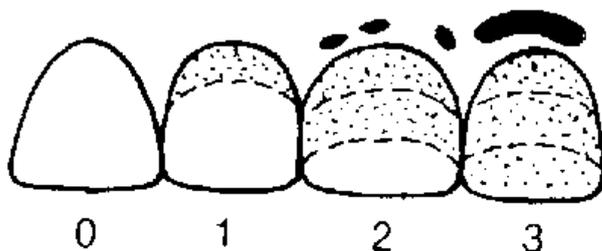
**-Depósitos Duros:**

0 → No hay tártaro.

1 → Tártaro supragingival no es más de 1/3.

2 → Tártaro supragingival cubre más de 1/3, pero no más de 2/3 (es típico en molares superiores).

3 → Cubre más de 2/3 o existe banda de tártaro subgingival que rodea la porción cervical del diente (más típico en piezas anteroinferiores por la salida de la Gl. Submaxilar).

**Cuestionario de calidad de vida en diabetes.**

Versión en español modificada del Diabetes Quality of Life Questionnaire (EsDQL):

Nada: 0 / Poco: 1 / Algo: 2 / Bastante: 3 / Mucho: 4

**Satisfacción**

1. ¿Está usted satisfecho con la cantidad de tiempo que tarda en controlar su diabetes?
2. ¿Está usted satisfecho con la cantidad de tiempo que ocupa en revisiones?
3. ¿Está usted satisfecho con el tiempo que tarda en determinar su nivel de azúcar?
4. ¿Está usted satisfecho con su tratamiento actual?
5. ¿Está usted satisfecho con la flexibilidad que tiene en su dieta?
6. ¿Está usted satisfecho con la carga que supone su diabetes en su familia?
7. ¿Está usted satisfecho con su conocimiento sobre la diabetes?
8. ¿Está usted satisfecho con su sueño?
9. ¿Está usted satisfecho con sus relaciones sociales y amistades?
10. ¿Está usted satisfecho con su vida sexual?
11. ¿Está usted satisfecho con sus actividades en el trabajo, colegio u hogar?
12. ¿Está usted satisfecho con la apariencia de su cuerpo?
13. ¿Está usted satisfecho con el tiempo que emplea haciendo ejercicio?
14. ¿Está usted satisfecho con su tiempo libre?
15. ¿Está usted satisfecho con su vida en general?

**Nunca: 0 / Rara vez: 1 / Ocasionalmente: 2 / Bastantes veces: 3 / Muchas veces: 4.**

***Impacto***

16. ¿Con qué frecuencia siente dolor asociado con el tratamiento de su diabetes?
17. ¿Con qué frecuencia se siente avergonzado por tener que tratar su diabetes en público?
18. ¿Con qué frecuencia se siente físicamente enfermo?
19. ¿Con qué frecuencia su diabetes interfiere en su vida familiar?
20. ¿Con qué frecuencia tiene problemas para dormir?
21. ¿Con qué frecuencia encuentra que su diabetes limita sus relaciones sociales y amistades?
22. ¿Con qué frecuencia se siente restringido por su dieta?
23. ¿Con qué frecuencia su diabetes interfiere en su vida sexual?
24. ¿Con qué frecuencia su diabetes le impide conducir o usar una máquina (p. ej. máquina de escribir)?
25. ¿Con qué frecuencia su diabetes interfiere en la realización de ejercicio?
26. ¿Con qué frecuencia abandona sus tareas en el trabajo, colegio o casa por su diabetes?
27. ¿Con qué frecuencia se encuentra usted mismo explicándose qué significa tener diabetes?
28. ¿Con qué frecuencia cree que su diabetes interrumpe sus actividades de tiempo libre?
29. ¿Con qué frecuencia bromean con usted por causa de su diabetes?
30. ¿Con qué frecuencia siente que por su diabetes va al cuarto de baño más que los demás?
31. ¿Con qué frecuencia come algo que no debe antes de decirle a alguien que tiene diabetes?
32. ¿Con qué frecuencia esconde a los demás el hecho de que usted está teniendo una reacción insulínica?

***Preocupación: social/vocacional***

33. ¿Con qué frecuencia le preocupa si se casará?
34. ¿Con qué frecuencia le preocupa si tendrá hijos?
35. ¿Con qué frecuencia le preocupa si conseguirá el trabajo que desea?
36. ¿Con qué frecuencia le preocupa si le será denegado un seguro?
37. ¿Con qué frecuencia le preocupa si será capaz de completar su educación?
38. ¿Con qué frecuencia le preocupa si perderá el empleo?
39. ¿Con qué frecuencia le preocupa si podrá ir de vacaciones o de viaje?

