



**BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**

COMPLEJO REGIONAL SUR

IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE PROTEÍNAS EN MUESTRAS
DE SALIVA DE PACIENTES QUE PADECEN HIPERTENSIÓN Y
DIABETES, QUE ACUDEN AL SERVICIO ESTOMATOLÓGICO DE
LAS CLÍNICAS DE LA FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA DEL
COMPLEJO REGIONAL SUR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADA EN ESTOMATOLOGÍA

PRESENTA

P.S.S. ALEJANDRA CANO LANDA

DIRECTOR DE LA TESIS:

DRA. EN CB. DELINA G. MONTES SANCHEZ, CRS, BUAP.

ASESOR METODOLOGICO DE LA TESIS:

MTRA. MARIA DEL PILAR GUTIERREZ VAZQUEZ, CRS, BUAP.

ASESOR DISCIPLINARIO

DR. DANIEL ARRIETA BAEZ, CNMN, IPN.

Noviembre 2018

Dedicatorias

A Josefina Landa Trujillo y Raúl Cano Villanueva, mis padres, por ser los principales promotores de mis sueños gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí, por siempre desear y anhelar siempre lo mejor para mi vida, gracias por cada consejo y por cada una de sus palabras que me han guiado durante mi vida.

A Noe Jonathan Carrera Rosas, mi novio, que le ha dado esencia a mi vida, por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento ofreciéndome y buscando lo mejor para mi persona.

A Mari Jose Cano Landa y María Fernanda Cano Landa, mis hermanas, que siempre han creído en mí y me han impulsado a seguir adelante ustedes son el pilar de mi vida

A Matías mi lindo y amado sobrino que me ha hecho sonreír justo cuando más lo necesito y que ya forma parte de mi vida.

A todos mis compañeros amigos de la universidad con los cuales he compartido momentos trascendentales en mi vida con un especial afecto a Fermín, Patricia y Eduardo.

Agradecimientos

Deseo mostrar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas sin las cuales, este trabajo no habría visto la luz:

En primer lugar, a la Dra. Delina Guadalupe Montes Sánchez, Directora de esta tesis, para mí es un honor haber realizado este trabajo bajo su dirección y le estaré siempre muy agradecida porque ha dedicado su valioso tiempo a ello. Soy consciente de que empleó en muchas ocasiones su tiempo libre y espero que me perdone por haberle robado esas preciosas horas que podía haber dedicado a su familia en vez de estar supervisando este trabajo.

A la Mtra. María del Pilar Gutiérrez Vázquez, por su apoyo en la coordinación de los pacientes diabéticos e hipertensos de la clínica, para que se sometieran al estudio.

Al Dr. Daniel Arrieta Báez, especialista en espectrometría de masas del Instituto Politécnico Nacional. Sin el apoyo del Dr. el apartado correspondiente a la detección de proteínas de esta tesis no existiría. Además sé que les ha supuesto un sobreesfuerzo, ya que ha sido un trabajo sobreañadido al que diariamente tenían.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por proporcionarme las herramientas necesarias para mi preparación académica.

INDICE

Resumen	1
Marco teórico	3
Introducción	
Saliva	4
Composición proteica	7
Saliva como método de diagnóstico	8
Hipertensión arterial.....	14
Diabetes mellitus	16
Antecedentes	19
Justificación	20
Hipótesis	21
Planteamiento del problema	21
Pregunta de investigación	21
Objetivo general	22
Objetivos específicos	22
Tipo de estudio	23
Materiales y métodos	23
Resultados	25
Discusión	31

Conclusiones	37
Bibliografía	38
Cronograma de actividades.....	46
Glosario de términos.....	47
Anexos	51

RESUMEN

Introducción: La saliva es una secreción exocrina compleja importante en el mantenimiento de la homeostasis bucal, su composición química-molecular está relacionada al estado de salud general de los individuos y ha llegado a ser un medio para evaluar condiciones fisiológicas y patológicas en humanos. La hipertensión y la diabetes son las patologías sistémicas crónicas más importantes de nuestro país, las cifras de pacientes aumentan año tras año colapsando nuestro sistema de salud pública, su tratamiento y control oportuno incrementa significativamente la calidad de vida de los pacientes que las padecen. Los profesionales Estomatológicos están cada vez más involucrados en este proceso.

Objetivo: Analizar el contenido diferencial de proteínas totales en patrones electroforéticos y de espectrometrías de masas de muestras de saliva, obtenidas de pacientes hipertensos y diabéticos que acuden a consulta en la Clínica de Estomatología del Complejo Regional Sur de la BUAP en Tehuacán, Puebla.

Metodología: Las muestras de saliva fueron cuantificadas, las proteínas resultantes fueron analizadas por dos métodos: 1) desnaturalizadas y posteriormente separadas por peso molecular en geles de acrilamida SDS-PAGE y los geles obtenidos fueron teñidos con azul de Coomassie; 2) desnaturalizadas y separadas por espectrometría de masas para afinar la observación de las diferencias de expresión de las proteínas.

Resultados: Se identificaron diferencias de intensidad entre bandas de proteínas, dependiendo de la muestra de saliva, los pacientes sanos, con gingivitis o periodontitis presentaron una tinción menor a la que se observa en las muestras de los pacientes hipertensos e hipertensos-diabéticos.

Conclusiones: La búsqueda de biomarcadores protéicos clínicos de enfermedades sistémicas crónicas en la saliva, sigue siendo un área de investigación difícil de

abordar pero posible con el desarrollo de tecnologías sofisticadas como la espectrometría de masas.

Palabras clave: saliva, biomarcadores, diabetes, hipertensión.

MARCO TEÓRICO

Introducción

A lo largo de la historia los métodos de diagnóstico han evolucionado haciéndose más sensibles y precisos pudiendo así detectar enfermedades de manera más eficaz. (Anaya-Saavedra, 2012)

El análisis de los componentes de la sangre ha sido el pilar fundamental en los procedimientos diagnósticos por el Laboratorio. Hoy en día sabemos que existen otros fluidos biológicos que se pueden usar con frecuencia en el diagnóstico de laboratorio como la orina, líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, saliva etc.

Es sorprendente, que hace más de dos mil años la medicina tradicional china refería que la saliva y la sangre son hermanos en el cuerpo y tienen el mismo origen; destacaban que los cambios en la saliva son indicativos del bienestar del paciente. (Helmerhorst EJ, 2017)

Desde finales del siglo XIX, se conocía la influencia de la saliva sobre la digestión, y a lo largo del siglo XX, se ha investigado sobre sus propiedades y composición, pero no es sino hasta los últimos 40 años, cuando se comienza a indagar sobre el valor de la saliva como material de muestra en las determinaciones de laboratorio, y es principalmente a partir de 1999, cuando se desarrollan grandes iniciativas para la investigación de biomarcadores en saliva. **Figura 1.** (Pereira Lima, 2010)

La capacidad para monitorizar, ver cómo y cuándo una enfermedad comienza, cómo progresa y observar el resultado del tratamiento a través de técnicas no invasivas es el fin más deseable en la promoción del estado de salud y bienestar. (Taboada Vega, 2006)

El objetivo es:

1. Que existan biomarcadores específicos asociados al estado de salud o enfermedad
2. Que estos biomarcadores se puedan detectar y monitorizar de forma no invasiva
3. Que existan tecnologías que discriminen estos biomarcadores y el resto de las

proteínas normales corporales

Biomarcadores en Saliva Total	Diagnóstico
DNA	Carcinomas de cabeza y cuello. Infecciones bacterianas. Forense.
RNA	Carcinomas de cabeza y cuello. Infecciones bacterianas. Infecciones virales.
Proteínas	Caries. Enfermedad periodontal. Carcinomas de cabeza y cuello. Estrés. Enfermedades autoinmunes (síndrome de Sjögren, sarcoidosis). Enfermedades cardiovasculares. Enfermedad renal. Infecciones micóticas. Displasia ectodérmica. Cáncer de mama.
Mucinas/ glicoproteínas	Caries. Infección con <i>H. pylori</i> . Carcinomas de cabeza y cuello. Cáncer de ovario.
Inmunoglobulinas	Caries, enfermedad periodontal, síndrome de Sjögren, esclerosis múltiple, enfermedad celíaca, HIV, hepatitis B y C, dengue, infecciones micóticas.
Fármacos de prescripción médica, sustancias psicoactivas y sus metabolitos	Monitoreo de adicciones. Monitoreo de dosificación de medicamentos.
Electrolitos	Fibrosis quística, enfermedad periodontal, fibrosis quística, displasia ectodérmica.
Metabolitos	Síndrome de Sjögren, enfermedad periodontal.
Hormonas	Síndrome de Cushing, diabetes mellitus, ciclo fértil de la mujer, progresión del cáncer, enfermedad renal, actividades atléticas y comportamiento agresivo.
Bacterias, virus, hongos, parásitos	<i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> spp, <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Shigella</i> , Epstein-Barr virus, <i>Candida</i> spp, <i>Taenia solium</i> .
Células	Carcinomas de cabeza y cuello. Cáncer hematológico.

Figura 1. Diagnóstico Molecular mediante marcadores salivales.

Saliva

El término saliva es usado indistintamente para describir la combinación de fluidos en la cavidad bucal, la cual contiene 99% de agua y 1% de sólidos disueltos. Estos sólidos pueden ser diferenciados en 3 grupos: componentes orgánicos proteicos, los no proteicos y los componentes inorgánicos o electrolitos, lo cual hace de la saliva una secreción exocrina compleja, transparente, sin olor, débilmente ácida,

ligeramente viscosa e importante en el mantenimiento de la homeóstasis de la cavidad bucal. Sus funciones principales, aunque no únicas, son humedecer y ablandar los alimentos, es un lubricante muy activo para los tejidos blandos bucales y los dientes.(Liu, 2012; Spielmann y Wong, 2011)

La parte inorgánica de la saliva está compuesta por electrolitos, siendo los más comunes sodio, potasio, calcio, cloruro, bicarbonato, tiocianato, fosfato inorgánico, magnesio, sulfato, yoduro y fluoruro. La parte orgánica contiene componentes tales como proteínas, lípidos y productos de putrefacción. Entre las proteínas destacan enzimas, inmunoglobulinas y otros factores antimicrobianos, glucoproteínas, albúmina, polipéptidos y oligopéptidos. En general, la saliva contiene ptialina o alfa amilasa, que es una enzima digestiva, mucinas que contribuyen al carácter viscoso, seroalbúmina, lisozima, globulinas, leucocitos, restos epiteliales, así como una gran cantidad de microorganismos y sus productos metabólicos. También podemos encontrar en saliva glucosa y productos nitrogenados como la urea y el amoníaco. **Figura 2.**(Vega Galina y Chávez Oseki)

La saliva es producida por un grupo de glándulas exocrinas, las glándulas salivales, cada una de ellas interviene de modo diferente en la producción cualitativa y cuantitativa de la saliva. Las glándulas salivales se clasifican en: glándulas salivales mayores, responsables de la producción del 92 . 95 % de la saliva y glándulas salivales menores, responsables de la producción del 5 . 8 % de la saliva(Chojnowska, 2017; Soares Nunes, 2015).

La glándula parótida excreta saliva predominantemente serosa a través del conducto de Stenon; la glándula submandibular produce una secreción seromucosa a través del conducto de Wharton, mientras la glándula sublingual secreta saliva mucosa en exclusividad a través del conducto de Bartholin y las glándulas salivales menores son principalmente las glándulas de Von Ebner, enteramente serosas y las glándulas mucosas de Blandin y Nühm.

Funciones	Constituyentes Salivales
Formación bolo alimenticio	Mucina, agua.
Digestión	Amilasas, proteasas, lipasa lingual, ADNasa, ARNasa, aldolasa, fosfatasa ácida, agua.
Percepción gustativa	Gustina, agua.
Lubricación para la masticación, deglución y habla	Mucinas, agua.
Revestimiento tisular	Amilasa, cistatina, PRPs aniónicas, estaterinas, mucinas.
Lavado/limpieza	Agua.
Control microbiano	Lisozima, lactoferrina, lactoperoxidas, mucinas, cistinas, histatinas, inmunoglobulinas, PRPs aniónicas, cromogranina A, estaterinas, complemento, defensinas, trombospondina, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa.
Mantenimiento pH	Bicarbonato, fosfato, proteínas, anhidrasa carbónica.
Remineralización	PRPs aniónicas, estaterinas, calcio, fosfato.
Balance hídrico	Agua.
Cicatrización	Factores de crecimiento (EGF, TGF- α , TGF- β , FGF, NGF, IGF-1, IGF-2), factores de la coagulación VIII, IX y XI.

PRPs: proteínas ricas en prolina.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

TGF- α : factor de crecimiento transformante alfa.

TGF- β : factor de crecimiento transformante beta.

FGF: factores de crecimiento de los fibroblastos.

NGF: factor de crecimiento nervioso.

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo 1.

IGF-2: factor de crecimiento insulínico tipo 2.

Figura 2. Componentes salivales y sus funciones fisiológicas

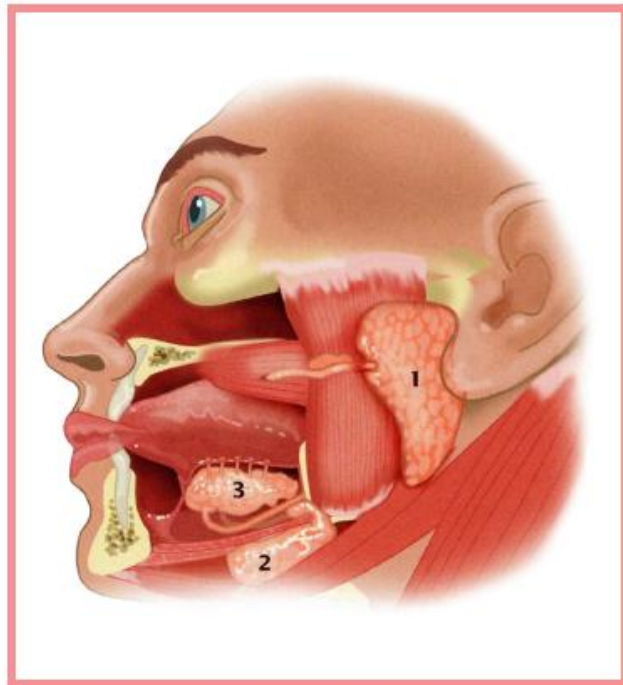
Tanto la cantidad como la calidad de la saliva dependen de la actividad del sistema nervioso autónomo. La estimulación parasimpática producirá una saliva rica en agua y electrolitos mientras que la estimulación -adrenérgica favorecerá la producción de proteínas (Chavez Oseki, 2010).

