



Niveles de glucosa en saliva y sangre de niños y adolescentes con Diabetes Mellitus tipo 1

*Ninoska Viera¹, Thais Morales-Rojas¹, Alejandra Morón-Medina¹,
María Fernanda García², Joalice Villalobos³*

¹*Instituto de Investigaciones. Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia.
Maracaibo, Venezuela.*

³*Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo.*

Resumen

Objetivo: Comparar los niveles de glucosa en sangre y saliva en niños y adolescentes con Diabetes Mellitus tipo 1 (DMT1) y sujetos sanos. **Métodos:** Se realizó un ensayo clínico controlado-aleatorio. La muestra estuvo conformada por 40 pacientes con DMT1 que acudieron a la Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo; agrupados según el tiempo de diagnóstico que presentaran al momento del estudio: G₁ con 0-5 años; G₂ con 5 a más años. El grupo control estuvo conformado por 20 niños sistémicamente sanos que asistieron a la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia. Se tomaron muestras de sangre periférica y saliva no estimulada. La glucosa se determinó a través del método enzimático de glucosa oxidasa y la Tasa de Flujo Salival (TFS) se expresó en ml/min. **Resultados:** Al comparar los niveles de glucosa en sangre y saliva de pacientes con DMT1 y sujetos sanos se evidenció diferencias significativas $p < 0.001$. Los sujetos sanos presentaron mayor TFS y al compararlos con G₁ se observó una diferencia estadísticamente significativa $p < 0.01$. **Conclusiones:** Los niveles de glucosa obtenidos en los fluidos corporales evaluados entre los grupos estudiados, evidenciaron que la saliva no puede ser empleada para la determinación de glucosa en pacientes con DMT1.

Palabras clave: Diabetes Mellitus tipo 1, glucosa, TFS, sangre, saliva, niños, adolescentes.

Glucose Levels in Saliva and Blood of Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus

Abstract

Objective: To compare blood and saliva glucose levels in children and adolescents with type 1 Diabetes Mellitus (T1DM) and healthy subjects. **Methods:** A clinical, randomized controlled trial was conducted. The sample consisted of 40 patients with T1DM who attended the Pediatric Specialty Hospital of Maracaibo, grouped according to the time from moment of diagnosis to the time of this study: G¹ with 0 -5 years and G² with 5 or more years. The control group consisted of 20 systemically healthy children, treated at the School of Dentistry, University of Zulia. Samples of peripheral blood and unstimulated saliva were taken. Glucose was determined by the enzymatic method of glucose oxidase, and Salivary Flow Rate (SFR) was expressed in mL/min. **Results:** Comparing glucose levels in the blood and saliva of patients with T1DM and healthy subjects showed significant differences $p < 0.001$. The healthy subjects showed higher SFR, and when compared with G¹, a statistically significant difference, $p < 0.01$, was in evidence. **Conclusions:** The glucose levels obtained in corporal fluids evaluated from the studied groups showed that saliva cannot be used to determine glucose in patients with DMT1.

Keywords: type 1 Diabetes mellitus, glucose, SFR, blood, saliva, children, adolescents.

Introducción

La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1) conocida anteriormente como diabetes insulino-dependiente, es caracterizada por una deficiencia progresiva en la producción de insulina, causando hiperglicemia, así como también desórdenes proteicos y fallas en el metabolismo. En esta entidad, el hallazgo más importante es la presencia de infiltrado inflamatorio mononuclear en los Islotes de Langerhans a nivel pancreático, lo que sugiere un mecanismo inmunitario en la destrucción de células beta productoras de insulina, lo cual se traduce en un déficit absoluto de esta hormona y dependencia vital a la insulina exógena^{1,2}. Una prueba que documenta el control metabólico de esta enfermedad es la determinación de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en san-

gre periférica, la cual no es útil en los procesos de monitoreo en casos de descontrol agudo.