***Preocupación: relacionada con la diabetes***

- 40. ¿Con qué frecuencia le preocupa si perderá el conocimiento?
- 41. ¿Con qué frecuencia le preocupa que su cuerpo parezca diferente a causa de su diabetes?
- 42. ¿Con qué frecuencia le preocupa si tendrá complicaciones debidas a su diabetes?
- 43. ¿Con qué frecuencia le preocupa si alguien no saldrá con usted a causa de su diabetes?

**OHIP-14**

Spanish version of the Oral Health Impact Profile (OHIP-sp)

<b>Nunca</b>	<b>0 ptos.</b>
<b>Rara vez</b>	<b>1 pto.</b>
<b>Ocasionalmente</b>	<b>2 ptos.</b>
<b>Bastantes veces</b>	<b>3 ptos.</b>
<b>Muchas veces</b>	<b>4 ptos.</b>

**Limitación funcional**

1. Problemas al pronunciar correctamente.

2. Sensación de mal sabor.

**Dolor físico**

3. Sensación de molestia o dolor.

4. Incomodidad a la hora de comer.

**Malestar psicológico**

5. Timidez.

6. Preocupación.

**Incapacidad física**

7. Insatisfacción con la alimentación que lleva.

8. Interrupción de comidas.

<b>Incapacidad psicológica</b>
9. Tensión o ansiedad.
10. Vergüenza o lástima.
<b>Incapacidad social</b>
11. Susceptibilidad/ Irritabilidad con los demás.
12. Alteración de sus tareas/ ocupaciones habituales.
<b>En desventaja</b>
13. Sensación de tener una vida menos satisfactoria.
14. Totalmente incapaz de llevar una vida normal.
<b>NOTA: Cuestión añadida.</b>
15. Sensación de boca seca.

**ANEXO 4****CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS (CRD). GRUPO CONTROL.**

UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

**ELEMENTOS TRAZA EN SALIVA Y PLASMA Y SU RELACIÓN CON  
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN DIABETES  
MELLITUS TIPO 2.**

**CÓDIGO CONTROL**

**INICIALES CONTROL**

**Nombre:**

**Primer apellido:**

**Segundo apellido:**

**CÓDIGO CONTROL**

**INICIALES CONTROL**

**VISITA:**

Fecha de la visita: ...../...../.....

**DATOS DEL CONTROL**

Edad: .....Años

Sexo:1: Masculino

2: Femenino

Fecha de nacimiento: ...../...../.....

Nº de Historia clínica:

**CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Mayor de 18 años:    Sí    NO
- Consentimiento informado escrito antes de participar en el estudio:    Sí    NO

**CRITERIOS EXCLUSIÓN**

- Haber recibido tratamiento sistémico reciente con corticoides, ciclosporina u otros inmunosupresores en el último mes    Sí    NO
- Embarazo o lactancia    Sí    NO
- No firmar el consentimiento informado    Sí    NO
- Diagnóstico de diabetes mellitus, glucemia basal alterada o intolerancia a los hidratos de carbono    Sí    NO
- Patología neoplásica o infecciosa activa.    Sí    NO

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

¿El sujeto control ha leído la hoja de “Información al participante” y ha dado su consentimiento por escrito para participar en el estudio?    Sí    NO

El sujeto control ha recibido la hoja de información general

con fecha ...../...../.....

---

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

---

DECLARO BAJO MI RESPONSABILIDAD:

Que he sido correctamente informado de la naturaleza y el propósito del ESTUDIO que seré sometido, cuyo objetivo es el estudio de pacientes diabéticos tipo 2, que forma parte del proyecto de investigación con título,

**“Elementos traza en saliva y plasma y su relación con factores de riesgo cardiovascular en diabetes mellitus tipo 2”**

así como los riesgos que pueden existir en el mismo.

Que no padezco ninguna enfermedad que no haya declarado.

Que acepto y autorizo la realización de los exámenes complementarios necesarios: ANÁLISIS SALIVAL (elementos traza), toma de medidas antropométricas y las encuestas de bienestar y salud.

Que autorizo la utilización del material de mi examen para que se utilice de manera ANÓNIMA en la enseñanza, investigación o publicación científica.

Que doy mi consentimiento explícito para que mis datos sean incluidos en un fichero que estará sometido a la Ley 15/1999 del 13 de Diciembre con todas las garantías derivadas de la misma.