Composición Proteica de la saliva

Expresiones como saliva total, saliva mixta y fluidos orales son usadas con propósitos científicos para representar la combinación de fluidos en la boca que provienen de las glándulas salivales mayores y menores, junto con el exudado

gingival llamado líquido crevicular. Aproximadamente entre 85-90% de las proteínas encontradas en la saliva pueden ser clasificadas en tres grupos: 1) proteínas como histatinas y las proteínas ricas en prolina que están presentes sólo en la saliva; éstas modifican la adherencia, inhiben el crecimiento y la viabilidad bacteriana; 2) proteínas que están presentes en varias partes del cuerpo como es la lisozima, las mucinas que otorgan viscosidad a la saliva y las inmunoglobulinas; 3) proteínas que no provienen de glándulas secretoras, sino de otras fuentes como el plasma sanguíneo, como lo es la albúmina (Kodukula, 2017).

Figura 3. Posición anatómica de los tres pares de glándulas salivales mayores: parótida (1), submandibular (2) y sublingual (3). Adaptado de A. Van Nieuw Amerongen, 2004.



Existen diversos caminos por los que algunas proteínas que no son constituyentes habituales de la saliva pueden llegar a ella, a través de rutas intra o extracelulares. **Figura 3.** Las vías intracelulares más habituales son la difusión pasiva y el transporte activo, mientras que la ultrafiltración a través de las estrechas uniones celulares, es el mecanismo extracelular más conocido. **Figura 4.** Algunas moléculas llegan hasta la saliva desde el suero atravesando las barreras de los capilares, los espacios intersticiales, y las membranas de las células acinares y

ductales hasta llegar a la luz de los túbulos excretores, así mismo los componentes del suero también pueden llegar a la saliva a través del fluido crevicular, gracias a esta posibilidad, se abre una perspectiva para su aplicación en el diagnóstico de determinadas patologías. **Figura 5 y 6.** (Castagnola, 2011)

Transport mechanism	Components
Ultrafiltration through gap junctions between secretory cells	Molecules < 1.9 kDa (ions, water and some peptides)
Selective transport via passive diffusion	Lipophilic molecules (steroid hormones)
Active transport through ion channels	Ions (Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ and HCO ₃ ⁻)
Water channels (Aquaporins)	Water
Synthesized and secreted in acinar or ductal cells	Organic components (lysozyme, lactoferrine, peroxidases, cystatins, histatins, immunoglobulin A, salivary alpha amylase)

Figura 4. Mecanismo de Transporte de los componentes de la saliva a través de las glándulas salivales

Saliva como Método de Diagnóstico

El análisis salival ha resultado muy útil en las siguientes condiciones:

1) Detección de fármacos y drogas ilegales: Al igual que otros fluidos corporales, como el suero y la orina, la saliva ha sido propuesta para monitorizar los niveles sistémicos de ciertos fármacos. La determinación de algunas drogas en saliva va a depender de su concentración en sangre, de su capacidad de difusión, liposolubilidad y tamaño de molécula. Así mediante la saliva podemos controlar los niveles de diversos medicamentos (litio, carbamacepina, barbitúricos, benzodiacepinas, fenitoína, teofilina y ciclosporina), los niveles de drogas legales (alcohol y tabaco), y los niveles de drogas ilícitas (marihuana, la cocaína y las anfetaminas)(Malathi, 2014).

2) Análisis hormonal: El conocimiento de que las hormonas esteroideas pueden ser medidas por medio de la saliva ha existido desde hace más de 30 años. Hormonas como el cortisol, la aldosterona, la testosterona, el estradiol o la insulina, pueden detectarse en la saliva con una alta correlación de sus concentraciones en suero(Banderas-Tarabay, 1997).

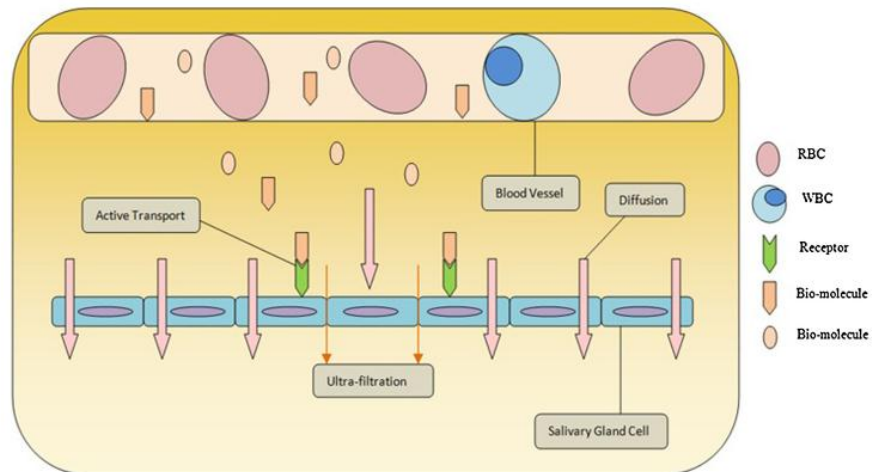


Figura 5. Diagrama Esquemático de las rutas celulares que son utilizadas por las proteínas del suero para mezclarse con la saliva, haciéndola valiosa para el manejo de diversas varias patologías sistémico crónicas.

IONES		
COMPONENTES	SALIVA	PLASMA
CA	1-2 mM	2.5mM
MG	0.2-0.5 mM	1mM
NA	5-25 mM	140mM
K	15-30 mM	4MmM
NII	1-7 mM	0.03mM
Fosfato	2-20 mM	2-3Mm
Cl	15-30 mM	103Mm
HCO	2-30 g/L	27 g/L
SCN	0.1-2 g/L	-
BIOMOLECULAS		
COMPONENTES	SALIVA	PLASMA
UREA(SOLUTO)	2-6 mM	5mM
UREA	1-2 mM	-
URATO	0.2 mM	3 mM
AMINOACIDOS	1-2 mM	5 mM
GLUCOSA	0.05 mM	5 mM
LACTATO	0.1 Mm	-
AC. GRASOS	0.01 g/L	3 g/L
LIPIDOS	0.025 g/L	5 g/L
PROTEINAS		
COMPONENTES	SALIVA	PLASMA
TOTAL	1..5-6.5 mg/L	70 mg/L
GLICOPROTEINAS	0.1- 0.3 mg/L	14 mg/L
AMILASAS	0-0.4mg/L	-
LISOZIMA	0.4mg/L	-
PEROXIDASA	0.003 mg/L	-

IgA	0.2 mg/L	1.3 mg/L
IgI	0.015mg/L	13 mg/L

Figura 6. Comparación de los valores de diferentes componentes entre la saliva y el plasma.

3) Enfermedades infecciosas: Los anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de la saliva total están en relación con los niveles hallados en suero. Encontramos que los niveles de sensibilidad y especificidad de los anticuerpos VIH salivales para la detección de la infección son de un 95-100%, demostrando que la saliva es una gran herramienta para el diagnóstico de la infección por VIH. La hepatitis, una enfermedad de etiología viral que causa inflamación del hígado, se puede diagnosticar a través de la saliva (Pizzo, 2010). Hay que señalar que la detección en la saliva del antígeno de la hepatitis A y del antígeno de superficie de la hepatitis B, se ha utilizado en estudios epidemiológicos, así como la presencia de anticuerpos del tipo inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG) frente a ambos tipos de hepatitis. Existen medios comercializados para la determinación de anticuerpos frente al virus de la hepatitis B y C con una sensibilidad y especificidad del 100%. El uso de la saliva como una herramienta de diagnóstico para la infección por *Helicobacter pylori* (una especie de bacteria que infecta a la superficie de la mucosa del estómago y puede causar úlceras pépticas, gastritis, y cáncer gástrico), es una opción atractiva para los estudios epidemiológicos en niños

A nivel oral, debido a que la caries es una patología infecciosa caracterizada por la destrucción del tejido dentario por acción bacteriana, la cuantificación en saliva de la presencia de bacterias cariogénicas como el *Lactobacillus* y el *Streptococcus mutans* puede ser de utilidad para valorar el riesgo de caries. La candidiasis también puede diagnosticarse por medio de los niveles de *Candida* en saliva. Además, la saliva puede ser un buen método de diagnóstico y control de la enfermedad periodontal por medio de la medición de la microflora

periodontopat6gena, los niveles de inmunoglobulinas, enzimas y componentes del fluido gingival (Cheng, 2014).

4) Enfermedades neoplásicas malignas: La saliva podría ayudar en el diagnóstico temprano de tumores malignos, los anticuerpos p53 pueden ser detectados en los sueros de pacientes con diferentes tipos de tumores malignos, pudiendo detectarse en la saliva de los pacientes diagnosticados con carcinoma oral de células escamosas (COCE), ayudando en el diagnóstico precoz de este tumor. Un informe reciente sugiere que los carcinomas de cabeza y cuello pueden ser detectados utilizando ADN derivado de la exfoliación de células de la mucosa oral recogido en la saliva. Los estudios muestran que los tumores malignos localizados en la cabeza y el cuello pueden ser diagnosticados a través de la saliva con un 91% de precisión, siendo este un hecho importante para el diagnóstico precoz y el aumento de la posibilidad de un tratamiento exitoso(Kruger, 2013).

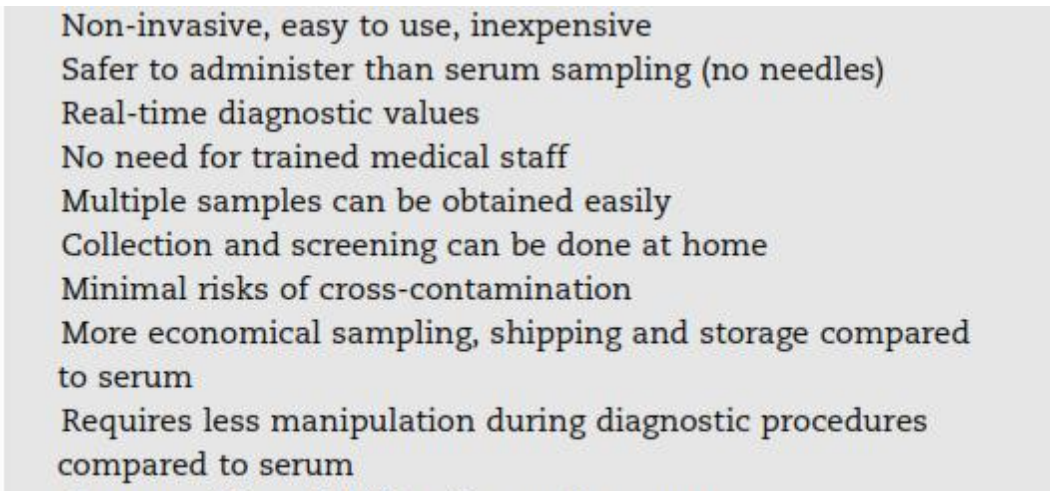
5) Enfermedades hereditarias: La fibrosis quística, está considerada como una exocrinopatía caracterizada por una alteración en el transporte de electrolitos en las células epiteliales y la secreción de un moco viscoso por parte de las glándulas y los epitelios. Se asocia con una elevación en los niveles de calcio, proteínas, sodio, fosfato, cloro y lípidos. Para el diagnóstico de la enfermedad, la detección en saliva de IgA y anticuerpos muestra una alta especificidad y una baja sensibilidad, al contrario de lo que sucede con las determinaciones en suero que son altamente sensibles y menos específicas(Banderas- Tarabay, 1997).

6) Enfermedad renal: Aunque existen escasos artículos sobre el uso de la saliva para diagnosticar enfermedades renales, autores como Lloyd y cols. han observado que los niveles de creatinina en saliva muestran una gran sensibilidad y especificidad a la hora de determinar la presencia de enfermedad renal

7) Medicina forense: La capacidad de detectar el ADN humano en la saliva también ha sido útil en la medicina forense. La saliva se puede encontrar en muchas áreas dentro de la escena del crimen como en las marcas de mordeduras que dejan en los objetos o de las víctimas de delitos violentos, los cigarrillos, los sellos, sobres y

otros objetos. Uno de los estudios demostró que a través de la saliva podemos recuperar el ADN en casos forenses, a través de la reacción en cadena de la polimerasa(Malathi, 2014).

Así pues, el uso de la saliva como alternativa para el diagnóstico o como elemento para monitorizar la evolución de determinadas enfermedades o la dosificación de determinados medicamentos es una vía prometedora, incrementándose su atractivo para el diagnóstico mediante la comercialización de pruebas de uso sencillo, por otro lado la accesibilidad y la ausencia de métodos cruentos para obtener la muestra son otras de las ventajas que ofrece la saliva como instrumento diagnóstico. **Figura 7.**



Non-invasive, easy to use, inexpensive
Safer to administer than serum sampling (no needles)
Real-time diagnostic values
No need for trained medical staff
Multiple samples can be obtained easily
Collection and screening can be done at home
Minimal risks of cross-contamination
More economical sampling, shipping and storage compared to serum
Requires less manipulation during diagnostic procedures compared to serum

Figura 7. Ventajas que ofrece la saliva como método de diagnóstico para diferentes patologías.

