



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANALISIS
ESCUELA DE BIOANALISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANALISIS CLINICO



**CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES Y FRACCIONADAS EN
SALIVA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO BIURET EN ADULTOS
SANOS**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Licenciada en Bioanálisis

Autora:

Ariana Maylef Valero Gutiérrez

C.I: V-26.052.744

Tutora:

Prof. Katiusca Villasana

Mérida, julio de 2024

DEDICATORIA

A **Papá Dios y a la Virgen Rosa Mística**, por haberme permitido llegar hasta este punto, dándome salud y fortaleza para avanzar cada día en la consecución de mis objetivos, y por su infinita misericordia y amor.

A la **memoria de mi abuelo Félix Emiro Gutiérrez**, cuya vida ha sido la inspiración para mí y para toda mi familia.

A mi **mamá Yanira Gutiérrez y abuela Carmen de Gutiérrez**, quienes son mi principal fuente de motivo y apoyo incondicional para cumplir cada uno de mis objetivos, por su inquebrantable confianza en mí y por inculcarme el deseo de ser mejor cada día.

A mis **hermanos Oriana y Jesús**, brillantes, fuertes, trabajadores e inteligentes; sin duda, los mejores hermanos que Dios me ha dado.

A mi **pareja Daniel González**, por tu paciencia, comprensión, motivación diaria y por creer siempre en mí.

Finalmente, va dedicado a todas aquellas personas quienes piensan que algo es imposible. No es así; con trabajo, paciencia, perseverancia, amor y, sobre todo, de la mano de Dios, todo se puede lograr.

¡Si Dios puso un sueño en tu corazón, es porque puso toda la capacidad para que ese sueño se cumpla y sea una realidad! Así que “nunca permitas que una idea mediocre limite la grandeza de tu alma, naciste para algo mucho más grande”

- Spencer Hoffmann

AGRADECIMIENTOS

A **Dios y a la Virgen Rosa Mística**, por darme vida y salud, permitiéndome llegar a este momento y poder concluir con esta gran meta.

A mi **mamá Yanira Gutiérrez**, por tu apoyo constante, por darme mucho más amor del que tu recibiste, por orar por mí siempre, y enseñarme a ser feliz y agradecida. Gracias porque nunca nada te detuvo para ser la mejor mamá del mundo. Este logro sin duda alguna es gracias a ti.

A mi **papá Jesús Valero**, tu influencia y apoyo han sido fundamentales en mi desarrollo personal y académico.

A mi **novio Daniel González**, por estar siempre en todo este trayecto para mí, por tus consejos e impulsarme a ser mejor cada día. Gracias por tu colaboración y compromiso, por celebrar mis triunfos y ser mi confidente.

A mi **tutora, profesora y Bioanalista Katiusca Villasana** por el aporte de sus conocimientos y su paciencia, por ser mi guía en la ejecución de este estudio, por agregar valor a la misma y proporcionar los recursos y el espacio necesario para la realización de la fase interactiva de la investigación, así mismo a Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica, han sido esenciales para la realización de este trabajo.

A las **profesoras del jurado evaluador, Odontólogo Belkis Quiñonez y Bioanalista Carmen Zulay Labrador**, por sus aportes y correcciones, agradecida en gran manera.

A las **Odontólogos María Auxiliadora Contreras y María Fernanda Sánchez** del consultorio odontológico M&M Dental, C.A., por su valiosa colaboración. Su profesionalismo y dedicación han sido básicos para el éxito de esta investigación.

A los **participantes del estudio**, porque fueron parte importante de mi aprendizaje para poner en práctica todo el conocimiento, agradecida enormemente.

A la **profesora Issis Arraiz**, por su tiempo y asesoría estadística.

A la ilustre **Universidad de los Andes** y a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, mi casa de estudio, agradecida por la aventura académica.

A mis **profesores**, por haber compartido sus conocimientos, experiencias, valores y principios a lo largo de mi formación académica. Profesores como: Carlos Guerrero, Marianela Rondón, José Gregorio Hernández, Libia Contreras, Carolina Mata, María Carolina Moreno, Kiralba Sánchez, Ysheth Millán, Saraí Dugarte, Rima Bahsas y Carmen Lozano; bendecida porque conté con la calidad y excelencia que les caracteriza, gracias por su vocación y entrega.

A mis **amigos y colegas**, por su compañía y motivación durante este largo camino, dispuestos a ofrecer su ayuda y palabras de aliento en los momentos más difíciles.

Agradezco a todos los que confiaron en mí, estarán siempre presente en mis mejores recuerdos.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
TABLA DE CONTENIDO	vi
TABLA DE CUADROS	ix
TABLA DE ESQUEMAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	x
TABLA DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes del problema	1
El problema	10
Marco teórico	11
Trabajos previos	11
Antecedentes históricos	15
Bases teóricas	17
Aproximación teórica sobre biomarcadores salivales en individuos sanos	17
Aproximación teórica sobre proteínas como biomarcador de salud bucal	18
Aproximación teórica sobre funcionamiento fisiológico de las proteínas salivales	19
Aproximación teórica sobre método Biuret para la determinación de proteínas totales salivales	20
Composición de la saliva	21
Importancia clínica de la determinación de proteínas en saliva	21

Métodos de análisis para cuantificar proteínas en saliva	22
Definición operacional de términos	23
Operacionalización del evento de estudio	27
Objetivos de la investigación	28
Objetivo General	28
Objetivos específicos	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
Tipos de investigación	30
Diseño de investigación	30
Población y Muestra	31
Unidad de investigación	31
Selección del tamaño de la muestra	32
Sistema de variables	32
Instrumento de recolección de datos	33
Procedimientos de la investigación	33
Recolección de muestra de saliva	38
Procedimiento del examen físico-químico	40
Medición de Proteínas totales	41
Procedimiento para proteínas totales	42
Medición de Albúmina	42
Procedimiento para albúmina	43
Medición de Globulina	44
Diseño de análisis de los datos	44
Variables estadísticas	45

Sistematización de los resultados	45
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
Resultados	46
Discusión	59
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
Conclusiones	67
Recomendaciones	69
REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS	70
ANEXOS	80
ANEXO A	81
ANEXO B	82
ANEXO C	83
ANEXO D	84
ANEXO E	85
ANEXO F	86
ANEXO G	87
ANEXO H	88
ANEXO I	89
ANEXO J	90
ANEXO K	91
ANEXO L	92
ANEXO M	93

TABLA DE CUADROS

	Pág.
1 Operacionalización del evento de estudio	28

www.bdigital.ula.ve

TABLA DE ESQUEMAS

	Pág.
1 Procesamiento de las muestras salivales de personas sanas, antes, durante y después de realizar los métodos colorimétricos correspondientes.	34

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1 Funciones de las proteínas salivales	3
2 Niveles de severidad índice CPOD individual, OMS	36
3 Niveles de prevalencia índice CPOD comunitario, OMS	37
4 Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos	45
5 Distribución de participantes por edades	47
6 Niveles de prevalencia índice CPOD individual, según OMS	48
7 Prevalencia de caries dentales en los participantes, según la OPS	48
8 Rangos del pH salival	49
9 Distribución de pH y densidad salival en los participantes	49
10 Concentración de proteínas salivales totales y fraccionadas	50
11 Correlación entre las proteínas totales y el índice CPOD	54
12 Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) para proteínas salivales	56
13 Análisis de Varianza (ANOVA) para proteínas salivales según el índice CPOD	57

TABLA DE FIGURAS

	Pág.
1 Distribución de participantes según el sexo	46
2 Distribución de la media de proteínas salivales según el sexo	47
3 Relación entre las medias de proteínas totales y fraccionadas según grupos etarios	51
4 Relación entre las medias de proteínas totales y fraccionadas según el índice CPOD (individual)	52
5 Relación entre la media del pH salival y el índice CPOD	53
6 Comportamiento por participante: índice CPOD individual y pH salival	53
7 Gráfico de dispersión de proteínas totales y CPOD individual	55
8.1 Distribución de las concentraciones de proteínas totales con el método de Biuret	57
8.2 Distribución de las concentraciones de albúmina con el método verde de bromocresol	58
8.3 Distribución de las concentraciones de globulina por el método diferencial	58



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: Biomarcador salival**



CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES Y FRACCIONADAS EN SALIVA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO BIURET EN ADULTOS SANOS
Trabajo de Grado

Autora: Ariana Maylef Valero Gutiérrez

C.I: V- 26.052.744

Tutora: Prof. Katiusca Villasana

RESUMEN

La saliva humana contiene numerosas moléculas que desempeñan diversas funciones. Entre ellas se encuentran proteínas que pueden servir como biomarcadores de numerosas condiciones fisiológicas y/o patológicas. En comparación con otros fluidos corporales, la determinación de las proteínas salivales permite ser un método no invasivo de diagnóstico para ciertas enfermedades. El objetivo de esta investigación fue, analizar la relación de correspondencia entre la concentración de proteínas totales y el método colorimétrico Biuret, en saliva de adultos sanos. En el estudio se determinó la concentración de albúmina por el método colorimétrico verde de bromocresol y las globulinas por el método diferencial. El tipo de investigación fue analítica y el diseño de campo, de laboratorio, transeccional y unieventual. Ingresaron al estudio 34 personas, con previo consentimiento informado se les realizó una valoración bucal mediante la evaluación del índice CPOD individual. Los niveles medios de proteínas totales en saliva fueron 0,61 g/dL con DE \pm 0,35 g/dL, para albúmina 0,26 g/dL con DE \pm 0,20 g/dL y globulina 0,35 g/dL, con DE 0,33 g/dL. Los resultados de ANOVA no mostraron diferencias significativas entre las variables de índice CPOD y la concentración de proteínas, con un $p \geq 0,05$. Se establecieron rangos de referencia de proteínas totales que oscilaron entre 0,1 a 1,31 g/dL, de albúmina entre 0 a 0,6 g/dL y de globulinas 0,1 a 1 g/dL. La concentración de proteínas totales disminuyó con la edad, resultando más alta en individuos jóvenes. Esto puede estar influenciado por diversos factores individuales, siendo un potencial biomarcador.