Y para que así conste a todos los efectos.

Cartagena,.....de.....de.....

Fdo.:.....

**CÓDIGO CONTROL**

**INICIALES CONTROL**

**Enfermedades sistémicas y orales:**

**Tratamiento actual:**

**Antecedentes familiares de diabetes/prediabetes:**

**Tabaco:** Sí      Nº cigarrillos /día      No      Ex fumador

**Consumo de Alcohol:**>11.5g/día (0 puntos); 1,5 a 11,5 g/día (1 punto); <1,5 g/día (2 puntos)

**Ejercicio físico:** NUNCA      EVENTUAL      REGULAR

**Observaciones:**

**Talla:**

**Peso:**

**IMC:**

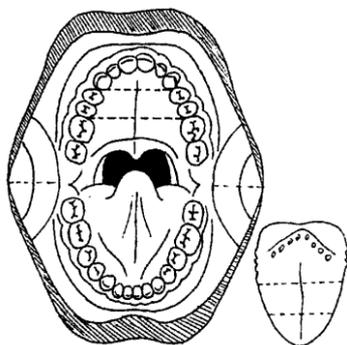
**Perímetro abdominal:**

**AFECTACIÓN ORAL:**

	Sí	No
Lesiones mucosas		
Prótesis removible metálica		
Corona		
Boca séptica		

**Observaciones:**

Dientes ausentes en arcada superior:



Dientes ausentes en arcada inferior:

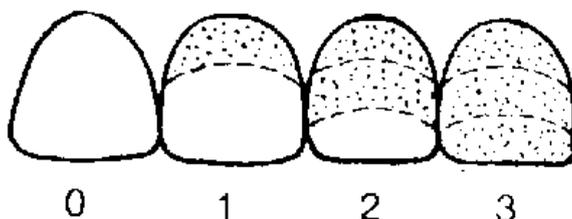
**Índice de O'Leary:****- Depósitos Blandos:**

0 → No hay depósitos ni pigmentaciones.

1 → Existen depósitos en no más del 1/3, o no hay pigmentación.

2 → Existen depósitos que cubren más del 1/3, pero menos que 2/3.

3 → Los depósitos cubren más de 2/3 de la superficie dentaria.



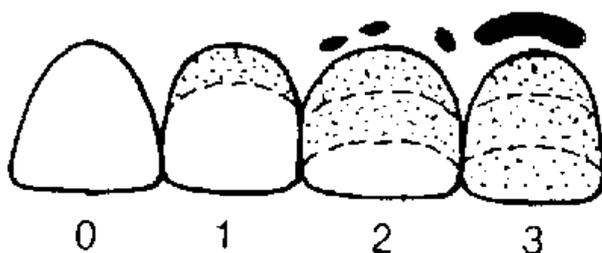
**-Depósitos Duros:**

0 → No hay tártaro.

1 → Tártaro supragingival no es más de 1/3.

2 → Tártaro supragingival cubre más de 1/3, pero no más de 2/3 (es típico en molares superiores).

3 → Cubre más de 2/3 o existe banda de tártaro subgingival que rodea la porción cervical del diente (más típico en piezas anteroinferiores por la salida de la Gl. Submaxilar).



**OHIP-14**

Spanish version of the Oral Health Impact Profile (OHIP-sp)

<b>Nunca</b>	<b>0 ptos.</b>
<b>Rara vez</b>	<b>1 pto.</b>
<b>Ocasionalmente</b>	<b>2 ptos.</b>
<b>Bastantes veces</b>	<b>3 ptos.</b>
<b>Muchas veces</b>	<b>4 ptos.</b>

**Limitación funcional**

1. Problemas al pronunciar correctamente.
2. Sensación de mal sabor.

**Dolor físico**

3. Sensación de molestia o dolor.
4. Incomodidad a la hora de comer.

**Malestar psicológico**

5. Timidez.
6. Preocupación.

**Incapacidad física**

7. Insatisfacción con la alimentación que lleva.
8. Interrupción de comidas.

<b>Incapacidad psicológica</b>
9. Tensión o ansiedad.
10. Vergüenza o lástima.
<b>Incapacidad social</b>
11. Susceptibilidad/ Irritabilidad con los demás.
12. Alteración de sus tareas/ ocupaciones habituales.
<b>En desventaja</b>
13. Sensación de tener una vida menos satisfactoria.
14. Totalmente incapaz de llevar una vida normal.
<b>NOTA: Cuestión añadida.</b>
15. Sensación de boca seca.