Hipertensión Arterial

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Marcadores como la amilasa salival han sido utilizados para el control postoperatorio de los pacientes sometidos a cirugía cardiovascular. Algunos estudios han mostrado que niveles bajos de amilasa salival en la etapa preoperatoria de los pacientes con aneurisma de la aorta se asociaba con un aumento de la mortalidad. Otro estudio, realizado en 2007, verificó que la actividad de la amilasa salival alfa podría ser utilizada como un buen marcador de catecolaminas durante la evaluación de los pacientes en diferentes situaciones de estrés (Seymour, 2007; Nibali, 2007).

La hipertensión arterial (HTA) es uno de los principales factores de riesgo para padecer enfermedad cardiovascular, cerebrovascular y falla renal, que son importantes causas de mortalidad en México.

En materia de salud, a partir de los años 70^{os} y en la década de los 80^{os}, gran parte de los países del mundo, se han caracterizado por vivir una transición epidemiológica, es decir, un cambio en el perfil epidemiológico, que da paso de las enfermedades infectocontagiosas y parasitarias a las crónicas degenerativas. En los últimos años las tasas de mortalidad y morbilidad en México han aumentado, en la última década, las enfermedades del corazón ocupan el primer lugar como causa de muerte, con una tasa de 44.4 muertes por cada 100000 habitantes y se espera un incremento debido al continuo envejecimiento de la población.

La hipertensión arterial es la más común de las condiciones que afectan la salud de los individuos en todo el mundo. En 2008, en el mundo se había diagnosticado hipertensión en el 40% de los adultos mayores de 25 años. Entre los factores que se han identificado y que contribuyen a la aparición de HTA, diversos estudios citan la edad, una alta ingesta de sodio, dietas elevadas en grasas saturadas,

tabaquismo, inactividad física y presencia de enfermedades crónicas como obesidad, dislipidemias y diabetes. La prevalencia de HTA en México se encuentra entre las más elevadas en el plano mundial. Sin embargo, la tendencia creciente que había presentado entre el año 2000 y 2006 muestra una estabilización.

La HTA es el aumento sostenido de a presión arterial (PA), por arriba de 140/90mm de Hg; por lo menos tres lecturas con el paciente en reposo. Se clasifica en primaria (idiopática o esencial) y secundaria, caracterizada por tener una causa identificable, que puede ser corregida permitiendo al paciente retornar a cifras de normalidad(Quarnstrom, 2008).

Es indiscutible que un problema con esta magnitud requiere de mayor atención y participación de todos los sectores de la sociedad. **Figura 8.**

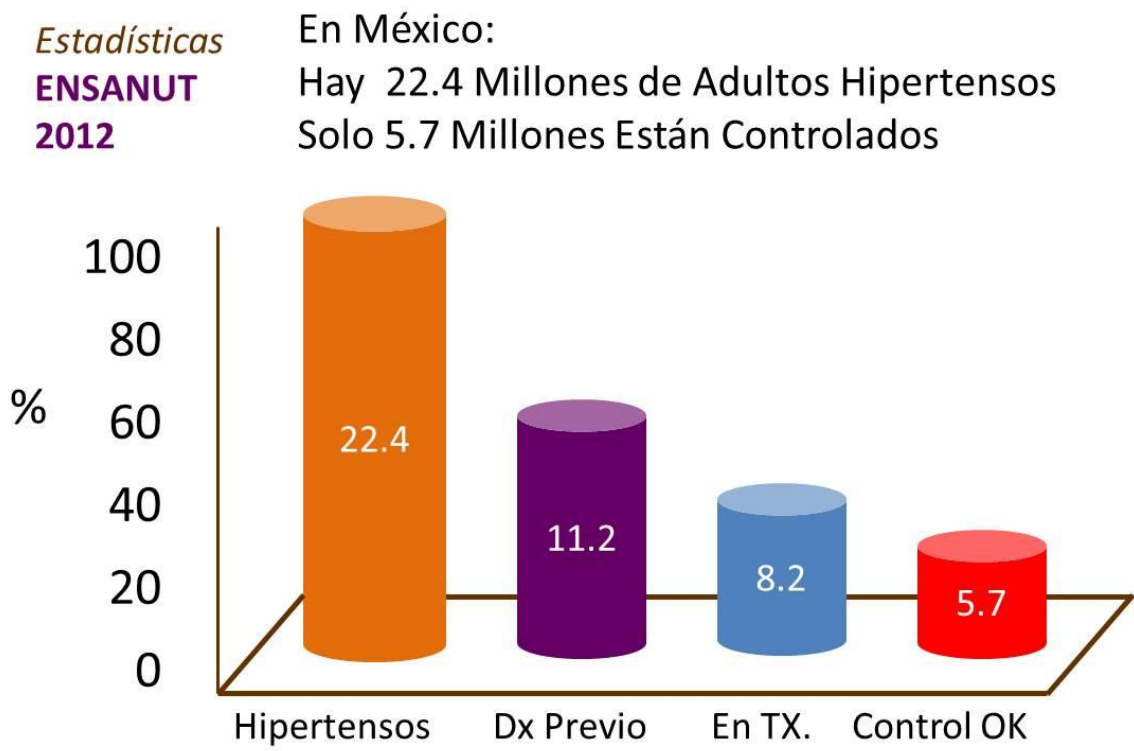


Figura 8. Estadísticas de la situación clínica de los pacientes en México con Hipertensión Arterial.

Una segunda clasificación permite distinguir entre hipertensión benigna que suele cursar con buen pronóstico cuando el paciente recibe tratamiento, HTA maligna que es mortal a corto plazo menos de dos años ya que el paciente alcanza cifras superiores a 120mmHg en la tensión diastólica algunas veces a pesar del tratamiento farmacológico.

La HTA es una enfermedad multifactorial en la que la herencia y el medio ambiente influyen en su desarrollo entre más genes se hereden mayores posibilidades de sufrir HTA. El ambiente ejerce su influencia a través de la dieta, el estrés, la obesidad, el consumo de tabaco, la vida sedentaria y el consumo elevado de sal.

La única manera de diagnosticar la HTA en sus inicios es con revisiones periódicas bajo consulta médica. Con frecuencia los pacientes sufren de PA elevada durante años sin saberlo, si estos requieren de consulta estomatológica, debe realizarse un examen general a partir de tres vías: evaluación de antecedentes familiares y personales, exploración física y análisis clínicos (química sanguínea), así como la colaboración interdisciplinaria de médicos y estomatólogos ya que es de máxima importancia para el análisis adecuado de la historia clínica y la atención del paciente estomatológico con enfermedades sistémicas (rosas, 2005).

Diabetes Mellitus

Desde el año 2000, la diabetes mellitus en México es la primera causa de muerte entre las mujeres y la segunda entre los hombres. En 2010, esta enfermedad causó cerca de 83 000 muertes en el país. **Figura 9.**(Garber, 2004).

El incremento de la permeabilidad de la membrana basal en los pacientes diabéticos puede provocar un aumento de los componentes derivados del suero en saliva mediante el fluido crevicular, por lo que moléculas de pequeño tamaño

como la glucosa pueden fácilmente traspasar la membrana basal provocando un aumento de los niveles de glucosa en saliva. La posibilidad de que la saliva pueda usarse como sustituto de la sangre en la determinación de la glucemia para monitorizar la diabetes mellitus, ha sido estudiada en multitud de estudios, aunque con gran controversia. Algunos estudios no han encontrado una asociación entre los niveles de glucosa salival y sanguínea, mientras otros sí la han observado(Chung, 2015).

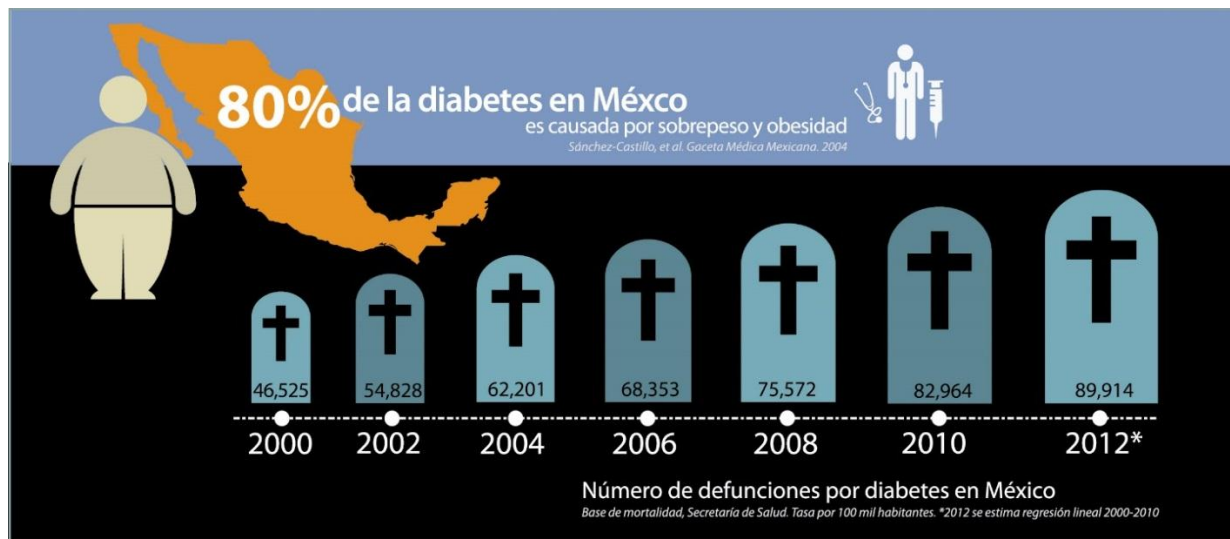


Figura 9. Número de defunciones ocasionadas por la Diabetes Mellitus en México.

La diabetes es un padecimiento en el cual el azúcar (o glucosa) en la sangre, se encuentra en un nivel elevado. Esto se debe a que el cuerpo no produce o no utiliza adecuadamente la insulina, una hormona que ayuda a que las células transformen la glucosa (que proviene de los alimentos) en energía. Sin la suficiente insulina, la glucosa se mantiene en la sangre y con el tiempo, este exceso puede tener complicaciones graves. **Figura 10.** La diabetes mellitus aumenta el riesgo de cardiopatías y accidentes cerebrovasculares (como embolia). Además, a largo plazo puede ocasionar: Ceguera (debido a las lesiones en los vasos sanguíneos de los ojos), Insuficiencia renal (por el daño al tejido de los riñones), Impotencia

sexual (por el daño al sistema nervioso), Amputaciones (por las lesiones que ocasiona en los pies).(Zimmet, 2005; Ascaso, 2006;)

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), es el tipo de diabetes más común a nivel mundial con un 90% de los casos según la Organización Mundial de la Salud (OMS). La Diabetes presenta una alta mortalidad mundial y además, se encuentra entre las 10 principales causas de discapacidad en el mundo. De no emprenderse ninguna acción se estima que el número de diabéticos aumentara de 366 millones en el 2011 a 552 millones en el 2030(Kobayashi, 2012). Los costos directos e indirectos de la diabetes en el Sistema Nacional de Salud Mexicano anualmente alcanzan hasta los 7 mil 784 millones de pesos, de los cuales 3 mil 422 mil millones corresponden a costos directos del sistema de salud y 4 mil 352 millones a gastos indirectos atribuibles a discapacidad permanente y temporal y a mortalidad prematura.

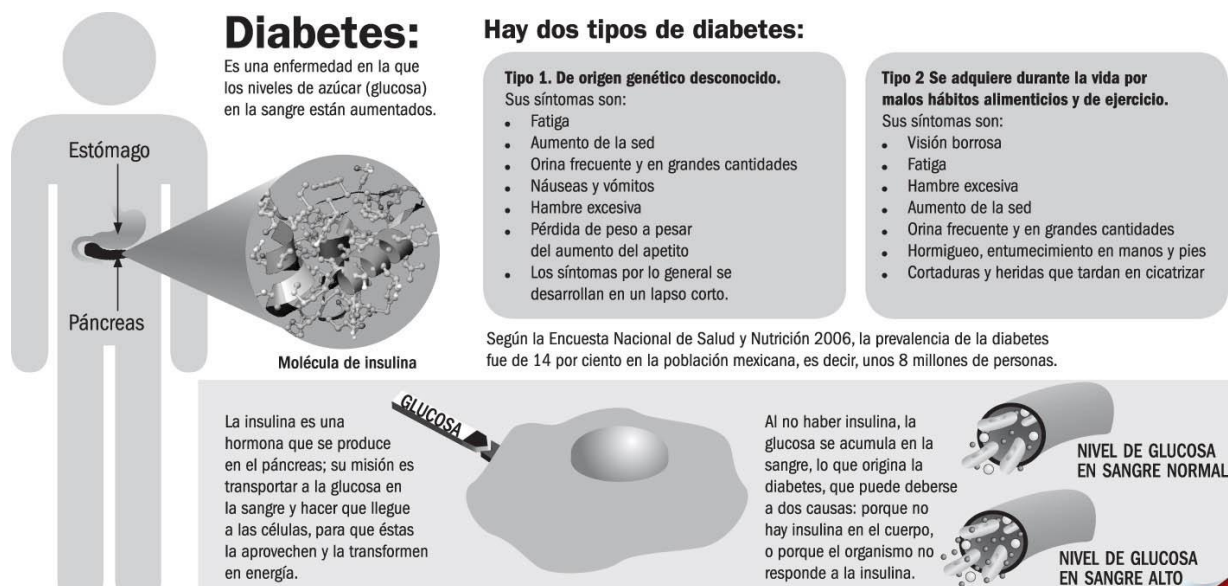


Figura 10. Origen Molecular de la Diabetes Mellitus y características de los dos tipos de enfermedad que existen.

ANTECEDENTES

La secreción salival es esencial para mantener la salud bucal y la regulación de la microbiota oral. La saliva en la boca contiene una gama de biomarcadores potenciales validados para diferentes enfermedades, derivados de las células epiteliales, neutrófilos, el microbioma, el fluido crevicular gingival y del suero. Los niveles de cortisol se utilizan en la evaluación de la presión arterial, algunas metaloproteinasas de la matriz extracelular parecen ser marcadores prometedores de caries y la enfermedad periodontal, y varias proteínas se han propuesto como marcadores de carcinoma de células escamosas orales. La comprensión de los mecanismos con los cuales los biomarcadores patológicos del torrente sanguíneo pueden ser medidos en la saliva, es un aspecto importante para la validación de su uso en el proceso salud y enfermedad (Andriankaja, 2010; Morita 2009).