Los síntomas de esta enfermedad pueden aparecer bruscamente o puede transcurrir de meses a años². A nivel de la cavidad oral se pueden observar con mayor frecuencia alteraciones cualitativas y cuantitativas a nivel del flujo salival, cambios en la mucosa bucal como la candidiasis y daños en los tejidos periodontales, entre otros^{3,4}.

La saliva es una secreción compleja compuesta por 99% de agua y una variedad de proteínas, enzimas, electrolitos, inmunoglobulinas, mucinas, restos celulares, bacterias no patógenas propias de la cavidad oral, estos componente pueden llegar a la cavidad oral desde el suero o atravesando las barreras de los capilares, los espacios intersticiales y las membranas de las células acinares y ductuales

de las glándulas salivales o bien, a través del fluido crevicular⁵.

Otro de los componentes que podemos encontrar en la saliva es la glucosa, la cual se presenta en una concentración de 0.5 a 1 mg/dL, ésta aumenta principalmente después de la ingesta de comidas y bebidas, así como también, dependerá de la concentración que se presente en sangre, esto particularmente puede ser observado en individuos con diabetes⁶⁻⁸.

La tasa de flujo salival (TFS), es el volumen de saliva secretado por minuto, el rango normal de TSF no estimulada, es alrededor de 0.1 mL/min y para saliva estimulada donde se emplean métodos estimulantes directos en las glándulas salivales es de 0.2 mL/min; por tanto los valores diarios oscilan entre 1 y 1.5 litros en personas sanas^{9,10}.

Varios factores pueden influir en la TFS, los cuales varían entre los individuos y en el mismo individuo bajo circunstancias diferentes, entre estos podemos mencionar grado de hidratación individual, ritmo circadiano, hábito de fumar, medicamentos, ejercicio físico, alcohol, edad, sexo y enfermedades sistémicas crónicas y nutricionales tales como la pancreatitis, insuficiencia renal, anorexia, bulimia, enfermedad celiaca y diabetes mellitus, disminuyen la secreción salival^{6, 11, 12}.

En la última década, la saliva ha sido utilizada como muestra biológica para la detección de diversos parámetros clínicos¹, es decir, como medio diagnóstico de determinadas patologías, debido a que como otros fluidos orales se ha demostrado que es un reflejo completo de los estados normales o de enfermedad del organismo incluyendo estado hormonal, inmunológico, neurológico, nutricional, concentraciones de moléculas del metabolismo y de sustancias introducidas en el organismo con fines terapéuticos o sustancias de abuso¹³.

Dada la disparidad que existe en la literatura hasta el momento, en relación a la muestra de saliva como fluido corporal para la detección de glucosa, el presente trabajo tiene como objetivo comparar los niveles de glucosa en saliva no estimulada con los niveles de glucosa en sangre de niños y adolescentes con DMT1 y en niños sanos, con el propósito de evidenciar si la saliva puede ser empleada como medio diagnóstico de la DMT1.

Métodos

Pacientes

La muestra estuvo conformada por 40 niños y adolescentes en edades comprendidas entre 4 y 19 años con DMT1 que acudieron a la Unidad Endocrino Metabólica de la Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo, los cuales fueron seleccionados aleatoriamente y divididos en 2 grupos según el tiempo de diagnóstico, el primer grupo (G₁) conformado por 18 pacientes entre 0 a 5 años de haber sido diagnosticados con DMT1 y el segundo grupo (G₂) de 5 o más años de diagnóstico con DMT1 conformado por 22 pacientes.

Como criterio de inclusión para el grupo experimental, se consideró pacientes con diagnóstico de DMT1 según la Clasificación de la Asociación Americana de la Diabetes (ADA) 2013¹⁴, y como criterios de exclusión: Sujetos que presentaron condiciones orales inadecuadas, caries activas y procesos periodontales severos; sujetos que presenten alguna otra alteración metabólica y sujetos que presenten algún compromiso sistémico diferente a DMT1.