Palabras clave: Saliva, proteínas totales, método de Biuret, biomarcador, índice CPOD, diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes del problema

La saliva es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales, el término se utiliza como sinónimo de fluido oral, para describir la combinación de líquidos que hay en la boca; el conjunto de estos líquidos está compuesto, además de las secreciones de las glándulas salivales mayores (parótida, submaxilar y sublingual) en el 93% de su volumen y menores en el 7% restante, por una mezcla de pequeñas partículas alimentarias, microorganismos, células de descamación del epitelio oral, secreción del fluido gingival (fluido crevicular), y secreción de las glándulas sebáceas y otras partículas. Con relación a su composición, el 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas inorgánicas, tales como: sodio, potasio, cloruro y bicarbonato; y orgánicas sobre todo proteínas¹⁻³. La saliva desempeña un papel importante en la cavidad oral; tal como lo refirió el Instituto español de boca seca⁴:

El adecuado cumplimiento de todas y cada una de sus funciones depende propiamente de la cantidad y composición de esta. Las propiedades salivales como la lubricación y reparación contribuyen significativamente al mantenimiento de la integridad en los tejidos duros y blandos de la cavidad oral.

Esta secreción es una mezcla compleja que alberga una diversidad de proteínas y péptidos, cada uno con funciones específicas (ver tabla 1). De acuerdo con Podzimek et al.⁵, “se ha identificado la presencia de más de 2.000 proteínas, aproximadamente el 25-30% de los cuales se comparten con la sangre”. Entre estas moléculas, se destacan la α amilasa, histatinas, cistatinas, lactoferrinas, lisozimas, mucinas, proteínas ricas en prolina (PRP), globulinas todas ellas sintetizadas por las células secretoras de las glándulas salivales. Además, también se encuentran componentes de origen plasmático, como la albúmina (alb), las inmunoglobulinas (principalmente IgG e IgA), transferrina,

entre otras⁶. Las proteínas son moléculas formadas por aminoácidos que están unidos por un tipo de enlaces conocidos como enlaces peptídicos, en donde el orden y la disposición de los aminoácidos dependen del código genético de cada persona. Todas las proteínas están compuestas por: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno y la mayoría contiene además azufre y fósforo; formando cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos⁷.

La concentración de proteínas en el fluido salival es alrededor de 20 mg/mL, lo cual representa cerca del 3% de la concentración de proteínas del plasma, cuya composición y concentración pueden variar según factores fisiológicos y patológicos⁸. Estudios como el de Kaufman y Lamster han identificado que las proteínas totales en saliva son un reflejo de la actividad y el estado de diferentes glándulas salivales, así como de la permeabilidad capilar y la filtración de proteínas plasmáticas. Además, las proteínas fraccionadas, como la albúmina y las globulinas, desempeñan funciones específicas en la saliva. Por ejemplo, la albúmina, es una de las principales proteínas del plasma sanguíneo, puede actuar como transportadora de moléculas y contribuir a la regulación del equilibrio osmótico; constituye el 55 al 62% del total de las proteínas séricas⁹.

Las concentraciones de la albúmina en saliva y otras secreciones mucosas reflejan una contribución pasiva de derivados proteínicos del suero, que pueden ser originados por la inflamación del epitelio. Esta proteína en pacientes sanos se encuentra en pequeñas cantidades, pero en personas con gingivitis y periodontitis se han encontrado cantidades significativamente mayores¹⁰. Por otro lado, el estudio de Smith et al.¹¹, destacan que las globulinas (inmunoglobulinas IgA e IgG) juegan un papel crucial en la defensa inmunológica de la cavidad oral, y son secretadas localmente ayudando a neutralizar patógenos, como bacterias y virus en la mucosa oral, contribuyendo así a la protección contra infecciones y enfermedades bucales. También pueden tener efectos sobre la microbiota bacteriana oral, regulando el equilibrio microbiano y manteniendo la salud oral en general¹². Estos hallazgos

resaltan la importancia de comprender la presencia tanto las proteínas totales como las fraccionadas en saliva para elucidar su papel en la salud bucal y sistémica⁹.

Tabla 1. Funciones de las proteínas salivales

Proteínas salivales mayores	IgA	Antiadherente , inmunidad local
	PRPs y glucoproteínas	Lubricación, fijan Ca ⁺⁺ , remineralización, agregación bacteriana
	Mucinas	Lubricación . Protegen contra la desecación y la abrasión
	Alfa amilasa	En la película adquirida del esmalte, adhesión inicial al fijarse a <i>Streptococcus sanguinis</i> .
Proteínas salivales menores	Cistatinas	Se combinan con las mucinas. Inhiben las proteasas. Interaccionan en el proceso de desmineralización/remineralización. Antimicrobianas
	Aglutininas	Antimicrobianas . Permiten la agregación interbacteriana
	Fibronectina	Inhibe la colonización epitelial de bacterias gramnegativas
	Peroxidasa	Antimicrobiana , con capacidad enzimática
	Lisozima	Antimicrobiana . Hidroliza los polisacáridos de la pared celular de las bacterias grampositivas
	Anhidrasas Carbónicas	Contribuyen a la capacidad tampón, producen hidratación reversible del anhídrido carbónico
	Lactoferrina	Bactericida , se comporta como análogo para los receptores bacterianos. Antiadherente, se une a aglutininas. Interfiere con el desarrollo de la biopelícula
	Apolactoferrina	Antimicrobiana . Permite mantener a <i>Streptococcus mutans</i> en bajas concentraciones en la saliva
Péptidos salivales	Histatina	Antimicrobiana , amplio espectro. Inhiben la precipitación de sales de calcio
	Defensinas	Antimicrobianas . Defensinas alfa: en el fluido crevicular. Defensinas beta 1: se expresan en el epitelio y se relacionan con las mucinas
	Catelicinas	Antimicrobianas de amplio espectro. Al relacionarse con histatinas y PRPs, pueden comportarse como un antibiótico natural

Fuente: Tomado de Marcantoni¹³ (2009).

En torno a este criterio de análisis, la medición de la concentración de una proteína soluble es un ensayo vital en la investigación bioquímica en los laboratorios; para cuantificar se hace uso de un espectrofotómetro que se basa en la ley de Lambert-Beer. Como afirma Gornall et al.¹⁴, el método de Biuret es una técnica colorimétrica para cuantificar proteínas, basada en la formación de complejos de color azul con iones de cobre (Cu^{2+}) en un medio alcalino. La reacción entre las proteínas y los iones cúpricos produce un complejo púrpura cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas, y se mide con un espectrofotómetro a 540 nm, siendo reconocido por su simplicidad y precisión. En contraste, el método del verde de bromocresol (BCG) determina la albúmina a través de la reacción con la forma aniónica de 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína a un pH de 4,2; formando un complejo coloreado y se mide a 628 nm, destacando por su sensibilidad y especificidad¹⁵.

Para contextualizar la correlación entre el objeto y el sujeto de estudio, las aproximaciones teóricas que sustentaron esta investigación fueron: biomarcadores salivales en individuos sanos, proteínas como biomarcador de salud bucal, funcionamiento fisiológico de las proteínas salivales y método Biuret para la determinación de proteínas totales salivales.

Al respecto, la primera hace mención a los analitos presentes en saliva tales como los iones, hormonas, anticuerpos y proteínas, siendo estas últimas las más valoradas al momento de analizar este fluido¹⁶. En cuanto a la segunda, define las proteínas salivales como precursores de muchos compuestos biológicos esenciales para el funcionamiento normal de los seres humanos y pueden ser utilizados como marcadores para la predicción, diagnóstico y monitoreo eventual de la salud bucal⁶. La tercera, permite conocer las funciones de mantenimiento, digestión, protección e inmunidad que cumplen las proteínas¹⁷. Finalmente, la cuarta hace alusión al método analítico Biuret utilizado para cuantificar proteínas totales en muestras biológicas como la saliva, con potencial para mejoras futuras en sensibilidad y automatización

para estudios de gran escala y diversas aplicaciones industriales y clínicas^{14,16,18,19}. Estas aproximaciones teóricas le dieron realidad al evento de estudio; por eso, sustentaron esta investigación.

La relación de la concentración de proteínas totales mediante el método colorimétrico Biuret y las proteínas fraccionadas, motivó a conocer la situación actual del evento de estudio, con el fin de revisar qué se había publicado al respecto durante los últimos 5 años. En relación a ello, Zin et al.²⁰, mencionaron, que los niveles elevados de proteínas totales en la saliva estaban relacionados con la severidad de las enfermedades periodontales. Ya que la cavidad bucal está revestida por la saliva es importante considerar que la salud oral (periodontitis, gingivitis, caries, amigdalitis, faringitis, glositis, presencia de aftas bucales entre otros) influye en la concentración de proteínas. Sugiriendo que estos analitos en saliva podrían servir como un biomarcador útil ayudando en el diagnóstico y la evaluación de la actividad de la enfermedad periodontal, así como en su prevención y tratamiento. Mientras que Mrag et al., concluyeron en su investigación que los niveles elevados de proteínas totales en saliva podían servir como biomarcadores no invasivos para la diabetes tipo 2. La mayor incidencia del índice CPOD en pacientes con diabetes tipo 2 se asoció con un mal control metabólico, que llevó a una mayor susceptibilidad a las caries dentales y otras enfermedades periodontales²¹. Otros autores como, Wakde et al., revelaron que la concentración de albúmina y proteína total en la saliva podía servir como un parámetro bioquímico importante en la inflamación del periodonto²².

Entre otros aspectos relacionados con el problema de estudio, varios autores mencionaron los procedimientos utilizados, los cuales fueron importantes para la obtención de los datos. En tal sentido, Zin et al., recogieron muestras de saliva no estimulada de 113 individuos y los dividieron en tres grupos, según la condición de los tejidos periodontales. La estimación de la proteína salival se realizó mediante el método de absorción ultravioleta directa y la determinación se basó en el método de Biuret, que se midió con un

espectrofotómetro²⁰. Otros autores refirieron en sus procedimientos donde la saliva no estimulada y la sangre fueron analizadas mediante métodos enzimáticos y colorimétricos, determinando parámetros bioquímicos tales como proteína total y albúmina. Evaluaron a 600 pacientes sanos y con diabetes tipo 2, el estado de caries mediante el índice CPOD (dientes cariados, perdidos y obturados), así como el estado de higiene bucal, alteración del gusto, candidiasis bucal, gingivitis, presencia de placa y cálculo dental²¹. Mientras que Wakde et al., estudiaron 60 pacientes divididos en 3 grupos (controles, gingivitis y periodontitis crónica), los cuales realizaron la recolección de saliva no estimulada (5 mL) mediante el método de escupir, y la determinación de la proteína y albúmina salival total se realizó por medio del método colorimétrico (Biuret y verde de bromocresol) correspondientemente²².