La capacidad de monitorear el inicio de la enfermedad, la progresión y el resultado del tratamiento a través de medios no invasivos es una meta altamente deseable en el manejo de la atención médica. Hay tres prerequisites para este objetivo: I) la existencia de biomarcadores específicos asociados con un estado de salud o enfermedad; II) un enfoque no invasivo para detectar y vigilar los biomarcadores; III) tecnologías apropiadas para discriminar los biomarcadores (Pfaffe, 2011).

La reciente disponibilidad de técnicas de espectrometría de masas ha mejorado la investigación de las proteínas salivales, y ha producido información cualitativa y cuantitativa sobre su composición exacta. Recientes enfoques del análisis de la saliva humana abarcan la evaluación de la concentración de proteínas, expresión, activación, modificación, interacción, degradación y su función. Estos estudios han puesto de relieve las características altamente dinámicas del proteoma salival.

JUSTIFICACION

El aparato estomatológico constituye un elemento clave en el organismo. Funciona como el medio principal para introducir los nutrientes en el cuerpo, pero así también es el punto de entrada de muchos microorganismos y el punto inicio de diversas patologías que pueden diseminarse rápidamente y ocasionar graves consecuencias.

Estas comparaciones y correlaciones deben alentar a los investigadores a considerar el uso de saliva para descubrir nuevos biomarcadores de proteínas para detectar los primeros signos de la enfermedad en todo el cuerpo. Además, tras el valor diagnóstico de las proteínas en la sangre, el análisis de proteínas en la saliva en el curso de progresión de la enfermedad, podría revelar marcadores biológicos valiosos para la detección y seguimiento del estado de la enfermedad temprana de una manera no invasiva.

La saliva como otros líquidos vitales, puede variar su composición bioquímica básica de acuerdo a la condición general de salud de los pacientes y por lo tanto, sirve como un reflejo de lo que está pasando en nuestro interior.

Este proyecto está enfocado en el análisis de proteínas de muestras de saliva de pacientes en estado sano-normal y patológico-síndrome metabólico, y a nuestro conocimiento es un estudio pionero en su campo en el país y por ende obviamente, en el estado de Puebla.

En un futuro a mediano plazo, esperamos con este tipo de investigaciones poder identificar por medio de su saliva, a los pacientes diabéticos o hipertensos de una manera eficaz y poco molesta en la consulta estomatológica, ayudando de este modo al especialista a tomar la mejor decisión para su pronóstico y tratamiento.

HIPÓTESIS

Entre las proteínas totales de las muestras de saliva de pacientes diabéticos e hipertensos, deben existir algunas que sean específicas del estadio de la enfermedad en que se encuentran los pacientes, sirviendo entonces como biomarcadores biológicos patológicos que ayuden a determinar un tratamiento más eficaz y oportuno, llevando así a lo que se conoce como medicina personalizada+.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El análisis de las proteínas totales de la saliva de pacientes con diferentes enfermedades sistémicas crónico degenerativas, nos puede conducir a la identificación de biomarcadores que, con un adecuado desarrollo innovador y tecnológico, nos permitiría pensar en el diseño de pruebas sencillas y poco invasivas para determinar de una forma más exacta y precisa, el estado de salud en general de nuestros pacientes estomatológicos con lo cual, proporcionaríamos un servicio estomatológico más completo y eficiente,

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es posible la detección de proteínas específicas biológicas patológicas de una enfermedad crónica degenerativa sistémica a partir de muestras de saliva total?

OBJETIVO GENERAL

Analizar el contenido diferencial de proteínas totales en patrones electroforéticos y patrones de espectrometría de masas de muestras de saliva, obtenidas de pacientes hipertensos y diabéticos que acuden a la Clínica de Estomatología del Complejo Regional Sur de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en la ciudad de Tehuacán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el patrón de expresión de proteínas totales salivales de pacientes sanos en geles de acrilamida
- Obtener el patrón de expresión de proteínas totales salivales de pacientes diabéticos y con hipertensión arterial en geles de acrilamida
- Comparar los patrones de expresión de proteínas totales salivales entre los diferentes tipos de pacientes en geles de acrilamida
- Identificar a las proteínas que presentan diferencias entre los diferentes tipos de muestras de saliva de los pacientes
- Evaluar la importancia de las proteínas identificadas por medio de espectrometría de masas

TIPO DE ESTUDIO

Se ha realizado un estudio transversal en la Clínica de Estomatología del Complejo Regional Sur de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en la ciudad de Tehuacán, en un periodo de tiempo comprendido de Enero a Diciembre del 2017. Se comparó la composición salival de un grupo de pacientes diabéticos y pacientes hipertensos con pacientes sanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Una vez detectados los pacientes hipertensos y diabéticos en la Clínica de Estomatología del Complejo Regional Sur de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla en la ciudad de Tehuacán, que eran candidatos al estudio, fueron informados del procedimiento protocolario y se tomó su consentimiento para proceder a la toma de la muestra de saliva.

Aproximadamente 3ml de saliva total de 42 pacientes en reposo, entre las 10 y las 11hrs, fueron recuperados del piso de la boca con una jeringa desechable sin aguja que posteriormente, fue almacenada en refrigeración a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio. La historia clínica general así como la observación física y la inspección de la encía fueron los parámetros utilizados en este estudio para asignar una categoría a los pacientes, las cuales fueron las siguientes: paciente sano sin enfermedades sistémicas crónicas diagnosticadas y sin gingivitis y/o periodontitis, pacientes con gingivitis y/o periodontitis y, pacientes con hipertensión arterial y/o diabetes.

Las muestras de saliva de 22 pacientes fueron aptas en cantidad y calidad para proseguir con el protocolo experimental y entonces, fueron centrifugadas a 10´000 rpm x 15 min para separar todo el material inorgánico insoluble, el sobrenadante con la fase acuosa fue recuperado y el contenido proteico cuantificado por medio del sistema Nanodrop, se utilizaron 2 l de cada de las muestras para obtener las concentraciones de proteína total.

Para separar a las proteínas presentes en las muestras de saliva de los pacientes, se realizó una electroforesis SDS-PAGE con un gel concentrador de acrilamida al 4% y un gel separador de acrilamida al 10 o 12%. 50 µg de proteína total de cada muestra de saliva fueron separadas, las muestras fueron mezcladas con buffer Laemmli y colocadas a ebullición en baño María durante 10 min para después ser colocadas en el gel y comenzar la separación. Las muestras se corrieron a 80v durante 15 min y después el voltaje fue aumentado a 110v hasta obtener la separación deseada de las proteínas guiándonos siempre con las bandas del marcador de peso molecular comercial. Para la visualización de las proteínas separadas, el gel fue fijado después de la separación con ácido acético y metanol y posteriormente, teñido con azul de Coomassie.

Para el análisis de las muestras de saliva por espectrometría de masas MALDI-TOF (ionización de desorción con láser asistido por matriz / tiempo de vuelo), se utilizó el mismo procedimiento hasta recuperar la fase acuosa de cada una y se conservaron en refrigeración hasta desarrollar el protocolo, el cual consistió a grandes rasgos, en el fraccionamiento de las proteínas contenidas en las muestras con tripsina modificada de grado de secuenciación a 37°C durante la noche. Los péptidos digeridos resultantes, se mezclaron con la matriz CHCA (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico) y se colocaron en los pozos de una placa para la identificación por MALDI-TOF MS / MS. La identificación de proteínas se basó en mapeo de masa de huellas digitales de péptidos (utilizando espectros de MS) y mapeo de fragmentación de péptidos (utilizando espectros MS / MS).

RESULTADOS

Contrario a lo que se esperaba, el contenido de proteínas en las muestras de saliva de los pacientes mostró una concentración bastante aceptable. En muestras líquidas, generalmente ha sido reportado que la cantidad de proteína contenida se encuentra diluida y entonces, se requiere de un laborioso proceso de cuantificación para lograr óptimos resultados. Sin embargo, no fueron necesarios mayores esfuerzos y el procedimiento de la cuantificación de las muestras de saliva se realizó siguiendo el mismo protocolo que con cualquier otra muestra.

En general la cuantificación de proteína en las muestras de saliva presentó varias diferencias, dependiendo de la muestra resultó la cantidad de proteína. Las muestras de saliva de los pacientes con enfermedades gingivales o periodontales, presentaron la concentración de proteínas más elevada, pacientes sanos que no padecen ninguna enfermedad sistémica crónica así como tampoco una enfermedad bucal diferente a la caries, mostraron un contenido menor de concentración proteica, en cambio las muestras de los pacientes con alguna enfermedad sistémico crónica como la diabetes y/o hipertensión, mostraron también una concentración ligeramente mayor del contenido de proteínas, aunque no al mismo nivel de los pacientes con enfermedades periodontales. **Figura 11.**

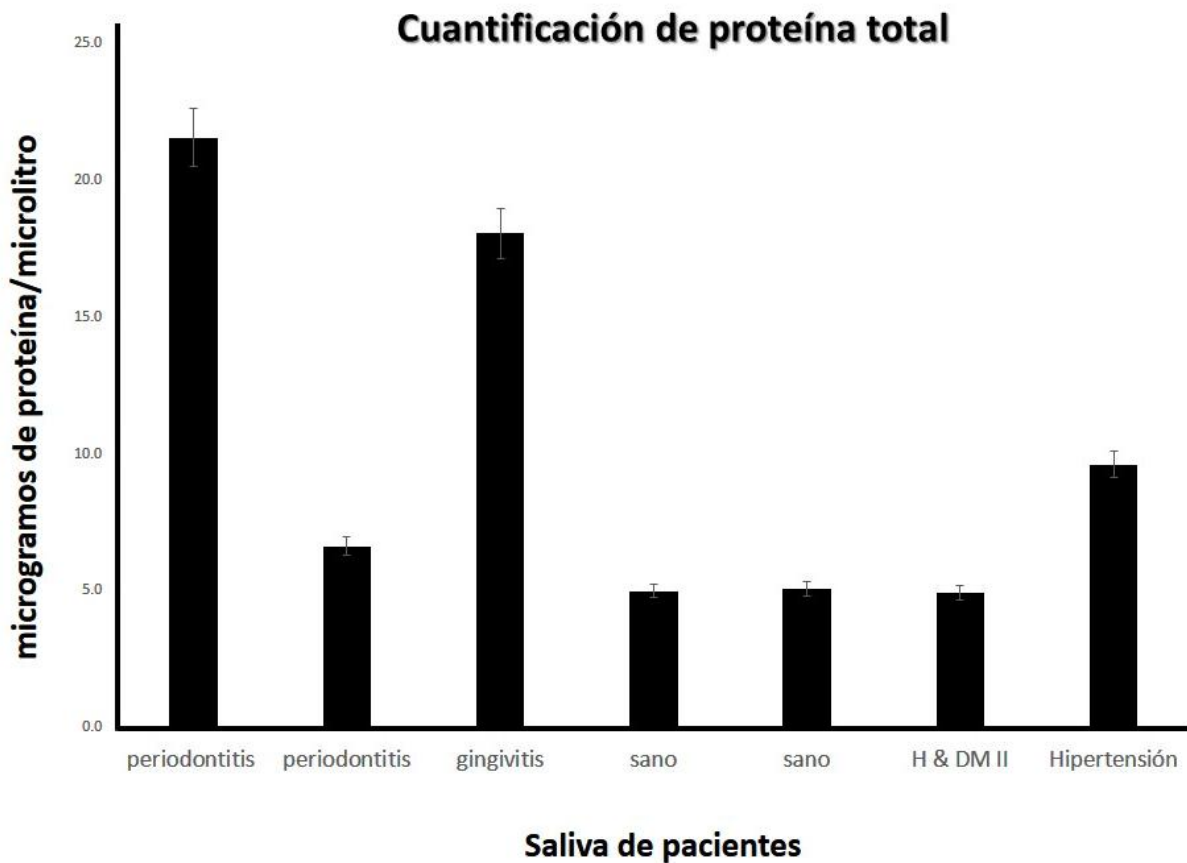


Figura 11. Concentración de proteína en las muestras de saliva de pacientes de la Clínica de Estomatología recolectadas para el desarrollo del proyecto.

A partir de la cuantificación de las muestras de saliva, se estudiaron los datos y las muestras fueron preparadas para analizar el total de las proteínas mediante la electroforesis. Los patrones de proteínas totales obtenidos en los geles de acrilamida y teñidos con Azul de Coomassie, mostraron las mayores diferencias en las proteínas que se ubican en un rango de peso molecular de 50-75 kDa. Resultan patrones complejos y heterogéneos para analizar, que resaltan las diferencias entre las condiciones de las muestras y de los pacientes. Destaca la presencia de dos bandas de aproximadamente 55 y 65 kDa de peso en todas las condiciones, siendo la banda más alta de 65 kDa la que presenta menor intensidad. En cambio, la banda de aproximadamente 55 kDa fue la más notable en el patrón electroforético y su intensidad fue variando dependiendo de la muestra

de saliva. En los pacientes con una enfermedad sistémica crónica como la hipertensión arterial, o bien con dos enfermedades sistémicas crónicas, como los pacientes con hipertensión arterial y diabetes a la vez, esta banda de proteína se observó mucho más intensa, siendo mucho mayor su expresión en esta última condición y llamando fuertemente nuestra atención. **Figura 12.**

De esta manera, persiguiendo realizar un análisis mucho más profundo de las muestras de saliva de los pacientes, y habiendo detectado diferencias de expresión en los patrones electroforéticos de las proteínas totales, procedimos al análisis de las muestras de saliva por medio de la espectrometría de masas, la cual es una técnica sofisticada y mucho más precisa para la separación de proteínas. La espectrometría de masas es una de las herramientas tecnológicas actuales, con mayor desarrollo y capacidad fina para la búsqueda de biomarcadores moleculares patológicos a partir de muestras totales que no requieren grandes procesamientos previos.