El grupo control estuvo constituido por 20 niños sistémicamente sanos con edades comprendidas entre los 4 a 19 años que asistieron al Centro Integral de Atención al Niño y Adolescente (CIAN) de la Facultad de Odontología de la Universidad del Zulia. Para ser

incluido en el estudio a cada sujeto se le realizó chequeo médico previo, para verificar el estado de salud. Como criterio de exclusión se consideraron: Sujetos que presentaron condiciones orales inadecuadas: caries activas y procesos periodontales severos y sujetos que presenten algún compromiso sistémico.

En ambos casos, los pacientes que fueron incluidos en el estudio luego de la autorización y firma del consentimiento informado por parte de su representante legal, una vez explicado el propósito del estudio. Este trabajo fue sometido al comité de ética de la Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo (FHEP) de acuerdo a la declaración de Helsinki relacionada con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos¹⁵.

Diseño experimental

Se realizó un ensayo clínico aleatorio-controlado. Las determinaciones de glucosa se realizaron en muestras de sangre y saliva en ayunas a primeras horas de la mañana tanto en el grupo experimental como para el grupo control.

Evaluación Clínica

La evaluación clínica fue realizada por un odontólogo, debidamente entrenado y calibrado en la detección de signos y síntomas de la caries dental y de la enfermedad periodontal. Todas las evaluaciones, se llevaron a cabo después de la higiene oral. Los exámenes clínicos se realizaron con los pacientes acostados, se utilizó una lámpara frontal de luz halógena y un espejo bucal plano. La confiabilidad intra examinador para el índice gingival (IG) fue medida a través del coeficiente de Kappa (0.89).

Recolección de muestras de suero para la determinación de glucosa

Se tomaron muestras de sangre periférica a través de la punción de la vena basilica me-

dia luego de asepsia de la zona, utilizando sistema Vacutainer®, sin anticoagulante. Se obtuvo alrededor de 5 ml de sangre periférica. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente por 15 minutos, luego se centrifugaron a 15.000 rpm por 10 minutos a 4°C, la fracción sérica se aspiró con una pipeta Pasteur y fueron almacenadas a -20°C durante 15 días¹⁶.

Recolección de muestras de sangre periférica total para determinar los niveles de hemoglobina glicosilada

Se tomaron muestras de sangre periférica a través de la punción de la vena basilica media luego de asepsia de la zona, utilizando sistema Vacutainer® con EDTA. Se obtuvo alrededor de 5 ml de sangre periférica, las muestras fueron procesadas el mismo día después de su obtención.

Recolección de muestras de saliva

Se recolectaron 3 ml de saliva total no estimulada en un envase estéril e inmediatamente se transportó en hielo hasta el laboratorio, posteriormente se centrifugo a 15000 rpm durante 15 minutos a 4°C y el sobrenadante se trasvasó a otro tubo estéril para determinar los niveles de glucosa.

Determinación de la Tasa de flujo Salival

La saliva total no estimulada se recolectó a la misma hora durante todo el periodo experimental, entre 7:00 y 9:00 a.m. Se les informó al paciente y al representante que no debía ingerir ningún tipo de alimento por lo menos 2 horas antes de la hora fijada para la toma de la muestra. Para determinar la tasa de flujo salival (TFS) se midió el tiempo durante la recolección de 3ml de saliva y se expresó en mL/min. Considerando como referencia el valor obtenido en el grupo control.

Determinación de Glucosa

Para la determinación de los niveles de glucosa en las muestras de saliva y sangre del grupo experimental y del grupo control, se utilizó el ensayo enzimático de glucosa oxidasa (Accunline plus- Diagno Lab S.A. de C.V.), a través del equipo BT 3000 Analizador de química^{17,18}.

Determinación de la Hemoglobina Glicosilada

La hemoglobina glicosilada en la sangre de los pacientes con diabetes tipo 1, se determinó a través del test NycoCard Hb A1c¹⁹.