En el mismo orden de ideas de la situación actual del problema de estudio, fue interesante resaltar algunos resultados, producto de las investigaciones realizadas, específicamente Zin et al., evidenciaron, una diferencia significativa en los niveles de proteínas totales en la saliva de pacientes con gingivitis y periodontitis, resultando 1,6 y 4,2 veces mayores que en los pacientes sanos²⁰. Por otra parte, Mrag et al., revelaron, que los pacientes con diabetes tipo 2 tenían niveles significativamente más altos de proteínas totales en saliva y una peor salud bucal comparado con los controles, confrontado su índice CPOD grupal con una media de 10 y 3 respectivamente. Dicho analito se planteó como biomarcador efectivo para el diagnóstico de esta patología²¹. Finalmente, Wakde et al.²², manifestaron, que hubo un aumento significativo en la concentración de albúmina y proteína total en la saliva de pacientes con gingivitis y periodontitis crónica comparado con personas sanas; siendo mayor en los pacientes con enfermedad periodontal.

La situación actual, aunada a la descripción del problema de estudio de esta investigación fue la fuente de razones y porqué que justificaron la realización de la misma. En tal sentido, Hurtado²³ refirió varios tipos de razones que justificaron el desarrollo de una investigación. Específicamente, son razones

de necesidad, potencialidad, interés, contradicción, oportunidad y tendencia. En el orden de ideas sobre la justificación de esta investigación, la autora consideró razones o porqué relacionados con: necesidad, potencialidad, motivación e interés.

En lo que respecta a las necesidades, en los últimos años se dedicaron notables esfuerzos a la detección y cuantificación de proteínas en saliva humana mediante el uso de diversos enfoques. Esta área de investigación emergió como un campo de interés creciente debido a su potencial para el diagnóstico no intrusivo de diversas enfermedades²⁴. La toma de muestra de dicho fluido no es invasiva ni dolorosa como la de sangre para análisis clínicos, por lo tanto, se ha convertido en un fluido de diagnóstico atractivo. Un método de recolección que no requiere personal experimentado para su obtención e incluso el mismo paciente puede realizarlo, permitiendo de esta forma que la posibilidad de exposición accidental a patógenos virales y microbianos sea prácticamente nula²⁵.

En la presente investigación se identificaron otras dos razones que motivaron e interesaron. En cuanto a la primera, hizo referencia a la muestra de sangre versus saliva, argumentando que es propensa a la coagulación, mientras que la saliva es mucho más fácil de manejar y requiere menos manipulación previa al análisis; así mismo, la razón por la cual la saliva puede usarse como muestra para el diagnóstico se debe a su intercambio con sustancias existentes en el suero humano²⁴. En contraposición, las principales desventajas de las muestras de saliva en relación con las de sangre son: la mayoría de los analitos se encuentran en cantidades menores a las encontradas en la sangre. Sin embargo, se resuelve fácilmente aumentando los volúmenes de muestras utilizadas para las pruebas y filtrando las muestras de saliva con filtros de suero pre-analíticos²⁴ y ²⁵. En el mismo orden de razones, la determinación de proteínas totales y fraccionadas en dicho fluido, en la práctica clínica posee una gran utilidad, debido a que estas desempeñan roles esenciales en la defensa inmunológica y el mantenimiento de la

homeostasis oral. Diversos estudios han demostrado que su análisis detallado ofreció valiosa información sobre el estado general de salud y la funcionalidad del sistema inmunitario oral²⁶. Además, su capacidad para reflejar cambios metabólicos y fisiológicos destacó su beneficio en el monitoreo de la salud y en la detección temprana de desequilibrios en el organismo²⁷.

Al considerar los porqué anteriores, se encontraron razones esenciales con categoría de potencialidad. La primera que se mencionó fue la importancia de implementar uno de los métodos espectrofotométricos tradicionales, tales como el método Biuret y verde de bromocresol, los cuales son cruciales en la práctica clínica, siendo utilizados en la gran mayoría de los laboratorios clínicos ya que permiten una evaluación precisa de la composición proteica en saliva, proporcionando indicadores importantes de salud oral y sistémica. Así mismo, la correcta interpretación de estas proteínas es esencial para el diagnóstico temprano de enfermedades y para el monitoreo de la salud en adultos sanos²⁸. De modo adjunto se incluyeron otros argumentos de potencialidad relacionados con las aproximaciones teóricas. Al respecto, la aproximación teórica relacionada con los biomarcadores salivales en individuos sanos, permitió que la saliva fuera considerada una fuente de diagnóstico clínico una vez aplicada las técnicas correspondientes, encontrando en este fluido biomarcadores¹⁶. Entre otros, la aproximación proteínas como biomarcador de salud bucal fue una potencialidad conceptual que pudo tomar como indicio la calidad y la concentración de las mismas, aportando información valiosa⁶.

Finalmente, la aproximación relacionada con el método analítico Biuret para determinar proteínas totales fue una potencialidad, ya que representó una técnica de laboratorio que permitió obtener resultados seguros y confiables para la cuantificación de las proteínas en saliva^{14,16,18,19}. En definitiva, dicho fluido tiene un gran potencial para la vigilancia del cuerpo tanto en salud como en enfermedad²⁴. La baja concentración de sus componentes ya no es un problema y, por lo tanto, no sólo puede ser una herramienta diagnóstica sino

también una forma fácil de monitorizar la salud a través de control rutinario²⁹. De esta forma, se espera que los diagnósticos salivales se conviertan en una herramienta complementaria en el chequeo regular de la salud y la detección temprana de enfermedades³⁰.

Por consiguiente, la situación actual del problema y la justificación de la investigación permitieron focalizar el alcance de este proceso indagatorio. Al respecto, los alcances de la investigación se relacionaron con la profundidad del conocimiento que los investigadores se propusieron. En tal sentido, Hurtado²³ hizo referencia a los alcances como la profundidad del estudio, es decir, al grado de elaboración. A su vez, tuvieron correspondencia con el logro de la investigación. Al respecto, el continuum de esta investigación estuvo representado por la concentración de proteínas totales y fraccionadas en saliva en correspondencia con un criterio de análisis: el método colorimétrico Biuret.

Finalmente, fue importante considerar que una investigación, aunque tuvo un alcance concreto, podría haber tenido limitaciones; específicamente los aspectos relacionados con las teorías y los trabajos previos que la sustentaron. También, existieron limitaciones sobre cómo hacer los procedimientos y el presupuesto disponible para realizar la investigación. Estas limitaciones correspondieron con las mencionadas por Hernández et al.³¹, tales como: teóricas, técnicas y de presupuesto. Consecuentemente para fines de este proyecto hubo limitaciones en cuanto a la disponibilidad de trabajos previos, pues se encontraron pocos artículos actualizados o por lo menos su búsqueda no fue sencilla, interfiriendo con el *Open access* de la divulgación científica. Aunado a eso, hubo limitaciones de presupuesto secundaria a la crisis económica en nuestro país. Sin embargo, estas limitaciones no comprometieron la viabilidad de la investigación, ya que se mejoró la búsqueda de los trabajos previos y se implementó un plan de autofinanciamiento.

El problema

Después de realizar la descripción del evento de estudio, la situación actual y la justificación del problema se refirió el siguiente Enunciado Holopráxico:

¿Cuál fue la relación de correspondencia entre la concentración de proteínas totales y fraccionadas en saliva y el método colorimétrico Biuret, en adultos sanos, que asistieron a Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica, Mérida- Venezuela, durante el periodo entre junio 2022 hasta junio 2024?

www.bdigital.ula.ve

Marco teórico

Trabajos previos

En los últimos 5 años varios autores demostraron la importancia de la medición de la concentración de proteínas totales en muestras de saliva como técnica de diagnóstico del estado de salud en adultos.

En este sentido, Zin, et al. (2021)²⁰, publicaron un trabajo original en la Revista Journal of Oral Research and Review (Myanmar), titulado: Salivary total protein levels among healthy controls, chronic gingivitis patients and chronic periodontitis patients. El enunciado Holopráxico fue: ¿Cuál fue la correspondencia entre los niveles de proteína total en saliva a través del método de Biuret, en la saliva de pacientes sanos, con gingivitis crónica y periodontitis crónica, atendidos en el Departamento de Periodoncia de la Universidad de Medicina Dental de Mandalay (Myanmar), entre los meses de septiembre a diciembre de 2020? El objetivo general fue: Evaluar los niveles de proteína total en saliva en pacientes con gingivitis crónica y periodontitis crónica. Esta investigación fue analítica y el diseño de campo, laboratorio, contemporáneo, transeccional y univariable. La muestra estuvo representada por el subconjunto de valores de la población estadística, presentes en las muestras de saliva de 113 individuos, atendidos en el Departamento de Periodoncia de la Universidad de Medicina Dental de Mandalay. Los grupos de estudio se clasificaron en tres diferentes según la condición de los tejidos periodontales: Grupo I: 39 pacientes con gingivitis crónica, Grupo II: 35 pacientes con periodontitis crónica y Grupo III: 39 controles sanos, se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada individuo. Las muestras de saliva se recogieron instruyendo a los participantes a no cepillarse los dientes, comer ni beber al menos 2 horas antes de la recolección. Se les pidió que se sentaran en posición erguida y recolectaron saliva sin tragarse mediante el método de escupir en recipientes estériles (aproximadamente 5mL). Las

muestras de saliva se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio. Posteriormente, se centrifugaron durante 15 minutos a 6000 rpm para eliminar las células y los desechos. Los resultados fueron: con respecto a los niveles medios de proteína total en saliva aumentaron progresivamente desde los individuos sanos (1,52 g/dL) a los pacientes con gingivitis crónica (2,58 g/dL) y alcanzó el máximo en los pacientes con periodontitis crónica (6,30 g/dL); en consecuencia, los niveles de proteína total en saliva fueron mayores en pacientes con enfermedades de las encías en comparación con personas sanas; mostrando niveles de proteína 1,6 y 4,2 veces mayores, respectivamente, que los controles sanos ($p<0,001$). En conclusión, los resultados mostraron que los niveles de proteína total en saliva podían evaluarse para encontrar la confiabilidad de la proteína total como marcador de diagnóstico en gingivitis ayudando así en la determinación de la actividad de la enfermedad, la prevención y el tratamiento de las enfermedades periodontales. Este trabajo respaldó la investigación realizada debido a que destacó la importancia de las proteínas salivales como biomarcadores en el diagnóstico y monitoreo de condiciones de salud oral.