El espectrómetro de masas es un poderoso cromatógrafo capaz de analizar diferentes rangos de pesos moleculares para las proteínas en una concentración mínima de ellas. Nosotros enfocamos nuestro análisis en el rango de peso molecular en el que observamos las diferencias de proteínas en los geles, es decir, en un rango de 30 hasta 200 kDa. A grandes rasgos, la función principal del espectrómetro de masas es encontrar proteínas en una mezcla compleja de muestra y especificar dos aspectos básicos de ellas: su peso molecular y su intensidad dentro de la muestra total analizada.

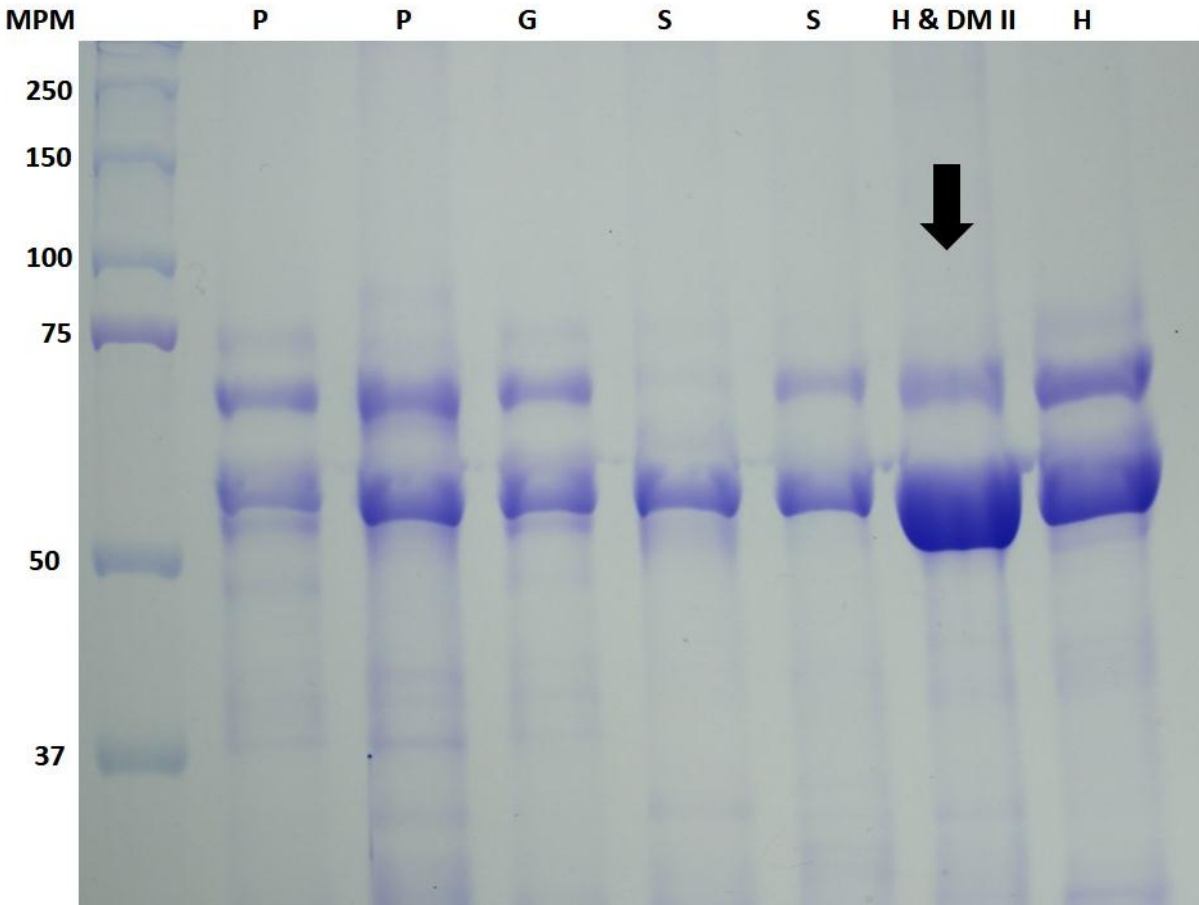


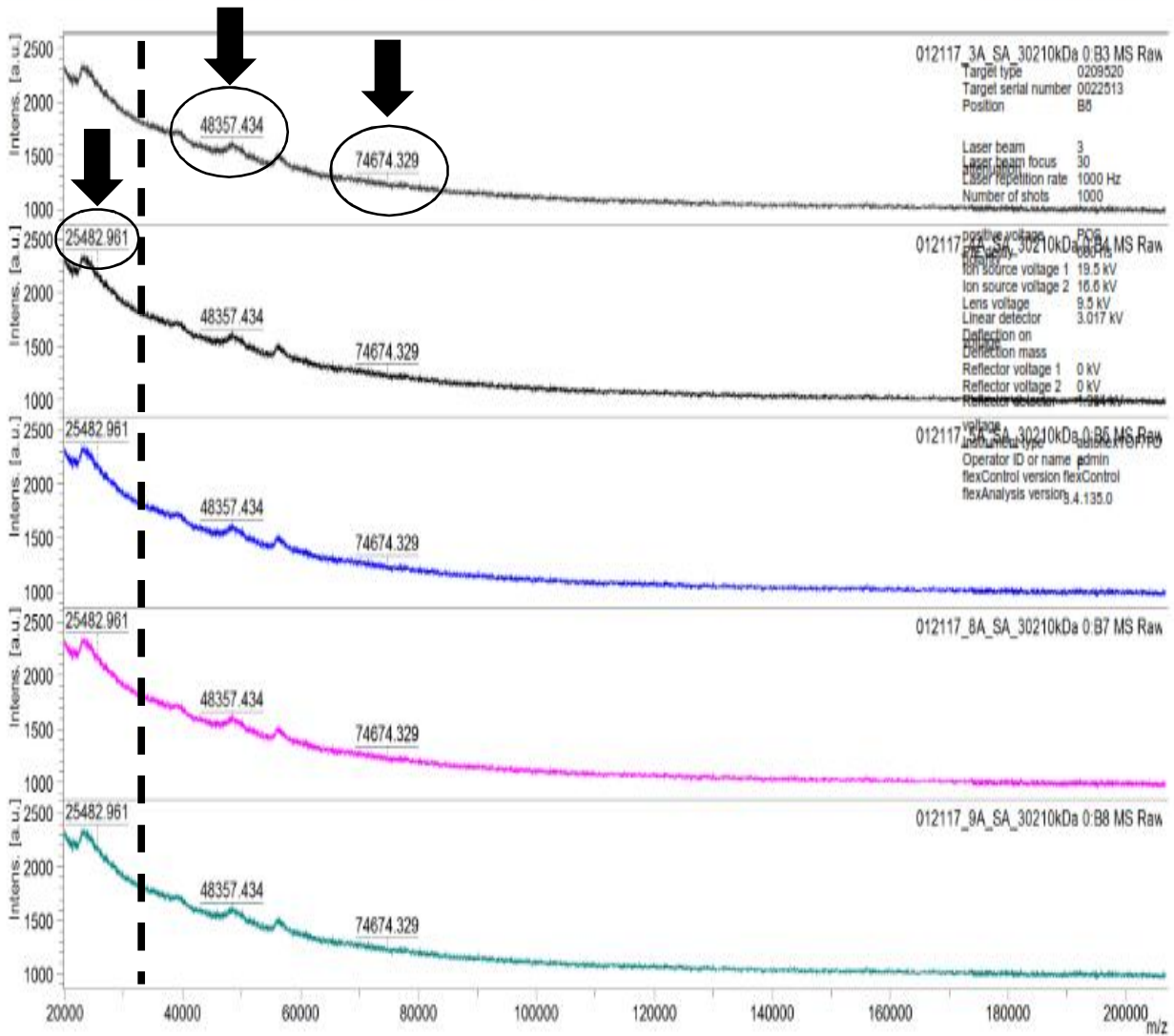
Figura 12. Patrones electroforéticos de las proteínas totales de las muestras de saliva

Todas las muestras de saliva que teníamos disponibles fueron analizadas por espectrometría de masas y en general presentaron resultados similares: 1) Una proteína con una intensidad por encima de la media de aproximadamente 50 kDa; 2) Una proteína de intensidad menor pero perfectamente perceptible, de aproximadamente 70-75 kDa y finalmente, 3) Una proteína de aproximadamente 25 kDa que es la más intensa de todas pero que desafortunadamente no pudimos observar en los geles ya que nuestro patrón de proteínas quedó establecido para proteínas medianas como la mencionamos, en un rango aproximado a partir de los 30 kDa. **Figura 13.**

A



Date of Acquisition 2017-01-21T12:41:19.017-06:00
 Acquisition method D:\Methods\flexControlMethods\LP_30-210_kDa.par
 Processing method
 File Name D:\Data\Definal\012117_9A_SA_30210kDa\0_B8\1



B

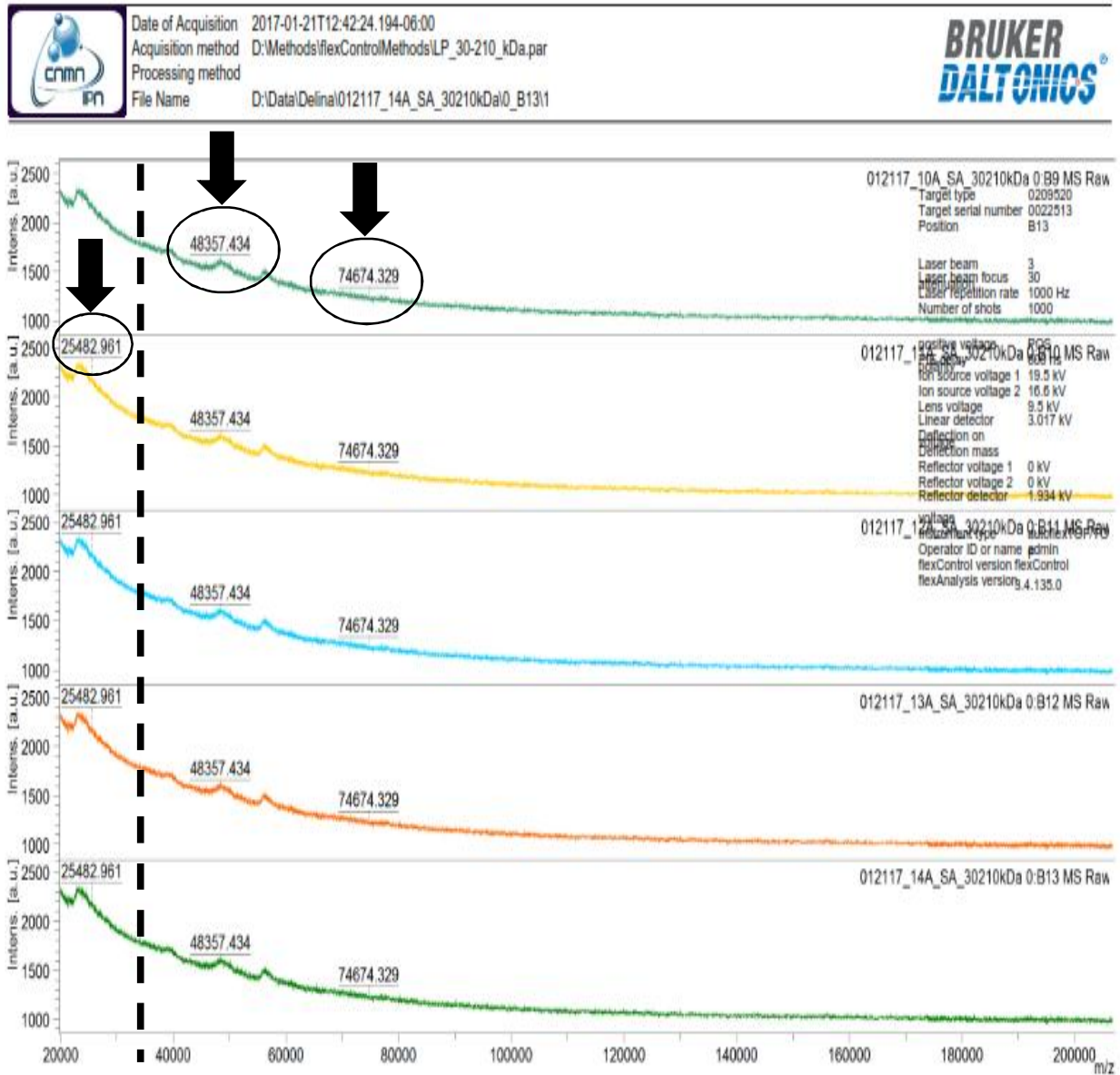


Figura 13. Análisis de las muestras de saliva de pacientes sanos sistémica y bucalmente, pacientes con gingivitis o periodontitis, pacientes con hipertensión arterial y/o diabetes mellitus, por medio de espectrometría de masas. En total se analizaron 10 muestras, las cuales están repartidas a la mitad entre las dos figuras, A y B.

Sin embargo, obviamente con estos resultados de la espectrometría de masas, comenzaremos un análisis mucho más profundo de las proteínas de bajo peso molecular contenidas en las muestras de saliva de los pacientes, ya que este hallazgo resulta interesante y novedoso en el proyecto en general.

DISCUSIÓN

La saliva humana tiene un gran potencial para el diagnóstico de enfermedades clínicas. La construcción de un catálogo completo de las proteínas de la saliva utilizando enfoques proteómicos es un primer paso necesario para identificar potenciales biomarcadores de proteínas. Sin embargo, debido al desafío presentado en la catalogación de proteínas salivales con una abundancia muy variable, nuevos enfoques técnicos son necesarios. **Figura 14.**

Los clínicos y los investigadores valoran la saliva humana como el último líquido corporal para el diagnóstico clínico de la enfermedad y la vigilancia pronóstica. Para identificar potenciales biomarcadores de proteínas en la saliva.