Análisis Estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa GraphPad InStat versión 3.05 y Graph Pad 4 para la representación gráfica. Se realizaron pruebas no paramétricas utilizando la prueba *t* de Students no pareada y Anova para la comparación entre los grupos. Se consideraron diferencias estadísticamente significativa los valores de $p < 0.05$.

Resultados

Al determinar en los grupos G_1 y G_2 las concentraciones de glucosa en sangre y en saliva se observó una mayor concentración de glucosa en sangre al compararla con los niveles obtenidos en saliva, encontrando una diferencia estadísticamente significativa en ambos grupos (Figura 1).

En cuanto a los niveles de glucosa en el grupo de sujetos sanos (Figura 2), se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos fluidos corporales.

Al comparar los niveles de glucosa en sangre en los diferentes grupos de estudio, se pudo evidenciar una diferencia estadísticamente significativa entre el G_1 , G_2 y los sujetos sanos (Figura 3); mientras que los valores de

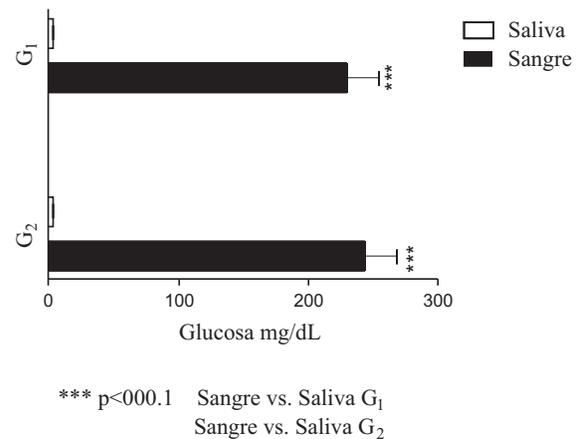


Figura 1. Concentraciones de glucosa en sangre vs saliva de pacientes diabéticos según el tiempo de diagnóstico.

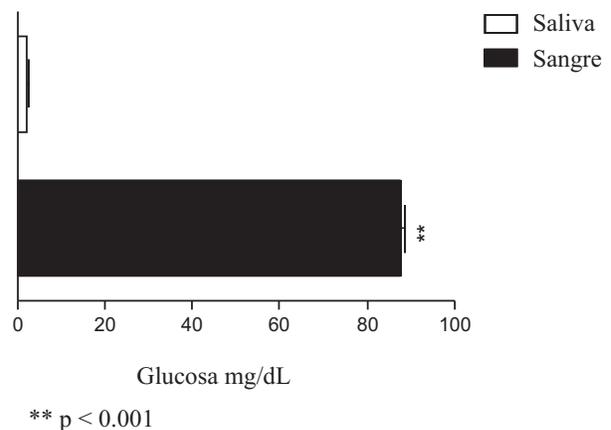


Figura 2. Niveles de glucosa en sangre vs saliva de sujetos sanos.

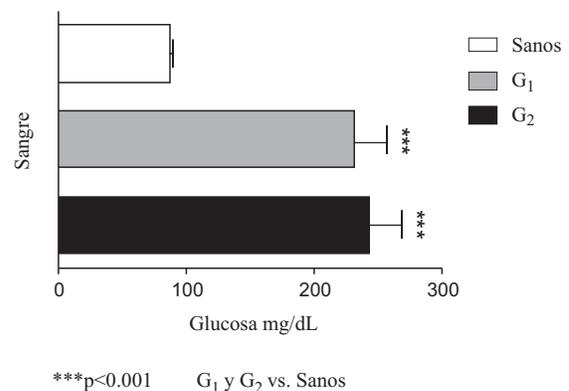


Figura 3. Niveles de glucosa en sangre de paciente diabéticos y sujetos sanos.

glucosa en saliva fueron menores en los diferentes grupos de estudios en comparación a la sanguínea (Figura 4).