Por otra parte, Mrag, et al. (2020)²¹, en la investigación titulada: Saliva diagnostic utility in patients with type 2 diabetes: future standard method, publicada en la revista Journal of Medical Biochemistry (Monastir). Su pregunta de investigación fue: ¿Cuál fue la correspondencia entre la utilidad diagnóstica de la saliva mediante métodos enzimáticos y colorimétricos, en pacientes con diabetes tipo 2, atendidos en el Departamento de Medicina Interna del Hospital Universitario Sahloul, Sousse (Túnez), en 2020? Tuvo como objetivo general: evaluar la fiabilidad de la saliva en el diagnóstico y monitoreo de la diabetes tipo 2, como una alternativa menos invasiva que la sangre. El diseño de investigación correspondió a un estudio de campo, laboratorio, contemporáneo, transeccional y univariable. Participaron un total de 600 pacientes (300 pacientes con diabetes tipo 2 y 300 pacientes sanos) reclutados en el Departamento de Medicina Interna. Se excluyeron del estudio

a participantes totalmente edéntulos, fumadores, alcohólicos o incluso diagnosticados con una enfermedad que pudiera afectar el estado de salud bucal. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética local del Hospital Universitario y se obtuvo un consentimiento informado de cada participante; el estado de caries dental se analizó de acuerdo al índice de dientes permanentes cariados, faltantes y obturados (CPOD) durante el examen por un dentista en dicho hospital. Después del examen clínico, se solicitaron muestras de saliva y sangre de cada sujeto (posterior de 8 horas de ayuno). Se recogió saliva entera no estimulada mediante el método de escupir, después de enjuagarse la boca con agua para eliminar cualquier residuo, se recolectó la saliva en un tubo previamente pesado durante 5 minutos. Las muestras de saliva se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos a 4°C y las muestras de sangre a 3000 rpm durante 5 minutos a 4°C. Donde evaluaron diversos parámetros bioquímicos tales como: glucosa, urea, amilasa, proteína total, albúmina, PCR, IgA, potasio, calcio y cloruro mediante métodos enzimáticos y colorimétricos. El estudio reveló que los pacientes con diabetes tipo 2 presentaron una mayor incidencia de complicaciones orales, así como un mayor índice CPOD, además de niveles significativamente más altos de proteínas totales en saliva (0,05 g/dL) comparado con los controles (0,02 g/dL), mientras que los niveles de albúmina no mostraron diferencias significativas. Esto sugirió que las proteínas totales en saliva podrían ser biomarcadores efectivos para el diagnóstico de diabetes tipo 2. En dicha investigación se llegó a la conclusión, que niveles elevados de proteínas totales en saliva pueden servir como biomarcadores no invasivos para dicha patología, mientras que los niveles de albúmina no mostraron diferencias significativas entre pacientes y controles, subrayando la especificidad de las proteínas totales para este diagnóstico, razón por la cual los autores sustentaron esta investigación con dicho trabajo previo, destacando la importancia de las proteínas salivales como indicadores diagnósticos.

Finalmente, Wakde, et al. (2018)²², publicaron un trabajo original en la Revista International Journal of Health Sciences and Research (India), titulado: Comparative evaluation of salivary flow rate, pH, buffering capacity, total protein and albumin levels in chronic periodontitis patients: A clinico-biochemical study. La formulación a su interrogante fue: ¿Cuáles fueron las diferencias y semejanzas entre la evaluación del flujo salival, pH, capacidad tampón, niveles de proteína total además de albúmina y el método colorimétrico Biuret, en la saliva de pacientes sanos, con gingivitis crónica y periodontitis crónica, atendidos en el Departamento de Periodoncia de la Facultad de Ciencias e Investigación Dental de Rungta, Bhilai, Chhattisgarh (India), entre abril y mayo de 2018? Plantearon como objetivo general: Comparar la concentración de proteínas totales, albúmina, tasa de flujo salival, pH y capacidad de amortiguación de la saliva en pacientes sanos, con gingivitis y con periodontitis crónica utilizando métodos bioquímicos simples. Esta investigación fue de tipo comparativa correspondiente a un diseño de campo, laboratorio, contemporáneo, transeccional y multivariable. Incluyeron un número total de participantes en el estudio, el cual fue de 60 pacientes divididos en tres grupos de 20 cada uno: controles sanos, pacientes con gingivitis y pacientes con periodontitis crónica, se les realizó un examen periodontal completo llevado a cabo por el Departamento de Periodontología. Los participantes debían abstenerse de cepillarse los dientes, comer o beber una hora antes de la recolección. Para la prueba de esta investigación se tomó una muestra de saliva entera no estimulada (aproximadamente 5 mL) mediante el método de escupir entre las 11 am y las 12 del mediodía para evitar la variación diurna. Los sujetos fueron sentados en posición vertical, con instrucciones de acumular la saliva en el suelo de la boca y escupir sin estimulación en el recipiente estéril. Una vez tomada la muestra e identificada previamente, se llevaron inmediatamente para su análisis bioquímico; la determinación de proteína y albúmina salival total se realizó mediante el método Biuret a una longitud de onda de 546 nm y el método verde de

bromocresol a una longitud de onda de 620 nm respectivamente. De forma tal, los autores reconocieron a través de los resultados, que los pacientes con gingivitis y periodontitis crónica tenían niveles más altos de proteínas totales y albúmina en saliva en comparación con individuos sanos. Las concentraciones medias de proteínas totales fueron 0,72 g/dL en controles, 1,05 g/dL en gingivitis y 1,16 g/dL en periodontitis, mientras que las de albúmina fueron 0,01 g/dL, 0,02 g/dL y 0,06 g/dL, respectivamente. Los autores concluyeron que los niveles elevados de proteínas totales y albumina en la saliva estuvieron asociados con la inflamación del periodonto. Por lo tanto, estos niveles pueden servir como parámetros bioquímicos importantes para evaluar la inflamación periodontal. En tal sentido, este trabajo respaldó la investigación realizada debido a que permitió cuantificar las cantidades relativas de proteínas salivales presentes en la cavidad oral de pacientes sanos y patológicos.

Antecedentes históricos

www.bdigital.ulb.ve

Los antecedentes históricos permitieron conocer desde cuándo se había considerado el problema de estudio en el ámbito científico. En tal sentido, en el año 1997 los autores Banderas et al.³², determinaron los promedios de flujo salival y la concentración de proteínas totales en una población joven del Estado de México mediante el método Bradford; facilitando la confirmación, con base en los resultados obtenidos, un promedio de flujo salival no estimulado de $0,397 \pm 26$ mL/min y el de saliva estimulada fue de $0,973 \pm 53$ mL/min. Con respecto a la concentración de proteínas fue de $1,37 \pm 0,47$ g/dL en saliva no estimulada y de $1,526 \pm 0,44$ g/dL en saliva estimulada, siendo esta última significativamente mayor. Constituyendo de esta forma un gran logro, debido a que observaron que existían variaciones individuales en el flujo salival y la concentración de proteínas. Ambos disminuían periódicamente, por ende, pudieron inferir con base en lo obtenido, que existían edades en las cuales el riesgo de caries dental y enfermedad periodontal se incrementaba;

siendo así la saliva es un factor importante relacionado con el estado de salud bucal.

Adicionalmente en el año 2013 Shaila et al.³³, divulgaron resultados de una investigación sobre evaluación de la concentración de proteínas en la saliva, la tasa de flujo salival, la capacidad tampón y el pH en sujetos jóvenes y ancianos, tanto normales como con gingivitis y periodontitis. Permitiendo afirmar a través de lo obtenido, mediante el método colorimétrico de Biuret y verde de bromocresol la importancia de las concentraciones de proteínas totales y albúmina en saliva como marcadores de enfermedades periodontales. En su estudio se encontró un aumento significativo en las proteínas totales (0,86 g/dL en controles, 1,19 g/dL en gingivitis, y 1,59 g/dL en periodontitis) y en albúmina (0,09 g/dL en controles, 0,24 g/dL en gingivitis, y 0,44 g/dL en periodontitis), reflejando la respuesta inflamatoria y la permeabilidad tisular aumentada. Destacaron de esta forma el protagonismo de ambos métodos simples en la evaluación de estos parámetros como marcadores de gingivitis y periodontitis, donde se produjo fuga de proteínas plasmáticas como consecuencia del proceso inflamatorio. Sin embargo, afirmaron en ese entonces que era necesario un estudio longitudinal para obtener conclusiones definitivas y demostrar el papel de la saliva como indicador pronóstico. Estos antecedentes históricos revelaron que la cuantificación de proteínas empleando muestras salivales ha sido objeto de estudio en varias investigaciones, siendo útil su análisis a través de métodos colorimétricos; considerando su importancia un gran potencial que debe explorarse más a fondo.

Bases teóricas

Aproximación teórica sobre biomarcadores salivales en individuos sanos

Debido a la gran cantidad de analitos que componen las secreciones orales, la saliva representa una fuente de diagnóstico clínico de muy buena receptividad una vez aplicadas las técnicas correspondientes encontrando en ella los biomarcadores necesarios, este fluido conforma un espectro de variables compuestos en donde los más destacables incluyen: proteínas, inmunoglobulinas, enzimas, hormonas entre otros. Además, la saliva en particular confiere una mayor facilidad al momento de tomar la muestra, siendo esta una técnica no invasiva, disminuyendo por mucho los riesgos de contagio y accidentes ocupacionales en el oficio. De tal modo, es por su capacidad de diagnóstico y la recolección del espécimen que radica la importancia de estudio de la saliva y sus compuestos orgánicos¹⁶.

La saliva es producida por las distintas glándulas secretoras ubicadas en la cavidad oral: glándulas parótidas, sublinguales, submandibulares, salivales mayores y menores, encargadas de producir esta secreción que en su mayoría está compuesta en un 95% de agua y el 5% restante lo componen compuestos orgánicos e inorgánicos. Dentro los compuestos inorgánicos se encuentran los iones (tanto cationes H⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺ NH₄⁺, Mg⁺, como aniones PO₄⁻, Cl⁻, SO₄⁻, F⁻), y compuestos orgánicos como las hormonas, enzimas, anticuerpos y proteínas, siendo estas últimas las más valoradas al momento de analizar este fluido. Contiene en su composición proteómica elementos como la albúmina, amilasas, las alfa y beta proteínas, y por último las gamma globulinas consideradas muy importantes en el aspecto clínico¹⁶.

Debido a la ubicación y a la naturaleza de las glándulas que segregan este fluido, en la saliva llegan a encontrarse una notable variedad de proteínas que de igual forma están presentes en suero sanguíneo, pero en una

concentración más baja (alrededor de un 30%). Sin embargo, aunque las concentraciones marquen una diferencia, las proporciones siguen siendo muy parecidas, donde la albúmina la proteína en mayor cantidad seguido del resto de las proteínas plasmáticas, lo que hace a la saliva un espécimen bastante aceptable para el estudio y análisis de proteínas como un biomarcador de individuos sanos a través del método de Biuret¹⁶.