La amplia gama de abundancia de proteínas en la saliva total hace catalogar las proteínas de la saliva usando cualquier estrategia como un reto. Por lo tanto, para obtener un catálogo más completo de las proteínas de la saliva se necesitan enfoques innovadores.

La enfermedad periodontal, se caracteriza por la pérdida de adherencia gingival y la resorción ósea, resultante de la infección por patógenos periodontales, tales como *P. gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythia* (Tf) y *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*(Guo, 2014; Botero, 2010; Gurav, 2012)

Se ha informado que varios otros factores contribuyen al desarrollo de la enfermedad. Independientemente de cualquier otro factor de riesgo conocido, se sugiere que la obesidad y la hipertensión son factores de riesgo para la enfermedad periodontal y la pérdida de dientes, como se informó en estudios epidemiológicos recientes (Otomo-Corgel, 2012; Miyajima, 2014).

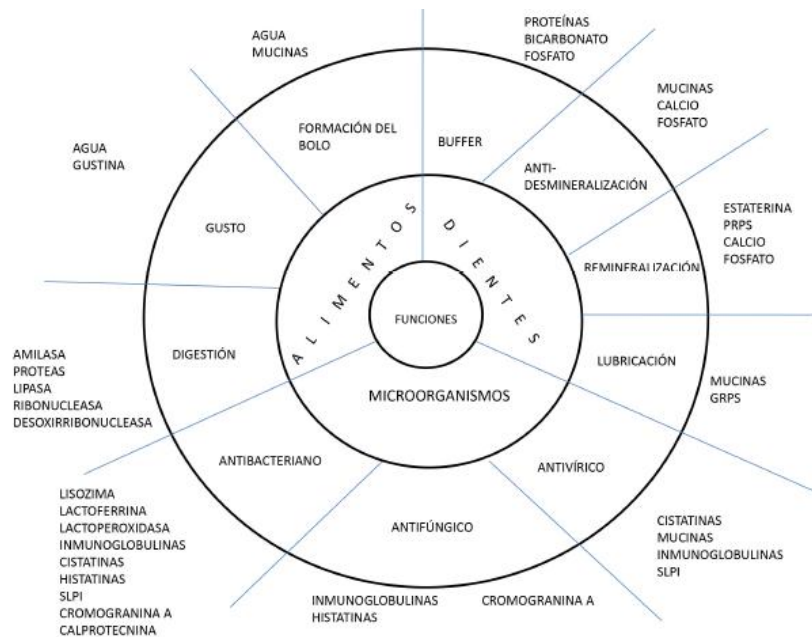


Figura 14. Complejidad de la saliva humana. En el primer círculo de adentro hacia afuera, podemos ver los elementos con los que interactúa la saliva. En el círculo medio tenemos las diversas funciones que lleva a cabo la saliva. En la parte externa podemos observar los diferentes componentes de la saliva.

Los mecanismos biológicos que pueden explicar la naturaleza de la asociación entre el síndrome metabólico y la enfermedad periodontal no son bien conocidos. Sin embargo, de los cinco componentes metabólicos, la obesidad abdominal juega el papel más significativo en la asociación entre la disfunción metabólica y la enfermedad periodontal por sexo. La obesidad en los seres humanos y la mayoría de los animales no depende del peso corporal, sino de la cantidad de grasa corporal, específicamente, del tejido adiposo. De este modo, las citocinas y

hormonas derivadas de tejidos adiposos pueden desempeñar un papel clave en la asociación(Goodson, 2014; Chauhan,2016).

La aplicación de diagnósticos salivales ha ganado importancia con el establecimiento de similitudes significativas entre los proteomas salivales y séricos. Más del 60% de las proteínas séricas asociadas a la DM2 se han medido en la saliva. Casi la mitad de estas proteínas han sido reportadas en la saliva diabética. Concluimos que un alto porcentaje de proteínas séricas asociadas a la DM2 se puede medir en la saliva, lo que ofrece una estrategia atractiva y económica para la detección de DM2.

La creciente prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) requiere el desarrollo de estrategias de detección concomitantes para la identificación temprana de individuos de alto riesgo para la enfermedad y / o sus complicaciones. Los avances en las tecnologías han identificado una serie de moléculas incluyendo variantes genéticas, proteínas, transcripciones de ARN y pequeños metabolitos que podrían servir como predictores del riesgo de diabetes(Srinivasan, 2015).

El monitoreo de los parámetros serológicos de la diabetes generalmente involucra técnicas invasivas asociados con dolor y angustia. Por lo tanto, el desarrollo de métodos no invasivos para el monitoreo frecuente de biomarcadores es un área creciente de investigación. La saliva humana es un rico depósito de analitos que comprende casi 3.000 proteínas y 12.000 Péptidos y comparte casi el 30% de las proteínas y el 10% de los péptidos con el proteoma sérico y el péptido, respectivamente(Llena Puy, 2006; Zhang, 2013).

Se utilizó el método cerrado de descubrimiento basado en la literatura para identificar la presencia en la saliva de las proteínas del suero que se correlacionan con los procesos fisiopatológicos de la DM2. La capacidad de predecir e identificar la aparición de la enfermedad / progresión por paneles biomarcadores es conocida

por aumentar al incluir proteínas de más de una vía patológica(Soon Che, 2016; Torumtay, 2016).

Los biomarcadores salivales discriminatorios para patologías como el cáncer de mama, pulmón y páncreas han sido identificados y prevalidados con éxito. Se debe tener precaución ya que el tipo de muestra (estimulada / no estimulada, saliva entera / glandular), las variaciones circadianas y la susceptibilidad al pre-procesamiento son algunos de los parámetros de confusión que deben abordarse en la selección y validación de biomarcadores(Wang, 2016; Kaur, 2017; Xie, 2012).

Las enfermedades humanas que tienen impacto global incluyen cáncer, enfermedades cardiovasculares, metabólicas y neurológicas. El diagnóstico de estas enfermedades se está convirtiendo en un desafío y, por tanto, requiere complementar la evaluación clínica con pruebas de laboratorio(Hall, 2017; Kamer, 2008; Zuanazzi, 2017; Abrao, 2016). Los diagnósticos salivales son muy prometedores como una modalidad efectiva para el diagnóstico precoz, el pronóstico y el seguimiento de la posterapia. La saliva entera es una mezcla de las secreciones de las glándulas salivales mayores y menores, las transudaciones de la mucosa, el fluido crevicular gingival, los derivados del suero y de la sangre de las heridas orales, las células epiteliales descamadas, las secreciones expectoradas bronquiales y nasales, las bacterias y los productos bacterianos, los virus y hongos, otros componentes celulares y residuos de alimentos. Es un fluido complejo que contiene toda una biblioteca de hormonas, proteínas, enzimas, anticuerpos, constituyentes antimicrobianos y citoquinas(Matafora, 2014; Zhang, 2017; Khueshid, 2016).

El mecanismo de entrada de estos constituyentes de la sangre a la saliva es por difusión intracelular transcendental, pasiva y transporte activo, o rutas paracelulares por ultrafiltración extracelular dentro de las glándulas salivales o a través del surco gingival. Las muchas ventajas de la saliva como herramienta

clínica sobre el suero y los tejidos son la recolección no invasiva de muestra, las alícuotas de muestra más pequeñas, la buena cooperación con los pacientes, la rentabilidad, el almacenamiento y transporte fáciles, la mayor sensibilidad y la correlación con los niveles en la sangre. Nuevas tecnologías prometedoras han revelado un gran número de biomarcadores salivales valiosos desde el punto de vista médico para diferentes enfermedades incluyendo cáncer, enfermedades autoinmunes, virales, bacterianas, cardiovasculares y metabólicas(Javai, 2015; Xie, 2005; Al-Tarawneh, 2009).

El amplio espectro de moléculas presentes en la saliva proporciona información valiosa para aplicaciones de diagnóstico clínico. La saliva total se utiliza con mayor frecuencia para el diagnóstico de enfermedades sistémicas, ya que se puede recoger fácilmente y contiene la mayor parte de los constituyentes del suero.

Figura 15.

En esta era de la medicina basada en la evidencia, es necesario seguir trabajando para establecer las mejores condiciones. A medida que se disponga de mayor conocimiento sobre los factores etiológicos y la patología de la enfermedad periodontal en relación con las condiciones sistémicas, la investigación debe cambiar hacia los avances en el tratamiento efectivo. La mayoría de los investigadores han encontrado conexiones estadísticamente significativas entre estas condiciones sistémicas y la enfermedad periodontal de moderada a severa(Al-Tarawneh, 2011; Teles, 2009; Schwalz, 2016; Majem, 2015).

Por lo tanto, una mayor conciencia de los efectos de la salud bucal en la salud sistémica debe ponerse a disposición del público. Las tareas simples de salud bucal, como el cepillado y el uso del hilo dental, y la limitación de otros factores de riesgo, como el tabaquismo, pueden ayudar a disminuir inicialmente las bolsas periodontales y la flora bacteriana periodontal, disminuyendo la probabilidad de progresión de la enfermedad periodontal causando estas enfermedades sistémicas perjudiciales.

Product (company details)	Condition	Analyte	Principle	References
Strand Germline Cancer Test	Cancer risk assessment	DNA	Targets entire coding regions of the BRCA1, BRCA2, and TP53 genes for breast and ovarian cancer predisposition.	http://sapientbio.com/product/specialty-genomic-panels/
CTGT connective tissue gene test	Achondroplasia (ACH) / Hypochondroplasia (HCH)	DNA	Sanger Sequencing or Deletion / Duplication or Sanger / Del Dup Comprehension	http://ctgt.net/disorder/achondroplasia-ach-hypochondroplasia-hch
Ambry Genetics™	Familial Hypercholesterolemia	DNA	Deletion/Duplication Analysis Gene Sequence Analysis Specific Site Analysis	http://www.ambrygen.com/tests/familial-hypercholesterolemia
JScreen	Tay Sachs screening	DNA	Gene Sequencing	https://screen.org/learn-more/diseases/tay-sachs/
Sickle Cell Anemia Mutation Detection Test	Sickle Cell Anemia detection	DNA	Sanger Sequencing	http://www.xcelrisdiagnostics.com/PDF/Hereditary-Diseases/Sickle%20Cell%20Anemia.pdf
Oral Fluid NanoSensor Test (OFNASET)	Determination of various diseases	Nucleic acids and protein	Polymer Micropatterned electrodes Electric-induced deposition	http://hspp.dent.ucla.edu/about.html
Ora Quick ADVANCE Rapid HIV-1/2 Antibody Test (OraSure Technologies, Bethlehem, Pa.)	Screening and risk assessment test for HIV	Protein	Detects antibodies to HIV-1 and HIV-2	http://www.orasure.com/products-infectious/products-infectious-oraquick.asp
VigilantBIO	Oral cancer screening	Hyaluronic acid, hyaluronidase and CD44	Detects specific protein markers	http://vigilantbiosciences.com/oncalert-technology/#assessmenttest
SaliMark™ OC (PeriRx LLC)	Oral cancer risk assessment	Certain discrete biomarkers and proteins	Elevation of combinations of biomarkers which are consistent with an increased risk of oral cancer	http://perirx.com/products/oral-cancer-salivary-diagnostic-test/
MyPerioPath®	Periodontal disease	Bacteria	Identifies the type and concentration of specific perio-pathogenic bacteria that are known to cause periodontal disease	http://www.oraldna.com/Resources/MyPerioPathCutSheet.pdf
OraRisk™ HPV	Oral Human Papillomavirus	Viral	Identifies the type(s) of oral HPV	http://www.oraldna.com/Resources/OraRiskHPVCutSheet.pdf

Figura 15. En esta figura se pueden observar diferentes pruebas comerciales disponibles hasta el momento que utilizan a la saliva como medio para el diagnóstico de alguna patología. Se reportan en su nomenclatura original, ya que no existen los productos equivalentes con traducción.

CONCLUSIONES

En este manuscrito, hemos demostrado que biomarcadores proteicos están presentes en la saliva humana. A pesar de ser un estudio de prueba de concepto, este es el primer estudio que realizó un enfoque de descubrimiento de biomarcadores de novo en la saliva para la detección de enfermedades sistémicas. Los datos colectivamente demostraron que tres proteínas salivales podrían potencialmente ser utilizadas como biomarcadores discriminatorios para diferenciar proteínas salivales específicas.

La saliva humana es un biofluido de detección precoz atractivo debido a que su colección no es invasiva y contiene una gran variedad de proteínas, muchas de las cuales han demostrado ser informativas para la detección de enfermedades orales y sistémicas.

El uso de la saliva como alternativa para el diagnóstico o como elemento para monitorear la evolución de determinadas enfermedades es una vía prometedora, incrementándose su atractivo para el diagnóstico mediante la comercialización de pruebas sencillas, por otro lado, la óptima accesibilidad y la ausencia de métodos cruentos para obtener muestras biológicas, son otras de las ventajas que ofrece la saliva como instrumento diagnóstico.

En este trabajo en particular, usando la técnica de la electroforesis de proteínas, así como la espectrometría de masas, fue posible la identificación de algunas bandas proteicas interesantes que requieren un mayor análisis a futuro para tratar de dimensionar su participación en la saliva de los pacientes con enfermedades sistémicas crónicas.

La búsqueda de biomarcadores clínicos de enfermedades sistémicas crónicas en la saliva sigue siendo un área de investigación difícil de abordar pero interesante y posible, con el desarrollo de tecnologías sofisticadas pero que arrojan datos y pistas importantes en el área.