En relación a la TSF, se observó menor flujo salival en G₁ en relación al G₂, sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En cuanto a los sujetos sanos se evidencio mayor flujo salival y al compararlos con el G₁ se observó una diferencia estadísticamente significativa (Figura 5).

Finalmente, en nuestro estudio todos los pacientes evaluados con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 presentaron un inadecuado control metabólico es decir una HbA1c por encima de 7% (Tabla 1).

Discusión

En cuanto a los hallazgos encontrados en nuestro estudio en relación a las concentraciones de glucosa en sangre y en saliva de pacientes diabéticos con diferentes tiempos de diagnóstico coinciden con lo reportado por Ben-Aryeh, H y col.²⁰ quienes evidenciaron que los niveles de glucosa en saliva no dependen de los niveles de glucosa en sangre. Sin embargo, Belazi y col.²¹, evidenciaron que altos niveles de glucosa en sangre en pacientes diabéticos pueden incrementar los niveles de glucosa en saliva. Esta disparidad en los hechos podría ser debido a las diferentes poblaciones de muestras, distintas técnicas de recolección de saliva y a los métodos utilizados para realizar la determinación de glucosa.

Por otra parte, no se encontraron hallazgos significativos entre los niveles de glucosa salival y los tiempos de diagnóstico, lo cual podría estar coincidiendo con los resultados obtenidos por Arati, S y col.²², quienes evidenciaron una correlación no significativa entre la glucosa salival y la duración de la enfermedad. A diferencia de otros estudios, quienes evidenciaron que con el incremento de la duración de la

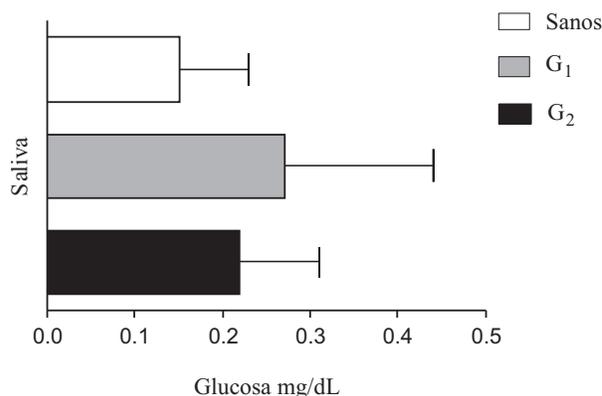


Figura 4. Niveles de glucosa en saliva de paciente diabéticos y sujetos sanos.

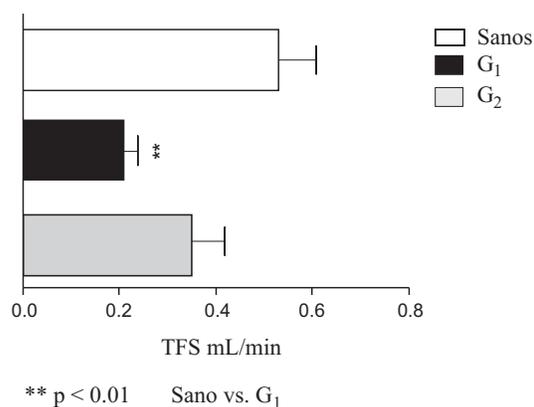


Figura 5. Tasa de Flujo Salival de pacientes diabéticos según los años de diagnóstico y sujetos sanos.

diabetes, los valores de glucosa en saliva disminuyen como consecuencia de microangiopatías diabéticas de las glándulas salivales y a la infiltración de grasa en los acinos²³.

En relación a los niveles de glucosa en sangre de sujetos sanos y pacientes con DMT1, nuestros hallazgos coinciden con los resultados de Moreira, A y col.²⁴ quienes encontraron altos niveles de glucosa en sangre en pacientes con diabetes en comparación con los sujetos sanos.