Aproximación teórica sobre proteínas como biomarcador de salud bucal

Las proteínas tienen un rol fundamental en nuestra salud bucal, de ellas depende en un principio los procesos de digestión, también son parte del mantenimiento de la cavidad oro-faríngea y del equilibrio del microbiota habitual de esta zona. En tal sentido, proteínas tan importantes como la albúmina y globulinas, entre otras presentes en saliva pueden utilizarse como excelentes biomarcadores de salud bucal en personas, tomando indicios como la presencia y la concentración de las mismas, lo que aporta información sustentable para la determinación de las características saludables de la boca⁶.

Algunas proteínas son sintetizadas por las células secretoras de las glándulas salivales, otras son de origen plasmático. La saliva, cuenta con aproximadamente 2000 proteínas, 26% se encuentran también en la sangre, las cuales entran en la saliva, pasando a través de las células por vías transcelulares (difusión intracelular pasiva y transporte activo), o rutas paracelulares por ultrafiltración extracelular dentro de las glándulas salivales, o a través del surco gingival. Las principales proteínas son: α-amilasa, mucinas, albúmina, IgA, IgG, la saliva de la glándula parótida es rica en amilasa, proteínas ricas en prolina y fosfoproteínas encargada de la digestión de los alimentos⁶.

Por otra parte, como afirmaron Juárez et al., "Las proteínas salivales tienen un amplio espectro de actividad, habiendo un solapamiento considerable en la funcionalidad". Por ello, las enfermedades orales pueden no estar relacionadas con la concentración de una sola proteína presente en la saliva. Sin embargo, la estructura catalítica y las funciones reguladoras de las diversas proteínas salivales son también precursores de muchos compuestos biológicos, esenciales para el funcionamiento normal de los seres humanos y que pueden ser utilizados como marcadores para la predicción, diagnóstico y monitoreo eventual de la salud bucal⁶.

Aproximación teórica sobre funcionamiento fisiológico de las proteínas salivales

La saliva, secretada por glándulas salivales, es esencial para la salud bucal, facilitando funciones como lubricación, acción antimicrobiana, digestión, regulación del pH entre otras. Dentro de su composición las proteínas salivales son cruciales en la mayoría de estas funciones¹⁷.

De tales proteínas, mencionamos algunas y sus funciones, como las mucinas, que son glicoproteínas encargadas de formar geles viscosos y elásticos hidrofílicos, que funcionan como barreras protectoras del epitelio subyacente al daño mecánico y previenen la entrada de agentes nocivos como virus y bacterias. También se encuentra la amilasa salival, enzima encargada como el primer factor interviniente en la digestión de los glúcidos. Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig), son glicoproteínas que se producen y segregan por parte de células defensivas (células plasmáticas), de manera específica ante la presencia de determinadas sustancias denominadas antígenos, estas pueden neutralizar varios factores de virulencia bacterianos, limitar la adherencia y aglutinación de las bacterias y prevenir la penetración de agentes extraños a través de las mucosas¹⁷.

Así mismo las proteínas salivales asumen funciones específicas dentro de la cavidad oral y debido a su relación con las proteínas plasmáticas, pueden brindar información de interés clínico a la hora de evaluar las condiciones de salud de un individuo; es por ello la necesidad voluntaria de conocer el funcionamiento de cada una de estas proteínas involucradas dentro de la secreción salival¹⁷.

Aproximación teórica sobre método Biuret para la determinación de proteínas totales salivales

Es una técnica analítica ampliamente utilizada en bioquímica y biología molecular, en diversas muestras biológicas incluida la saliva. Este fluido contiene diversas proteínas y péptidos que pueden ser cuantificados sin necesidad de una pre-purificación extensa. Se basa en la formación de un complejo coloreado entre los enlaces peptídicos de las proteínas y el ion cúprico (Cu^{2+}) en un medio alcalino¹⁴.

Al mezclar una muestra de proteínas con una solución de sulfato de cobre y un agente alcalino, se produce una reacción que da lugar a un complejo de color púrpura. La intensidad de este color es directamente proporcional a la concentración de proteínas presentes en la muestra, permitiendo una medición precisa mediante espectrofotometría. Este complejo es estable y muestra una absorbancia en el espectro visible, lo cual facilita su detección y cuantificación por métodos espectrofotométricos. La reacción es específica para proteínas y péptidos con al menos tres enlaces peptídicos, lo que minimiza la interferencia de otros compuestos presentes en la muestra¹⁸.

A futuro, dicho método puede seguir evolucionando con mejoras en la sensibilidad y especificidad, gracias a los avances en la tecnología espectrofotométrica y en el desarrollo de reactivos más estables y específicos. Además, la automatización de este método en plataformas de análisis de alto rendimiento podría permitir su aplicación en estudios de gran escala, como en

el análisis proteómico y la investigación biomédica¹⁹, asimismo en estudios epidemiológicos y en la monitorización de enfermedades sistémicas y locales que afectan la producción de proteínas salivales¹⁶. Estas mejoras podrían ampliar su uso en la industria alimentaria, farmacéutica y en investigaciones clínicas para la cuantificación precisa de proteínas en diversas muestras biológicas¹⁹.

Composición de la saliva

La saliva es un buen indicador de los niveles plasmáticos de diversas sustancias y de las proteínas que las componen, tales como hormonas, enzimas, drogas, por lo que puede utilizarse como método no invasivo para supervisar las concentraciones plasmáticas en el diagnóstico clínico³⁴.

La amilasa es una proteína altamente abundante en la saliva cuya actividad se reduce a la acción digestiva o endoglicosidasa, y también forma parte de la película adherida en la superficie del diente de manera protectora. Otro de los componentes salivales son las mucinas que juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la salud bucal, lubricación y recubrimiento de los tejidos. De igual modo, la saliva contiene numerosas proteínas de defensa como las inmunoglobulinas salivales. Estas moléculas están presentes en bajas concentraciones; sin embargo, pueden considerarse como biomarcadores bucales³⁵.

Importancia clínica de la determinación de proteínas en saliva

Las proteínas son indicadores importantes de estados fisiológicos o patológicos, estas pueden proporcionar información para la identificación de marcadores tempranos y diferenciales en el apartado clínico o basal de un individuo. La saliva, contiene una gran cantidad de proteínas, ofrece un enfoque fácil, económico, seguro y no invasivo para la detección de

enfermedades, y posee un alto potencial para evolucionar los diagnósticos médicos y bioquímicos. En tal sentido, el descubrimiento de biomarcadores salivales podría usarse para examinar la salud de individuos sanos y la orientación clínica de pacientes³⁶.

El impacto del análisis del proteoma de la saliva humana en la búsqueda de estudios clínicos relevantes, involucra a los biomarcadores salivales que se han analizado a través de las técnicas de bioquímica aplicada como Biuret. De este modo, los avances de las emergentes técnicas proteómicas han beneficiado a la investigación de estos biomarcadores, hasta el punto de reconocer a la saliva como un excelente medio de diagnóstico para la detección de enfermedades y la valoración de la salud en general³⁷.

Métodos de análisis para cuantificar proteínas en saliva

Incluyen técnicas tradicionales tales como la medición de la absorbancia a 280 nm, los ensayos de Bradford y el ácido bicinchonínico (BCA), así como métodos alternativos como el de Lowry³⁸. Otro método muy común para determinar proteínas en saliva y en cualquier otro fluido es el de Biuret, esta es una técnica colorimétrica que hace uso de la espectrofotometría para la cuantificación de proteínas, teniendo como patrón una curva de calibración o patrón ya estandarizado³⁹. Así mismo, existen ensayos novedosos desarrollados por los proveedores comerciales. Normalmente, las empresas suministradoras venden estuches bien diseñados y prácticos para cada tipo de ensayo. Por otra parte, los métodos para cuantificar proteínas individuales incluyen el ELISA, el Western blot y, más recientemente, la espectrometría de masas, entre otros³⁸.

Definición operacional de términos

Proteína

Las proteínas suponen aproximadamente la mitad del peso de los tejidos del organismo, y están presentes en todas las células del cuerpo, además de participar en prácticamente todos los procesos biológicos que se producen. Estos polímeros son moléculas formadas por aminoácidos que están unidos por un tipo de enlaces conocidos como enlaces peptídicos⁴⁰. El orden y la disposición de los aminoácidos dependen del código genético de cada persona. Todas las proteínas están compuestas por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, y la mayoría contiene además azufre y fósforo. Las proteínas están formadas por cientos o miles de unidades más pequeñas llamadas aminoácidos, que se unen entre sí en largas cadenas. Hay 20 tipos diferentes de aminoácidos que se pueden combinar para formar una proteína. Esta secuencia de aminoácidos determina la estructura tridimensional única de cada proteína y su función específica⁴¹.

Proteómica

La proteómica es un área de la biología cuyo objetivo es el estudio de los proteomas. Un proteoma es el conjunto de proteínas expresadas por un genoma, una célula o un tejido y de su interacción entre ellas. El término proteoma fue utilizado por primera vez en 1995. Los factores decisivos para el desarrollo de la proteómica son la secuenciación de los genomas a gran escala y el desarrollo de técnicas de separación y análisis de proteínas (electroforesis, cromatografía multidimensional y espectrometría de masas). La proteómica proporciona un conjunto de herramientas para el estudio a gran escala de la función de los genes a nivel de proteína. La aplicación de la proteómica tiene un enorme potencial en el área de la biomedicina para el desarrollo de métodos

de diagnóstico y pronóstico de enfermedades y para la búsqueda de dianas que permitan el diseño de nuevos fármacos y vacunas⁴².

Biomarcador

Se presenta como 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 farmacológico⁴³. Los biomarcadores son parámetros biológicos medibles y cuantificables como por ejemplo la concentración específica de enzimas, la concentración específica de hormonas, la distribución fenotípica de un gen específico en una población, o la presencia de sustancias biológicas, que sirven como índices para la evaluación relacionada con la salud y la fisiología, como son riesgos de enfermedades, trastornos psiquiátricos, exposición a riesgos ambientales y sus efectos, diagnóstico de enfermedades, procesos metabólicos, trastornos relacionados con sustancias, embarazo, desarrollo de líneas celulares, estudios epidemiológicos entre otros⁴⁴.