BIBLIOGRAFIA

1. Abhijit N. Gurav. Periodontal therapy -- an adjuvant for glyceimic control(2012). Diabetes metab syndr, 6(4): 218. 223, doi: 10.1016/j.dsx.2012.09.007
2. Abhishek Chauhan, Suraj Singh Yadav, Pradeep Dwivedi, Nand Lal, Kauser Usman, Sanjay Khattri(2016). Correlation of serum and salivary cytokines level with clinical parameters in metabolic syndrome with periodontitis. J clin lab anal, 30(5): 649. 655. Doi: 10.1002/jcla.21917.
3. Aline Luria P. Abrão, Denise Pinheiro Falcao, Rivadávio Fernández Batista de Amorim, Ana Cristina B. Bezerra, Gilson Augusto N. M. Pombeiro, Luciano Junqueira Guimarães, Felipe Fregni, Luciano Paulino Silva, Licia Maria Henrique Da Mota (2016). Salivary proteomics anew adjuvant approach to the early diagnoia of familial juvenile systemic lupus erythematosus. Med hypotheses, 89: 97. 100. Doi: 10.1016/j.mehy.2016.02.010
4. Al-Tarawneh, S. K., & Bencharit, s. (2009). Applications of surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight (seldi-tof) mass spectrometry in defining salivary proteomic profiles. The open dentistry journal, 3, 74. 79
5. Anaya-Saavedra Gabriela, Ramírez Amador Velia Aydee(2012). La biología molecular en la prevención de las enfermedades bucales. Revista de ciencias clínicas,13(1):7-22.
6. Banderas-Tarabay José Antonio, González Begne Mireya, Sánchez Garduño Artha, Millan Cortez Elva, López Rodríguez Araceli, Vilchis Velázquez Araceli (1997). Flujo y concentración de proteínas en saliva total. Scielo, 39(5)

7. Botero je, Bedoya e (2010). Determinantes del diagnóstico periodontal. Rev clin. Periodoncia implantol. Rehabil. Oral vol.3 (2); 94-99.
8. Carmen Llana Puy(2006). The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis.med. Oral patol oral cir bucal, 11:e449-55.
9. Castellanos Suarez José Luis, Díaz Guzmán Laura María, Gay Zarate Oscar. Medicina en odontología: manejo dental de pacientes con enfermedades sistémicas. 2nd ed. México: el manual moderno; 2002.
10. Chin Soon Chee, Khai Meng Chang, Mun Fai Loke, Voon Pei Angela Loo, Visvaraja Subrayan(2016). Association of potential salivary biomarkers with diabetic retinopathy and its severity in type-2 diabetes mellitus: a proteomic analysis by mass spectrometry. Peerj, 4: e2022, doi: 10.7717/peerj.2022.
11. D. Zuanazzi, E. J. Arts, P. K. Jorge, Y. Mulyar, R. Gibson, Y. Xiao, M. Bringel dos Santos, Maria Aparecida A M. Machado, W. L. Siqueira (2017).postnatal identification of zika virus peptides from saliva. J dent res, 96(10): 1078. 1084. Doi: 10.1177/0022034517723325.
12. Daniela Pereira Lima, Diego García Diniz, Suzely Adas Saliba Moimaz, Dóris Hissako Sumida, Ana Cláudia Okamoto (2010). Saliva: reflection of the body. Int j infect dis, 14(3): e184. e188, doi: 10.1016/j.ijid.2009.04.022.
13. G. Torumtay, F. Y. Kirzio lu, M. Öztürk Tonguç, B. Kale, M. Calapo lu, H. Orhan(2015). Effects of periodontal treatment on inflammation and oxidative stress markers in patients with metabolic syndrome. J periodontal res, 51(4): 489. 498, doi: 10.1111/jre.12328
14. Giuseppe Pizzo, Rosario Guiglia, Lucio Lo Russo, Giuseppina Campisi(2010). Dentistry and internal medicine: from the focal infection theory to the periodontal medicine concept. Eur j intern med, 496. 502. Doi: 10.1016/j.ejim.2010.07.011

15. Helmerhorst ej, Dawes C, Oppenheim Fg (2018).the complexity of oral physiology and its impact on salivary diagnostics. *Oral dis*, 24(3):363-371, doi: 10.1111/odi.12780.
16. Hongwei Xie, Nelson I. Rhodus, Robert J. Griffin, John V. Carlis, Timothy J. Griffin(2005).a catalogue of human saliva proteins identified by free flow electrophoresis-based peptide separation and tandem mass spectrometry. *Mol cell proteomics* 1826. 1830, doi: 10.1074/mcp.d500008-mcp200
17. Hortencia Chavez Oseki, V. Javier Vega Galin, Diana Sierra Arango, Susselis Ramírez Florentino, Ycenna Hernández Miramontes(2010). Fisiología del gusto. *Oral*, 625-631.
18. Israel Lerman Garber, Carlos A. Aguilar-Salinas, Francisco J. Gómez-Pérez, Alfredo Reza Albarrán, Sergio Hernández Jiménez, Cuauhtémoc Vázquez Chávez, Juan A. Rull(2004). El síndrome metabólico características del síndrome metabólico en México, pp 109-122
19. J. Kaur, R. Jacobs, Y. Huang, N. Salvo, C. Politis (2018).salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. *Clin oral investig*. Doi: 10.1007/s00784-018-2337-x.
20. J. Max Goodson, Alpdogan Kantarci, Mor-li Hartman, Gerald V. Denis, Danielle Stephens, Hatice Hasturk, Tina Yaskell, Jorel Vargas, Xiaoshan Wang, Maryann Cugini, Roula Barake, Osama Alsmadi, Sabiha Al-Mutawa, Jitendra Ariga, Pramod Soparkar, Jawad Behbehani, Kazem Behbehani, Francine Welty(2014). Metabolic disease risk in children by salivary biomarker analysis. *Plos one.*,9(6): e98799, doi: 10.1371/journal.pone.0098799
21. Jingyi Liu, Yixiang Duan (2012). Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring.*oral oncol*, 48(7): 569. 577. Doi: 10.1016/j.oraloncology.2012.01.021

22. Jirong Long, Qiuyin Cai, Mark Steinwandel, Margaret K. Hargreaves, Seth R. Bordenstein, William J Blot, Wei Zheng, Xiao Ou Shuj(2017). Association of oral microbiome with type 2 diabetes risk periodontal res. 52(3): 636. 643,. Doi: 10.1111/jre.12432.
23. Joan Otomo-corgel, Jeffery J. Pucher, Michael P. Rethman, Mark A. Reynolds J (2012). State of the science: chronic periodontitis and systemic health. Evid based dent pract, (3 suppl): 20. 28. Doi: 10.1016/s1532-3382(12)70006-4
24. K. Al-tarawneh Sandra, B. Boder Michael, F. Dibble Christopher, Bencharit Sompop(2010). Defining salivary biomarkers using mass spectrometry-based proteomics: a systematic review. Omics, 15(6)
25. Khurshid, Z., Zohaib, S., Najeeb, S., Zafar, M. S., Slowey, P. D., & Almas, K. (2016). Human saliva collection devices for proteomics: an update. International journal of molecular sciences, 17(6), 846.
26. Kim, J., & Amar, S. (2006). Periodontal disease and systemic conditions: a bidirectional relationship. Odontology / the society of the nippon dental university, 94(1), 10. 21. Http://doi.org/10.1007/s10266-006-0060-6
27. Kodukula, K., Faller, D.V., Harpp, D.N., Kanara, I., Pernokas,J., Pernokas, M., Powers, W.R., Soukos, N.S., Steliou, K., & Moos, W.h. (2017). Gut microbiota and salivary diagnostics: the mouth is salivating to tell us something. *Bioresearch open access*.
28. Luigi Nibali, Francesco D'aiuto, Gareth Griffiths, Kalpesh Patel, Jean Suvan, Maurizio S. Tonetti(2007).severe periodontitis is associated with systemic inflammation and a dysmetabolic status: a case-control study. J clin periodontol, 34(11): 931. 937, doi: 10.1111/j.1600-051x.2007.01133.
29. M. Castagnola, P.M. Picciotti, I. Messana, C. Fanali, A. Fiorita, T. Cabras, I. Calò1, E. Pisano, G.C. Passali, F. Lavarone, g. Paludetti1, E. Scarano1 (2011). Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. Acta otorhinolaryngologica italica, 31:347-357.

30. Majem, B., Rigau, M., Reventós, J., & Wong, D. T. (2015). Non-coding rnas in saliva: emerging biomarkers for molecular diagnostics. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 8676-8698. [Http://doi.org/10.3390/ijms16048676](http://doi.org/10.3390/ijms16048676).
31. Martín Rosas Peralta, Agustín Lara Esqueda, Gustavo Pastelín Hernández, Oscar Velázquez Monroy, Jesús Martínez Reding, Arturo Méndez Ortiz, José-Antonio Lorenzo Negrete, Catalina Lomelí Estrada, Antonio González Hermosillo, Jaime Herrera Acosta, Roberto Tapia(2005). Conyer, fause attie, re-encuesta nacional de hipertensión arterial (renahta): consolidación mexicana de los factores de riesgo cardiovascular. *Cohorte nacional de seguimiento*, 2005:96-111
32. Maximilian Krüger, Torsten Hansen, Adrian Kasaj, Maximilian Moergel (2013).the correlation between chronic periodontitis and oral cancer. *Case rep dent*, 2013: 262410. Doi: 10.1155/2013/262410
33. Mohammad A. Javaid, Ahad S. Ahmed, Robert Durand, Simon D. Tran (2016). Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases. *J oral biol craniofac res*, 6(1): 66-75, doi: 10.1016/j.jobcr.2015.08.006.
34. Narasimhan Malathi, Sabesan Mythili and Hannah R. Vasanthi (2014). Salivary diagnostics: a brief review. *Isrn dentistry*, id 158786, 8pages.
35. Ndine Spielmann and David T. Wong (2011). Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *National Institute of Health*,17(4), 345-354.
36. Om Andriankaja, S. Sreenivasa, R. Dunford, E. Denardins(2010). Association between metabolic syndrome and periodontal disease. *Australian dental journal*, 55: 252-259.
37. Paul Zimmata, K. George M.M. Albertib y Manuel serrano ríos (2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la federación internacional de diabetes: fundamento y resultados. *Rev esp cardiol*, 58(12):1371-6.

38. Paul Zmmeta, K. George M.M. Albertib y Manuel Serrano Ríos(2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la federación internacional de diabetes: fundamento y resultados. *Rev esp cardiol*, 58(12):1371-6.
39. Perea González Gloria Patricia, Aparico Rodríguez Juan Manuel, Cordero Perea Hazel, Estrada Esquivel Blanca Estela, Soberantes de la Fuente Ester Luminosa, Vega Galina Víctor Javier. Factores de riesgo en los consultorios dentales en pacientes embarazadas, hipertensos y diabéticos. 1ra ed. México: d.r. Benemérita universidad autónoma de puebla, 2010.
40. Qvarnstrom, M., Janket, S., Jones, J. A., Nuutinen, P., Baird, A. E., Nunn, M. E. Meurman, J. H. (2008). Salivary lysozyme and prevalent hypertension. *Journal of dental research*, 87(5), 480. 484
41. Saxena, S., Snkhla, B., Sundaragiri, K. S., & Bhargava, A. (2017). A review of salivary biomarker: a tool for early oral cancer diagnosis. *Advanced biomedical research*, 6, 90. [Http://doi.org/10.4103/2277-9175.211801](http://doi.org/10.4103/2277-9175.211801).
42. Schmalz, G, Li, B., Burkhardt, R., Rinke, S., Krause, F., Haak, R., & Ziebolz, D. (2016). Micrnas as salivary markers for periodontal diseases: a new diagnostic approach? *Biomed research international*.
43. Shin-ichi Miyajima, Keiko Naruse, Yasuko Kobayashi, Nobuhisa Nakamura, Toru Nishikawa, Kei Adachi, Yuki Suzuki, Takeshi Kikuchi, Akio Mitani, Makoto Mizutani, Norikazu Ohno, Toshihide Noguchi, Tatsuaki Matsubara (2014).periodontitis-activated monocytes/macrophages cause aortic inflammation. *Sci rep.*, 4: 5171. Doi: 10.1038/srep05171.
44. Soares Nunes Lazaro Alessandro, Mussavira Sayeeda, Sukumaran Bindhu Omana(2015). Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systemic review. *Biochemia medica*, 25(2):177-92

45. Steven C. Hall, Maria E. Hassis, Katherine E. Williams, Matthew E. Albertolle, Akraporn Prakobphol, Andrew B. Dykstra, Megan Laurance, Katherine Ona, Richard K. Niles, Namrata Prasad, Matthew Gormley, Caroline Shiboski, Lindsey A. Criswell, H. Ewa witkowska, and Susan J. Fisher(2017). Alterations in the salivary proteome and n-glycome of sjögren's syndrome patients. *Journal of proteome research*, 16 (4), 1693-1705, doi: 10.1021/acs.jproteome.6b01051
46. Sylwia Chojnowska, Tomasz Baran, Iwona Wilinska, Paulina Sienicka, Iwona Cabaj-wiater, Malgorzata Knas (2018). Human saliva as a diagnostic material. *Elsevier*,185-91.
47. Teixeira, F. B., Saito, M. T., Matheus, F. C., Prediger, R. D., Yamada, E. S., Maia, C. S. F., & Lima, r. R. (2017). Periodontitis and alzheimer's disease: a possible comorbidity between oral chronic inflammatory condition and neuroinflammation. *Frontiers in aging neuroscience*, 9, 327. [Http://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00327](http://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00327).
48. Teles, R. P., Ikhari, V., Socransky, S. S., & Haffajee, a. D. (2009). Salivary cytokine levels in chronic periodontitis and periodontally healthy subjects. A cross-sectional study. *Journal of periodontal research*, 44(3), 411. 417.
49. Tina Ptafa, Juntin Cooper-white, Peter Beyerlein, Karam Kostner, and Chamindie Punyadeera (2011). Diagnostic potencial of saliva: current state and future applications. *Clinical chemistry*, 57:5 675-687.
50. Vittoria Matafora, Laura Zagato, Mara Ferrandi, Isabella Molinari, Gianpaolo Zerbini, Nunzia Casamassima, Chiara Lanzani, Simona Delli Carpini, Francesco Trepiccione, Paolo Manunta, Angela Bachi, Giovambattista Capasso(2014).Quantitative proteomics reveals novel therapeutic and diagnostic markers in hypertension. *Bba clin*. 2014 dec; 2: 79. 87, doi: 10.1016/j.bbacli.2014.10.001.