En cuanto a los niveles de glucosa salival entre los grupos experimental y control, en este estudio la diferencia fue estadísticamente no significativa, en contraste a lo reportado por Moreira, A y col.²⁴ quienes evidenciaron en pa-

Tabla 1. Hemoglobinas Glicosiladas (HbA1c) según los tiempos de diagnóstico de la enfermedad.

G ¹	G ²
HbA1c	HbA1c
6,0	8,6
7,5	7,7
6,4	10,7
15	9,9
11,9	14,5
8,7	8,5
7,1	14
14,2	10,7
8,2	9,1
9,6	10,1
8,3	9,8
7,6	10,1
9,1	7,3
12,3	12,5
8,7	9,0
7,2	11,4
14,5	8,7
6,7	12
	7,8
	7,4
	11,4
	7,3

Los resultados se expresan en % para la HbA1c.

cientes con diabetes altos niveles de glucosa en saliva al compararlos con sujetos sanos.

En cuanto a la disminución de la TFS de los pacientes diabéticos en comparación con los sujetos sanos en este estudio, coincide con lo reportado por Ben-Aryeh, H y col.²⁰ y Juryta C. y col.²⁵, quienes encontraron disminución del flujo salival entre los pacientes diabéticos y los sujetos sanos. Esto puede deberse al grado de deshidratación corporal que se produce en presencia de esta enfermedad; ya que

existe una pérdida considerable de agua a nivel renal ocasionando una disminución en el funcionamiento de las glándulas salivales²⁶. Otro factor al cual puede asociarse el deterioro de la función salival, es la presencia de infiltrado inflamatorio en el parénquima de estas glándulas, similar al que se produce en el páncreas de estos pacientes²⁷.

Lo anteriormente expuesto difiere de las investigaciones realizadas por Belazi, M y col.²¹ y Moreira, A y col.²⁴, los cuales mencionan que en sus resultados no encontraron diferencias significativas en cuanto a la tasa de flujo salival entre los pacientes diabéticos y los sujetos sanos. Hallazgo que puede ser atribuido al hecho de evidenciarse un buen control metabólico, a diferencia de nuestros hallazgos donde se observó un pobre control metabólico en los pacientes diabéticos. La reducción reversible de la secreción salival puede estar correlacionada con las deficiencias de insulina que a su vez ocasionan hiperglicemias, lo cual se hace más evidente en períodos de pobre control metabólico²⁶.

Debido a la disparidad existente entre los trabajos publicados hasta el momento sobre la determinación de la glucosa en saliva, el presente estudio sugiere que no existe evidencia significativa que demuestre que la saliva pueda ser empleada para la determinación de glucosa en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1.

Agradecimiento

Al Consejo de desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) por su aporte financiero y a la Unidad Endocrino Metabólica de la Fundación Hospital de Especialidades Pediátricas de Maracaibo por su valiosa contribución para la ejecución de esta investigación.