Biomolécula

Son moléculas que intervienen en la estructura y funcionamiento del organismo vivo, ya sean grandes moléculas poliméricas (macromoléculas) como los polisacáridos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos o sus monómeros: monosacáridos, ácidos grasos, aminoácidos y nucleótidos, así como sus intermediarios metabólicos. Se distingue entre biomoléculas inorgánicas que son características de la materia inerte, pero se encuentran también entre los seres vivos. Poseen átomos de carbono, pero no forma cadenas con otros carbonos o hidrógenos. También el agua, las sales minerales y algunos gases que pueden desprenderse o utilizarse en el transcurso de las reacciones químicas de las células como el oxígeno y el

dióxido de carbono; por otro lado, las biomoléculas orgánicas están formadas por carbono, al que se unen, al menos hidrógeno y oxígeno y, en muchos casos nitrógeno, fósforo y azufre. En general son moléculas exclusivas de los seres vivos, salvo el caso del metano, que es el hidrocarburo más simple y que sabemos que puede tener un origen no biológico⁴⁵.

Valores de referencia

Son intervalos de valores que se obtienen a partir de una población sana y sirven como puntos de referencia para interpretar los resultados de pruebas de laboratorio. Estos valores pueden variar según el método de análisis, la población estudiada y las condiciones geográficas. Para establecer estos valores, es necesario recolectar y analizar muestras de una población representativa y considerar factores como el sexo, la edad y la condición fisiológica de los individuos. Además, existen dos enfoques principales para establecer estos intervalos: el paramétrico, que se basa en la distribución normal de los datos, y el no paramétrico, que utiliza percentiles para determinar los límites de referencia⁴⁶. Es por eso que González⁴⁷ refirió:

En la mayoría de los casos, la interpretación de los datos generados en el laboratorio clínico se lleva a cabo en relación con los datos obtenidos en una población de referencia. Habitualmente, esta población de referencia se identifica con una población formada con individuos aparentemente sanos, es decir, “normales”. Sin embargo, el término de valores normales se presta a equívocos con todo, una concentración fuera de este intervalo no significa enfermedad o anormalidad.

Espectrofotómetro

Es un dispositivo esencial que mide la intensidad de la luz absorbida por una solución en diferentes longitudes de onda, permite determinar la concentración de diversas sustancias en muestras biológicas mediante la cuantificación de la cantidad de luz absorbida. Su funcionamiento se basa en

el principio de que cada compuesto químico absorbe, transmite o refleja luz a una longitud de onda específica. Los espectrofotómetros se utilizan ampliamente en análisis rutinarios, control de calidad y diagnósticos debido a su capacidad para proporcionar resultados precisos y reproducibles sobre la composición química de las muestras analizadas⁴⁸.

Salud

Es el estado normal de un individuo relacionado con un completo bienestar físico, mental y social, adaptado al ambiente en donde vive y se desarrolla⁴⁹.

Salud bucal

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la salud bucodental como “la ausencia de dolor bucal o facial, de infecciones o aftas bucales, de enfermedades de las encías, caries, pérdida de dientes y otras patologías o trastornos que limiten la capacidad de morder, masticar, sonreír y hablar, y que repercutan en el bienestar psicosocial”⁵⁰.

Caries

Es una patología multifactorial con una pauta crónico-degenerativa, transmitible, que afecta a los tejidos duros del diente⁵⁰.

Índice CPO-D

Fue desarrollado por Klein, Palmer y Knutson durante un estudio del estado dental y la necesidad de tratamiento de niños que asistían a escuelas primarias en Maryland, EUA, en 1935. Fue referenciada por primera vez por dichos autores en diciembre de 1937 en el artículo “Dental Caries in American Indian

Children” dentro del Public Health Bolletin. Sus iniciales significan: dientes (D) con caries (C) perdido por caries (P) y obturados (O); se ha convertido en el índice fundamental de los estudios odontológicos que se realizan para cuantificar la prevalencia de la caries dental debido a que señala la experiencia de caries tanto presente como pasada, pues toma en cuenta los dientes con lesiones de caries y con tratamientos previamente realizados⁵¹. Sobre el asunto los autores Cuenca y Baca⁵² señalaron que fue “adoptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para encuestas de salud oral, dicho índice está concebido para medir la historia (presente y pasada) de caries de un individuo o una población”.

pH salival

Tiene una alta implicación en la salud bucodental, ya que es un factor protector frente a la caries. Sus niveles deben oscilar entre 6,2 y 7 para que se mantenga el equilibrio de la salud oral⁵³.

Operacionalización del evento de estudio

Para operacionalizar las variables y el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, fue necesario la definición conceptual y la operacionalización de las mismas⁵⁴. En tal sentido, las variables fueron operacionalizadas con la finalidad de identificar los elementos y datos empíricos que expresaban su presencia, y los indicadores derivaron de las bases teóricas. El proceso de operacionalización garantizó que los objetivos propuestos fueran alcanzados (cuadro 1).

Cuadro 1. Operacionalización del evento de estudio

1. Objeto de estudio	2.Definición conceptual ¿Qué es?	3.Definición operacional ¿Cómo se mide?
Concentración de proteínas totales y fraccionadas en saliva	Medición cuantitativa de las proteínas presentes en la saliva, tanto en su forma total como dividida en sus principales fracciones, para evaluar el estado de salud general y bucal.	La concentración de proteínas se midió en gramos por decilitro (g/dL) empleando un espectrofotómetro para determinar la absorbancia a 540 nm y utilizando el método colorimétrico Biuret. Mientras que albúmina se determinó por el método verde de bromocresol a 625 nm.
4. Dimensiones		5. Indicador
<ul style="list-style-type: none"> • Proteínas totales • Albúmina • Globulina 		<ul style="list-style-type: none"> • Cambio de color proporcional a la cantidad de proteína total presente en la muestra. • Cambio de color proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra. • Restando la concentración de proteínas totales de la albúmina.

Fuente: Valero y Villasana (2024).

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Analizar la relación de correspondencia entre la concentración de proteínas totales y fraccionadas en saliva y el método colorimétrico Biuret, en adultos sanos, que asistieron a Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica, Mérida-Venezuela, durante el periodo entre junio 2022 hasta junio 2024.

Objetivos específicos

- Calificar la valoración bucal a través del índice CPOD a cada uno de los pacientes en estudio.
- Caracterizar las propiedades físico-químicas de las 34 muestras salivales de adultos sanos.
- Cuantificar la concentración de proteínas totales, albúmina y globulina por el método colorimétrico Biuret, método verde de bromocresol y por diferencia respectivamente en saliva de los adultos sanos.
- Establecer los rangos de referencia de las proteínas totales, albúmina y globulina en las muestras en estudio.

www.bdigital.ula.ve

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipos de investigación

Hernández-Sampieri et al., refirieron que el conocimiento generado por un proceso investigativo define el alcance y el tipo de investigación³¹. Adicionalmente, Hurtado relató que existen diferentes tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa²³. Al respecto, esta investigación asumió un alcance concreto y fue analítica debido a que tuvo como fin el estudio de la estructura interna de un fenómeno, utilizando un criterio de análisis. Se estudió la concentración de proteínas salivales totales y fraccionadas en correspondencia con el método colorimétrico Biuret.

Diseño de investigación

www.bdigital.ula.ve

Para la recolección de los datos se requirió un diseño de investigación representado por las estrategias pertinentes. Al respecto, Hurtado refirió que tales estrategias estaban representadas por el dónde, cuándo y la amplitud de la información que se quiso recolectar²³. Específicamente, el dónde en esta investigación estuvo representado por el consultorio odontológico M&M Dental, C.A. y Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica; por lo tanto, el diseño fue de campo y de laboratorio. Respecto al cuándo, el diseño fue contemporáneo y transeccional, dado que la información se recolectó en un solo momento en un tiempo único en cada unidad de investigación. En cuanto a la amplitud de la información, el diseño fue univariable, ya que el evento de estudio estuvo constituido por el objeto y un solo sujeto de estudio.

Población y Muestra

Esta investigación de acuerdo a su propósito necesitó de una población. Según Arias relató en 2012 que la población “Es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación”⁵⁵. Por lo tanto, la población objeto de estudio estuvo conformada por treinta y cuatro (34) adultos sanos provenientes del estado Mérida Municipio Libertador.

Unidad de investigación

El grupo de estudio estuvo representado por los individuos que acudieron a la valoración bucal y posteriormente a Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica. Con previo consentimiento informado, ingresaron los que cumplieron con los siguientes criterios:

⇒ **Criterios de inclusión:**

- Mayores de 18 años y menores de 60 años
- No fumadores
- Personas no inmunocomprometidas o inmunosuprimidas (incluyendo diabetes, enfermedades cardíacas...)
- No consumidores de alcohol, así como bajo la ingesta de medicamento hasta 15 días antes del procedimiento

⇒ **Criterio de exclusión**

- Pacientes con más de 5 caries activas
- Paciente con índice CPOD alto

Selección del tamaño de la muestra

La muestra estuvo representada por 34 personas sanas de entre 18-60 años que decidieron participar en la investigación y asistieron al consultorio M&M Dental, C.A y posteriormente a Vitalis laboratorio, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión predeterminados. Para ello, se procedió a la entrega, lectura y posterior firma del consentimiento informado, previamente validado por la Cátedra del Componente de Investigación "Dr. José Rafael Luna" y aprobado bajo el número CC-007-2024 por el Consejo de Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de conformidad con las normas de la declaración de Helsinki. Los grupos de edades se categorizaron de la siguiente manera: 18-19 años, 20-24 años, 25-29 años, 30-34 años, 35-44 años y 45-54 años.

Sistema de variables

Desde la perspectiva del autor Arias⁵⁶ se pudo definir que el sistema de variables es una característica o calidad, magnitud o cantidad, que podía sufrir cambios, y que era objeto de análisis, medición, manipulación o control de una investigación. Las variables de esta investigación estuvieron representadas por la concentración de proteínas totales y fraccionadas; las dimensiones fueron: proteínas totales, albúmina y globulina (cambio de color proporcional a la cantidad de proteína total presente en la muestra, así como para la globulina por diferencia de la concentración de proteínas totales y de albúmina). Sin embargo, considerando que esta investigación fue analítica, las variables no fueron sistematizadas como dependiente, independiente e intervinientes.