51. Xinxing Guo, Yiling Wang, Chunling Wang, Jing Chen (2015). Identification of several hub-genes associated with periodontitis using integrated microarray analysis .mol med rep.,11(4): 2541. 2547. Doi: 10.3892/mmr.2014.3031.
52. Y. Kobayashi, K. Niu, I. Guan, H. Momma, H. Guo, Y. Cui, R. Nagatomi(2012). J oral health behavior and metabolic syndrome and its components in adults. Dent res, 91(5): 479. 484
53. Yi-shing Lisa Cheng, Terry Rees and John Right (2014).a review of research on salivary biomarkers for oral cancer detection. Cheng et al. Clinical tranlational medicine, 3:3.
54. Zhang Aihua, Sun Hui, Wang Ping, Wang Xijun (2013). Salivary proteomics in biomedical research. Elsevier,;415:261-265.
55. Zhang, X., Walsh, T., Atherton,J. J., Kostner, K., Schulz, B., & Punyadeera, C. (2017). Identification and validation of a salivary protein panel to detect heart failure early. Theranostics, 7(18), 4350. 4358. [Http://doi.org/10.7150/thno.21727](http://doi.org/10.7150/thno.21727).
56. Zijun Xie, Gang Chen, Xuchao Zhang, Dongfeng Li, Jian Huang, Cuiqin Yang, Pingyong Zhang, Yuxuan Qin, Yifan Duan, Bo Gong, Zijun Li (2013).salivary micrnas as promising biomarkers for detection of esophageal cancer. Plos one, 2013; 8(4): e57502. Doi: 10.1371/journal.pone.0057502

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Recolección de muestras y organización de las muestras
Agosto, Septiembre, Octubre y Noviembre 2016

Determinar la concentración de proteína.
Enero y Febrero 2017

Elaboración de los geles de proteína y tinción
HIFG, laboratorio de investigación biomédica básica
Facultad de estomatología URTeh
Marzo, Abril y Mayo 2017

Organización y redacción del protocolo del proyecto de investigación
Junio, Julio, Agosto 2017

Registro de la tesis en el CRS de la BUAP
Septiembre, Octubre 2017

Finalización de la redacción de la tesis
Junio, Julio 2018

Tramites administrativos
Agosto 2018

Presentación del examen de grado y defensa de la tesis de investigación
Noviembre 2018

GLOSARIO DE TÉRMINOS

IONIZACIÓN: Es el proceso químico o físico mediante el cual se producen iones, átomos o moléculas cargadas electrónicamente debido al exceso o falta de electrones respecto a un átomo o molécula neutra. Hay varias maneras por las que se pueden formar iones o átomos o moléculas. En ciertas reacciones químicas la ionización ocurre por la transferencia de electrones.

ELECTROFORESIS: Es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica, dependiendo de la técnica que se use.

ELECTROFORESIS DISCONTINUA: Electroforesis donde hay dos tipos de geles, un gel concentrador (stacking) de poros grandes, y un gel separador (running), de poros pequeños.

AZUL DE COOMASSIE: El nombre completo es azul brillante de Coomassie R-250. Se trata de un compuesto coloreado que se une a todo tipo de proteínas. Es poco soluble en agua, por lo que habitualmente se disuelve en una mezcla de agua, ácido acético y metanol o isopropanol.

WESTERN BLOT: Desarrollada en el laboratorio de George Stark, en Stanford, es una técnica analítica que se usa para detectar y cuantificar proteínas específicas en una muestra determinada, una muestra que por norma general tiene una gran cantidad de proteínas, unas que nos interesarán, y otras que no.

ESPECTROMETRÍA DE MASAS: Es una técnica de análisis que permite determinar la distribución de las moléculas de una sustancia en función de su masa.

DESNATURALIZAR: Bioquímica se entiende el cambio estructural de proteínas o ácidos nucleicos que lleva a la pérdida de la estructura nativa de la molécula de estas sustancias.

GELES DE ACRILAMIDA: Matriz gelatinosa, formada por una mezcla de acrilamida y bisacrilamida, que se emplea en técnicas de electroforesis de proteínas y ácidos nucleicos.

BIOMARCADORES: O marcador biológico es aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico. Debe poder medirse objetivamente y ser evaluado como un indicador de un proceso biológico normal, estado patogénico o de respuesta a un tratamiento farmacológico.

HOMEOSTASIS: Conjunto de fenómenos de autorregulación, conducentes al mantenimiento de una relativa constancia en la composición y las propiedades del medio interno de un organismo.

ELECTRÓLITO: Sustancia que se descompone en iones (partículas cargadas de electricidad) cuando se disuelve en agua o los líquidos del cuerpo. Algunos de los ejemplos de iones son el sodio, el potasio, el calcio, el cloruro y el fosfato.

ANEURISMA: Un aneurisma es un ensanchamiento o abombamiento anormal de una parte de una arteria debido a debilidad en la pared del vaso sanguíneo.

CATECOLAMINAS: Son un conjunto de neurotransmisores de la clase de las monoaminas, a la que también pertenecen las triptaminas (serotonina y melatonina), la histamina o la fenetilaminas. La dopamina, la adrenalina y la noradrenalina son las tres principales catecolaminas.

DISLIPIDEMIAS: Es la elevación de las concentraciones plasmáticas de colesterol o de triglicéridos, o la disminución de las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad que contribuyen al desarrollo de aterosclerosis. Las causas pueden ser primarias (genéticas) o secundarias.

CENTRIFUGAR: Es un método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad por medio de una fuerza giratoria. La fuerza centrífuga es provista por una máquina llamada centrifugadora, la cual imprime a la mezcla un movimiento de rotación que origina una fuerza que produce la sedimentación de los sólidos o de las partículas de mayor densidad.

SOBRENADANTE: Líquido que queda en la parte superior cuando se ha producido la decantación de una mezcla heterogénea.

SDS-PAGE: Es el acrónimo en inglés de sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico). Es una técnica ampliamente utilizada en bioquímica, genética, biología molecular y ciencia forense para separar las proteínas de acuerdo a su movilidad electroforética (en función de la longitud de la cadena polipeptídica, masa molecular, modificaciones postraduccionales y otros factores). Gracias al SDS las proteínas se desnaturalizan, perdiendo su conformación tridimensional. De este modo se obtiene un fraccionamiento que

obedece a: la diferencia de peso, la longitud de la cadena (tamaño) y la forma de la proteína.

CROMATOGRAFÍA: Es un método físico de separación para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia; es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

PROTEÓMICA: Es el estudio a gran escala de las proteínas, en particular de su estructura y función.

SEROLÓGICO: Del suero o relacionado con él.

RITMO CIRCARDIANO: Se utiliza en el ámbito de la biología para nombrar a las oscilaciones de ciertas variables de tipo biológico en un intervalo temporal regular. Este ritmo también se conoce como ritmo biológico.

Lo habitual es que el ritmo circadiano esté vinculado a modificaciones ambientales que también se desarrollan de manera rítmica. De todas maneras, es un ritmo endógeno (interno) que puede reducir o incrementar la duración del intervalo de acuerdo al ambiente.

Historia clínica

Fecha: _____

Nombre: _____ Sexo: () fem. () masc.

Ocupación: _____ Escolaridad: _____

Estado civil: _____

Lugar de nacimiento: _____ Fecha de nacimiento: _____

Domicilio: _____

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

¿Usted padece hipertensión arterial?

¿Desde hace cuánto tiempo?

¿Usted padece diabetes?

¿Desde hace cuánto tiempo?

TOMA DE SIGNOS

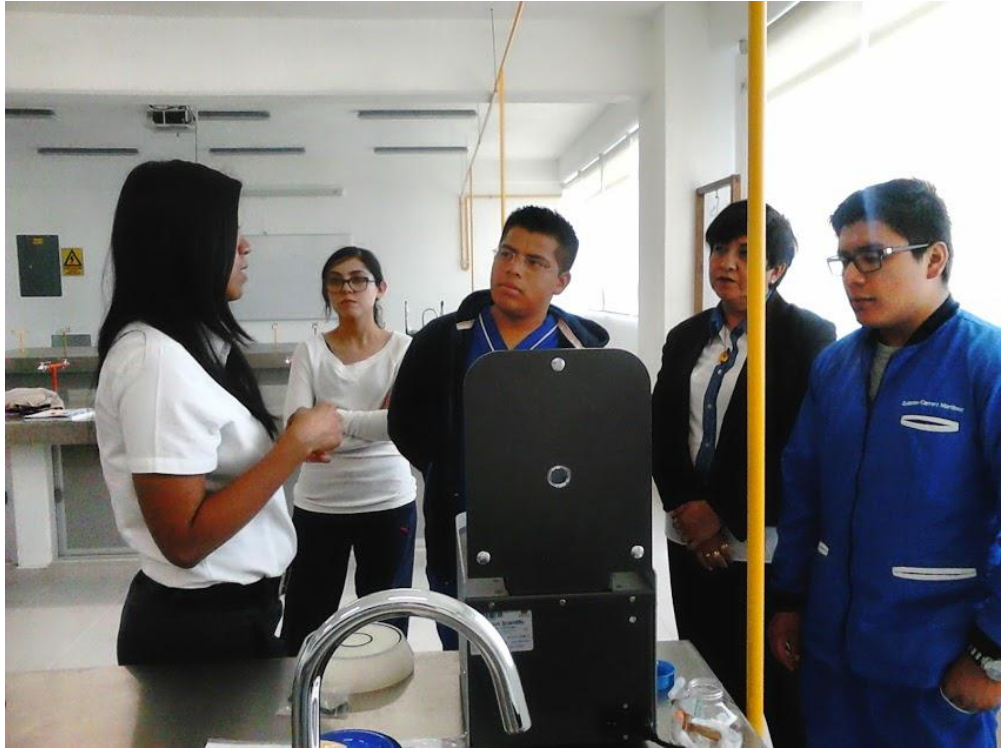
Glucosa:

Presión arterial:

Fotografías

CAPACITACIÓN DE EQUIPO DE LABORATORIO







INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

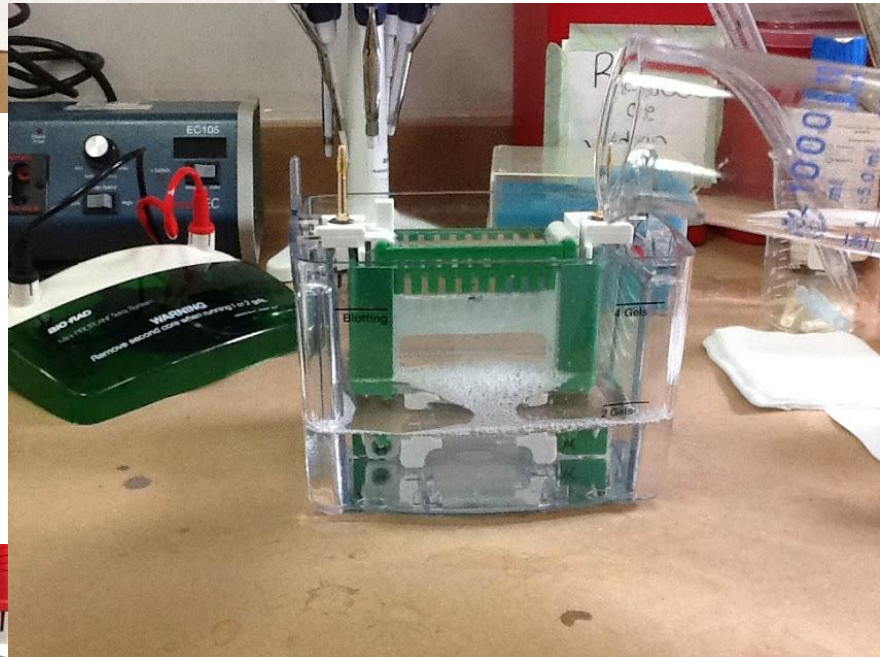


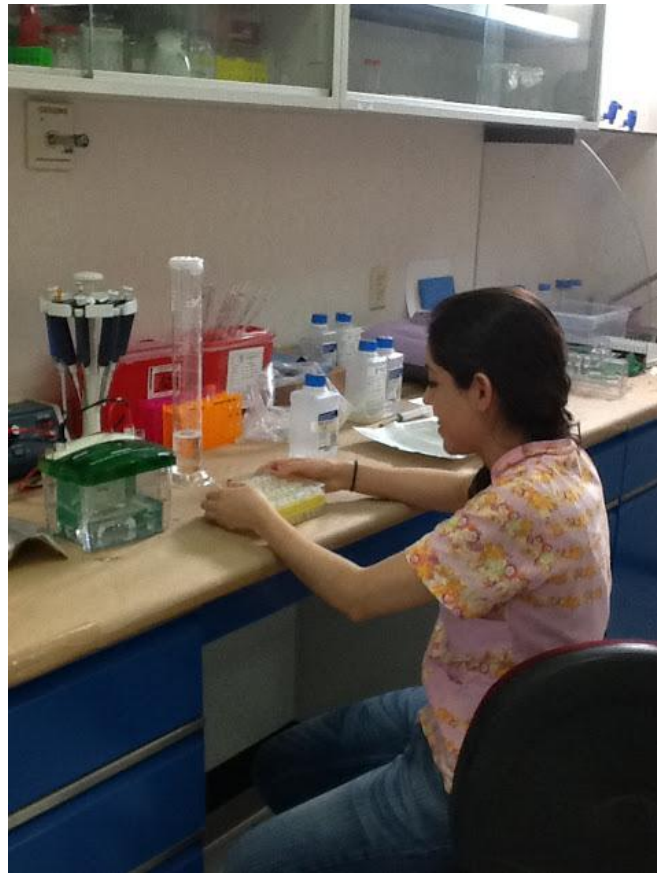
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN NEUROCIENCIAS



ELABORACION DE GELES DE ACRILAMIDA







CONGRESOS

CONGRESO NACIONAL E INTERNACIONAL POSGRADO E INVESTIGACION EN OONTOLOGIA