Referencias bibliográficas

1. Li Y, Denny P, Ho C, Montemagno C, Shi W, Qi F y col. The Oral Fluid MEMS/NEMS Chip (OFMNC): Diagnostic & Translational Applications. *Adv Dent Res*. 2005; 18(3):3-5.
2. Harrison LC, Honeyman MC, Morahan G, Wentworth JM, Elkassaby S, Colman PG, Fournalanos S. Type 1 diabetes: lessons for other autoimmune diseases? *J Autoimmun*. 2008; 31(3):306-10.
3. Ivanovski K, Naumovski V, Kostadinova M, Pesevska S, Drijanska K, Filipce V. Xerostomia and salivary levels of glucose and urea in patients with diabetes. *Prilozi*. 2012; 33(2):219-29.
4. Simón-Soro A, Tomás I, Cabrera-Rubio R, Catalan MD, Nyvad B, Mira A. Microbial geography of the oral cavity. *J Dent Res*. 2013; 92(7):616-21.
5. Carpenter GH. The secretion, components, and properties of saliva. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2013; 4:267-76.
6. Del Vigna, P; Trindade A, Naval M, Soares A, Azevedo L. Saliva Composition and Functions: A Comprehensive Review. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2008; 9(3):1-11.
7. Soares MS, Batista-Filho MM, Pimentel MJ, Passos IA, Chimenos-Küstner E. Determination of salivary glucose in healthy adults. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009; 14(10):e510-3.
8. Almeida P, Gregio A, Machado M, De Lima A, Azevedo L. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract*. 2008; 9(3):72-80.
9. Vrochides D, Paraskevas S, Papanikolaou V. Transplantation for type 1 diabetes mellitus. Whole organ or islets. *Hippokratia*. 2009; 13(1): 6-8.
10. Dodds M, Dorteia J, Chih-Ko Y. Health benefits of saliva: a review. *J Dent*. 2005; 33(3):223-33.
11. Soltéz G. La diabetes en niños: tendencias cambiantes dentro de una epidemia emergente. *Diabetes Voice*. 2007; 52: 13-15.
12. Moreira C, Azevedo L, Lauris J, Taga R, Damante J. Quantitative age-related differences in human sublingual gland. *Arch Oral Biol*. 2006; 51: 960-66.
13. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y y col. Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol*. 2013; 40(2):140-7.
14. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2013. *Diabetes Care*. 2013; 36(Supplement 1):S4-S10.
15. World Medical Association General Assembly. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Int Bioethique*. 2004 Mar; 15(1):124-9.
16. Viera N, Rojas T, Navas R, Zambrano O, Paz M. Gingivitis y Anticuerpos Anticitoplasmáticos de neutrofilos en niños y adolescentes con leucemia. *Medicina y Patología Oral*. 2004; 9: 396-402.
17. Bankar S, Bule M, Singhal R, Ananthanarayan L. Glucose oxidase- an overview. *Biotechnol Adv*. 2009; 27 (4): 489-501.
18. Anastassiadis S, Morgunov I. Gluconic acid production. *Recent Pat Biotechnol*. 2007; 1(2): 167-180.
19. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations (Position Statement). *Diabetes Care*. 2002; 25 (7):1256-8.

20. Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Salivary composition in diabetic patients. *J Diabet Complications*. 1988; 2(2):96-99.
21. Belazi M, Galli-Tsinopoulou A, Drakoulakos D, Fleva A, Papanayiotou P. Salivary alterations in insulin-dependent diabetes Mellitus. *International Journal of Pediatric Dentistry*. 1998; 8: 29-33.
22. Arati P, Shirish S, Degwekar B, Rahul B. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *Journal of Oral Science*. 2010; 52(3): 359-368.
23. Pal P, Desde NT, Ganan N, Mayor VN, Daniel MJ, Bate N. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and periodontal microflora in diabetes mellitus. *J Indian Dent Association*. 2003; 74: 143-149.
24. Moreira A, Passos I, Sampaio F, Soares M, Oliveira R. Flow rate, pH and calcium concentration of saliva of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res*. 2009; 42(8):707-11.
25. Jurysta C, Bulur N, Oguzhan B, Satman I, Yilmaz TM, Malaisse WJ y col. Salivary glucose concentration and excretion in normal and diabetic subjects. *J Biomed Biotechnol*. 2009.
26. Siudikiene J, Machiulskiene V, Nyvad B, Tenovuo J, Nedzelskiene I. Dental caries and salivary status in children with type 1 diabetes mellitus, related to the metabolic control of the disease. *Eur J Oral Sci*. 2006; 114(1): 8-14.
27. Mata A, Marques D, Rocha S, Francisco H, Santos C, Mesquita M y col. Effects of diabetes mellitus on salivary secretion and its composition in the human. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004; 261(1-2):137-42.