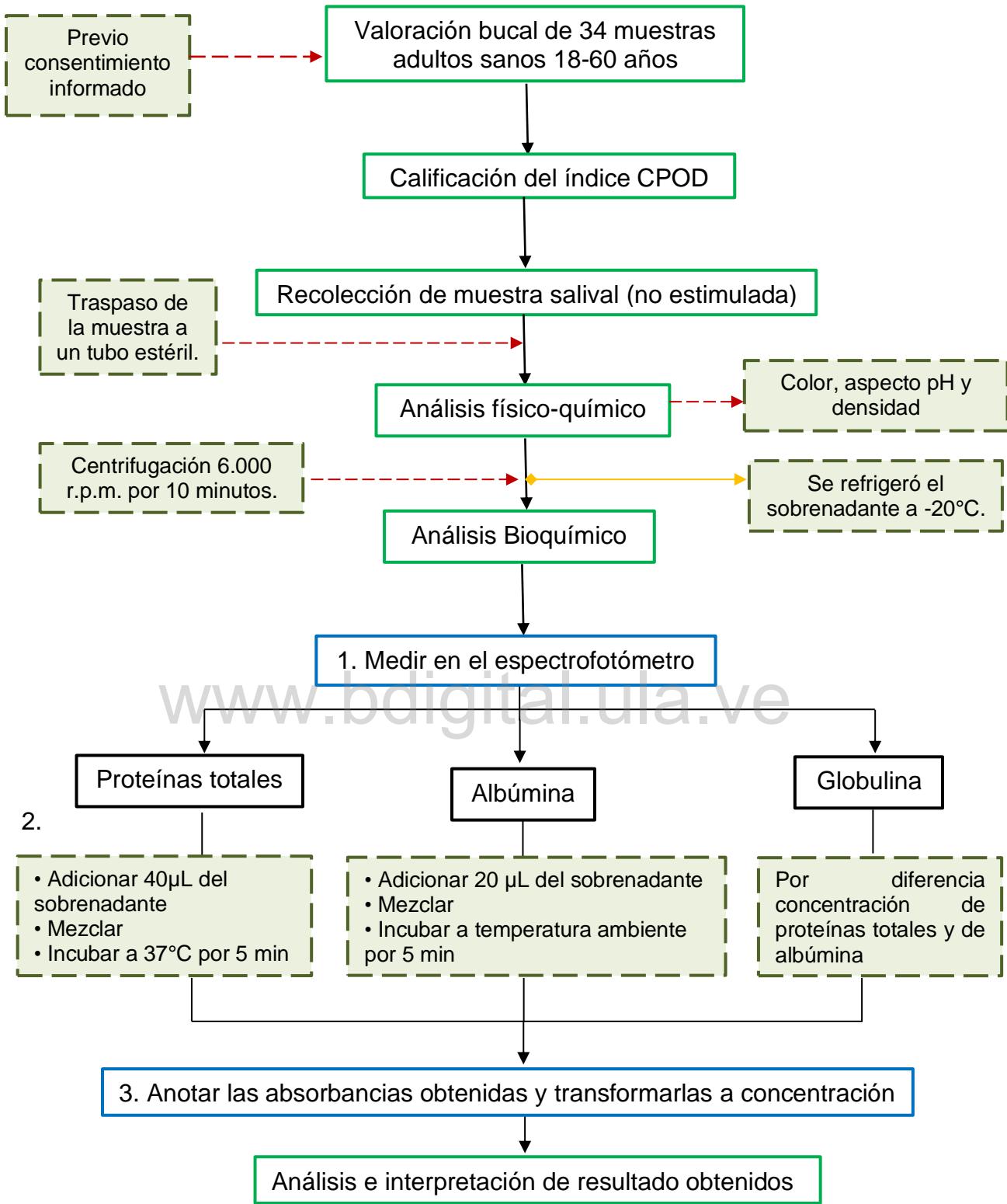
Instrumento de recolección de datos

Según Palella y Martins⁵⁷, se recolectaron datos relacionados con los objetivos y los indicadores obtenidos de la operacionalización de las variables; para medirlos posteriormente a través de modelos matemáticos. Por eso, los insumos utilizados para la realización del sistema de recolección de datos fueron: el sistema de variables. De igual manera, para llevar a cabo la consulta odontológica se elaboró una ficha clínica bucal (proporcionado por la Cátedra de Patología Clínica y Terapéutica Estomatológica y validada por la odontóloga) de esa forma se evaluó la salud dental de los participantes (Anexo E), recopilando los datos obtenidos de todos los participantes en una tabla (Anexo H).

Por otra parte, se utilizó un cuestionario de antecedentes médicos con el fin de recoger los datos clínicos y variables de interés para cada paciente (formato de historia clínica) donde se reflejaba: nombre completo del paciente, edad, sexo, teléfono, y sus antecedentes personales (Anexo G). Con la finalidad de llevar un control de los datos obtenidos, la información se recolectó mediante el uso de dos tablas de registro (Anexo I y Anexo J). Finalmente se diseñó un reporte (referenciado por Vitalis laboratorio) para entregar los resultados de laboratorio de la muestra de saliva (Anexo K).

Procedimientos de la investigación

Los aspectos procedimentales de esta investigación fueron realizados a través de la determinación de proteínas totales y fraccionadas en saliva y el método colorimétrico Biuret resumidos en el siguiente esquema:



Esquema 1. Procesamiento de las muestras salivales de personas sanas, antes, durante y después de realizar los métodos colorimétricos correspondientes.

1. **Previo consentimiento informado** (firmado por el paciente) para dar inicio al procedimiento (Anexo D). Se les explicó a los participantes y se les pidió que completaran el formulario de consentimiento informado antes de su inscripción en el estudio.
2. **Valoración bucal** a través de la determinación y calificación del índice CPOD (Anexo E). Se incluyó una evaluación del estado bucal basado en la observación clínica del odontólogo (presencia de periodontitis, faringitis, gingivitis, glositis, aftas bucales, entre otros) utilizando un espejo bucal plano del número 5, explorador (esterilizados previamente para cada paciente) y toallas de tela o papel para las manos y pinzas. Se anotó para cada persona el número de dientes cariados, obturados y perdidos, incluyéndose las extracciones indicadas debido a caries dental.

⇒ **Cálculo e interpretación del índice CPOD**

Fue considerado como el criterio principal para cuantificar la prevalencia de caries dental, tanto actual como pasada, ya que consideraba los dientes con lesiones de caries y los dientes con tratamientos previamente realizados. Se empleó el índice individual, el cual se calculó según la siguiente fórmula^{58 y 59}.

$$\text{Índice CPO-D (individual)} = C + P + O$$

El resultado se obtuvo mediante la suma de piezas dentales permanentes cariadas, perdidas por caries y obturadas, por consiguiente, su expresión fue un número entero en una escala entre 0 y 32. La interpretación del índice CPOD se realizó a través de varios niveles de severidad (tabla 2).

Tabla 2. Niveles de severidad índice CPOD individual, OMS

Rango	Nivel
0 - 4	Muy bajo
5-8	Bajo
9-13	Moderado
14-20	Alto
21 y más	Muy alto

Fuente: Elaboración propia con base en la referencia⁶⁰

Índice grupal o comunitario

$$\text{CPOD} = \frac{\sum \text{DC} + \text{DP} + \text{DO}}{\text{total de la muestra estudiada}}$$

Fue representado también por la sumatoria de los dientes cariados, perdidos por caries y obturados dividido entre el número de individuos estudiados⁶¹. En el presente estudio se consideró toda la historia del individuo, ya que en su registro se incluían datos sobre:

- Las piezas dentarias con lesión activa y clínicamente evidente (cariadas).
- Las piezas dentarias extraídas, que fueran perdidas por caries dental o aquellas que estaban indicadas para una extracción (perdidas).
- Las piezas que ya habían recibido tratamiento para la caries dental (obturadas).

Para la calificación de índice de caries se realizó siguiendo recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), según la gravedad de la caries dental, teniendo como ponderación: bajo (cero a dos caries); moderados (tres a cuatro caries) y alto (cinco o más)⁶². Por otra parte, la OMS en 1981 recomendó organizar las personas por grupos de edades para los estudios de prevalencia de caries (ejemplo: por quinquenios, por decenios, 65 años y más). Asimismo, estableció normas de prevalencia de caries,

determinando los niveles del CPOD que se pueden visualizar en la siguiente tabla:

Tabla 3. Niveles de prevalencia índice CPOD comunitario, OMS

Rango	Nivel
0 - 1,1	Muy bajo
1,2 - 2,6	Bajo
2,7 - 4,4	Moderado
4,5 - 6,5	Alto
Mayor a 6,6	Muy alto

Fuente: tomado de Marengo et al.⁶³

De cada paciente en estudio se incluyeron solo 28 dientes y se excluyeron los terceros molares debido a su alta variabilidad en presencia, frecuente extracción por razones no relacionadas con caries y dificultades diagnósticas y de tratamiento.

3. Toma de muestra salival no estimulada

Para la presente investigación se les indicó de forma verbal y escrita como debían tomar la muestra el día que asistieran al laboratorio (Anexo F).

⇒ **Instrucciones:**

- A. Recibir la historia clínica firmado por cada paciente
- B. Rotular el recolector tomando las precauciones de identidad de la persona a la cual se le tomaba la muestra.
 - Número y tipo de muestra para análisis
 - Información del paciente (nombre y apellido, sexo, edad, número de registro del paciente)
 - Fecha de la toma de muestra

Recolección de muestra de saliva

Según Mohamed et al. y siguiendo las recomendaciones de la Asociación Latinoamericana de Investigación en Saliva (ALAIS) el método de recolección y procesamiento de saliva fue el siguiente⁶⁴ y ⁶⁵:

⇒ **Instrucciones para el paciente (30 minutos antes de la toma de muestra):**

- No ingerir alimentos ni líquidos, excepto agua.
- No masticar chicle, fumar o utilizar algún tipo de spray bucal antes de la toma de muestra.
- No realizar ejercicio físico extenuante
- Realizar su cepillado normal del día (sin crema dental)
- Remover productos cosméticos, bálsamos o cremas labiales, y no tocar los labios con sus manos antes de la toma de muestra
- La saliva debía ser colectada a la misma hora del día, la recolección debía realizarse en un lugar tranquilo con suficiente luz.
- Las muestras que contuvieran sangre, o algún detrito debían descartarse.

⇒ **Toma de muestra:**

- El paciente se lavó las manos y se enjuagó la boca con agua
- Se sentó en una posición cómoda (posición de reposo), evitando cualquier actividad que pudiera estimular la producción de saliva, como masticar o mover la lengua.
- Se le indicó que debía dejar acumular saliva naturalmente en la boca (aproximadamente durante 2 minutos) y luego escupirla suavemente en un recolector estéril. Este método de "escupido" es sencillo y no invasivo, y es ampliamente utilizado en estudios de saliva.

- Se recogió entre 3- 4 mL de muestra de saliva no estimulada entre las 7:30 am – 9:30 am para reducir la variabilidad circadiana (los cambios en la producción de saliva a lo largo del día).

En caso extremo que la muestra no se hubiese podido recolectar en el laboratorio, se mantuvo en hielo y se llevó rápidamente, preferiblemente dentro de los primeros 30 minutos. El rápido procesamiento fue crucial para preservar la integridad de las proteínas y otros componentes salivales, evitando la degradación o la actividad enzimática que podría alterar los resultados⁶⁶.

- Se procedió a realizar el análisis fisicoquímico de cada muestra durante las 2 horas siguientes. De no ser analizada de inmediato, se conservó a –20°C por un período no mayor de un mes.

4. Análisis Físico – Químico de la saliva

- Color
- Aspecto
- pH
- Densidad

Se traspasó la muestra a un tubo estéril y transparente. Para el estudio físico en cuanto el color y aspecto se tomó como referencia la impresión visual de cada una de las muestras por los analistas⁶⁷. Para la determinación de parámetros como la densidad y pH, se utilizó un test reactivo por parte de la marca Yercon™ donde:

- **Densidad:** Esta prueba se basó en el cambio aparente de pKa de ciertos polielectrolitos pretratados en relación con la concentración iónica. En presencia de un indicador, los colores variaron de azul oscuro a azul

verdoso en muestras de baja concentración iónica y a amarillo verdoso en muestras de mayor concentración iónica⁶⁸.

- **pH:** se basó en el conocido método de doble indicador de pH, donde el azul de bromotimol y el rojo de metilo proporcionan colores distinguibles en el rango de pH de 5,0 a 9,0. Los colores variaron del rojo anaranjado al amarillo y del amarillo verdoso azul⁶⁸.

Procedimiento del examen físico-químico

- Se retiró la tira de la bolsa para su uso inmediato.
- Con ayuda de una puntilla dispuesta en una pipeta se tomó alrededor de 20 μ L de muestra (previamente mezclada), se impregnó cada almohadilla de la tira reactiva.
- Mientras se dejaba actuar mínimo 1 minuto se puso de lado y, con golpes suaves sobre el papel absorbente, se dejó escurrir el exceso. Se secó el borde longitudinalmente con una toalla de papel absorbente para eliminar aún más el exceso y evitar derrames.
- Se comparó cada área de reactivo con sus bloques de color correspondientes en la tabla de colores y se leyeron en los tiempos especificados. Por lo tanto, los resultados se determinaron mediante la comparación directa de las cartas de colores.

5. Centrifugación

Analizadas previamente las características físico-químicas, se procedió a la centrifugación de la muestra de 6.000 rpm durante 10 min.

6. Análisis Bioquímico de la saliva

Medición de Proteínas totales

En este apartado se hizo uso del ensayo de Biuret por espectrofotometría proporcionado por la firma comercial *Wiener lab*. El fundamento de la prueba fue el siguiente: los enlaces peptídicos de las proteínas presentes en el sobrenadante de la muestra centrifugada, reaccionaron con el ion cúprico en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540nm, cuya intensidad fue proporcional a la concentración de proteínas totales en muestra⁶⁹.

Materiales

- Reactivo A (reactivo provisto): complejo EDTA/Cu 13mmol/L en hidróxido de sodio 875 mmol/L y alquil aril polieter (AAP)
- Reactivo no provisto: Calibrador A plus / Protí 2 Suero Patrón de Wiener lab
- Espectrofómetro STAT FAX Mod.1904
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos o cubetas espectrofotométricas
- Baño de agua a 37°C
- Reloj o timer

Condiciones de la reacción

- Longitud de onda: 540 nm en espectrofómetro
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 40 µL
- Volumen de reactivo A: 1,0 mL
- Volumen final de reacción: 1,04 mL

Procedimiento para proteínas totales

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	40 µL	-
Muestra	-	-	40 µL
Reactivos A	1,0ml	1,0ml	1,0ml

Se mezcló con una varilla. Posteriormente se incubó durante 5 min a 37°C, y se leyó en el espectrofotómetro a 540nm llevando a cero con el Blanco Reactivo⁶⁹. Se determinó la concentración a través de la siguiente fórmula:

$$[\text{Concentración de la muestra}] = \text{absorbancia (D.O)} \times \text{factor de calibración}$$

Medición de Albúmina

Se utilizó el ensayo colorimétrico verde de bromocresol por espectrofotometría proporcionado (con ciertas variaciones) también por la firma comercial *Wiener lab*. El fundamento consistió en: la albúmina presente en saliva se unió a la forma aniónica de 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína (BCG) sin necesidad de separar previamente otras proteínas presentes en la muestra. Este proceso provocó un aumento en la absorbancia a una longitud de onda de 625 nm cuando se comparó con un blanco de reactivo. Este incremento en la absorbancia fue proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra, lo que permitió su cuantificación precisa⁷⁰.

Materiales

- Reactivo A (reactivo provisto): solución de BCG 0,3 mmol/L, buffer acetato 0,1 mol/L y polioxietilén lauril éter 0,9 g/L

- Reactivo no provisto: Calibrador A plus / Proti 2 Suero Patrón de Wiener lab
- Espectrofotómetro STAT FAX Mod.1904
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados
- Tubos o cubetas espectrofotométricas
- Reloj o timer

Condiciones de la reacción

- Longitud de onda: 625 nm en espectrofotómetro
- Temperatura de reacción: 15 a 28°C
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 20 µL
- Volumen de reactivo A: 1mL
- Volumen final de reacción: 1,02 mL

Procedimiento para albúmina

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	20 µL	-
Muestra	-	-	20 µL
Reactivo A	1mL	1mL	1mL

Se mezcló con una varilla. Posteriormente se incubó durante 5 min entre 15 a 28°C, y se leyó en el espectrofotómetro a 625 nm llevando a cero con el Blanco Reactivo⁷⁰. Determinándose la concentración con la fórmula proporcionada anteriormente.

$$[\text{Concentración de la muestra}] = \text{absorbancia (D.O)} \times \text{factor de calibración}$$

Medición de Globulina

Para determinar su concentración, se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Globulina (g/dL)} = \text{Proteínas totales(g/dL)} - \text{Albúmina(g/dL)}$$

Diseño de análisis de los datos

Los datos fueron recolectados durante la fase interactiva de la investigación y analizados a través de un enfoque cuantitativo a través de operaciones matemáticas, tal como lo refirieron Palella y Martins⁵⁷. Es importante resaltar que el universo estadístico de esta investigación estuvo representado por todas las personas de la ciudad de Mérida, en quienes estuvo la característica en estudio: concentración de proteínas totales y fraccionadas en saliva. La población estadística estuvo representada por el conjunto de valores de la característica en estudio. A su vez, la muestra estuvo representada por el subconjunto de valores de la población estadística, presentes en las muestras salivales de 34 individuos (unidades elementales) que acudieron al consultorio M&M Dental, C.A y Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica, Mérida-Venezuela.

Las variables características en estudio, que se midieron tuvieron como punto de partida su naturaleza cuantitativa. En consecuencia, tuvieron una escala de medida de razón. Los valores o datos se analizaron con el programa estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Science*, versión 22); utilizando métodos estadísticos descriptivos e inferenciales, incluyendo la representación de frecuencias y porcentajes, así como mínimo, máximo, media y desviación estándar. Además, se realizaron pruebas de correlación de Pearson y análisis de varianza (ANOVA), complementados con pruebas post hoc de Bonferroni para identificar diferencias significativas entre grupos. También se utilizó un histograma para visualizar la distribución de la proteína salival total y fraccionadas en la población estudiada.

Variables estadísticas

Las variables estadísticas de esta investigación fueron clasificadas desde su naturaleza y escala de medida. El fin fue identificar el indicador estadístico pertinente (tabla 4). Entre otros aspectos, estos indicadores permitieron la interpretación de los resultados.

Sistematización de los resultados

Los resultados fueron sistematizados a través de tablas y figuras. El fin de esta sistematización fue facilitar la interpretación de los resultados. De esta manera, se contribuyó a la respuesta al enunciado holopráxico. A su vez, se obtuvo el conocimiento nuevo formulado en el objetivo general y sistematizado a través de los sublogros presentes en los objetivos específicos.

Tabla 4. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos

Variable	Tipo de variable		Escala de medida				Indicador estadístico	
	Cualitativa	Cuantitativa		Nominal	Ordinal	Intervalo		
		Discreta	Continua					
Proteína total			•				•	Estadística descriptiva Medidas de tendencia Central
Albúmina			•				•	Estadística descriptiva Medidas de tendencia Central
Globulina			•				•	Estadística descriptiva Medidas de tendencia Central

Fuente: Valero y Villasana (2024).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Se presentó los resultados obtenidos en función de los objetivos específicos planteados en la investigación. Se procesaron y analizaron 34 muestras de saliva de adultos entre 18 y 60 años de edad, provenientes de la unidad de investigación. La procedencia de las muestras fue comunitaria, recolectadas en el consultorio odontológico y en Vitalis Laboratorio, del estado Mérida. Fueron procesadas en dicha instalación durante el mes de abril del 2024, tiempo en el cual se realizó la fase interactiva del proceso de investigación, correspondiente al diseño de laboratorio.

Características demográficas de la población

En la población estudiada en la presente investigación podemos observar a través de la figura 1, dos géneros aceptados biológicamente, donde la mayoría de los participantes en el estudio fueron mujeres, con una proporción de aproximadamente dos tercios del total, mientras que los hombres representaron poco más de un tercio de los participantes.

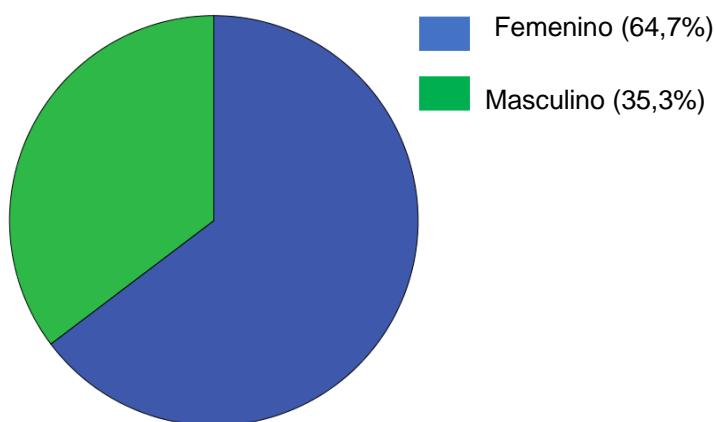


Figura 1. Distribución de participantes según el sexo

Para establecer la diferencia de concentración de proteínas totales en saliva según el sexo, se presentó la figura 2. La cual reveló que la media de la concentración de proteínas totales fue de 0,58 g/dL en el grupo femenino y de 0,68 g/dL en el grupo masculino.

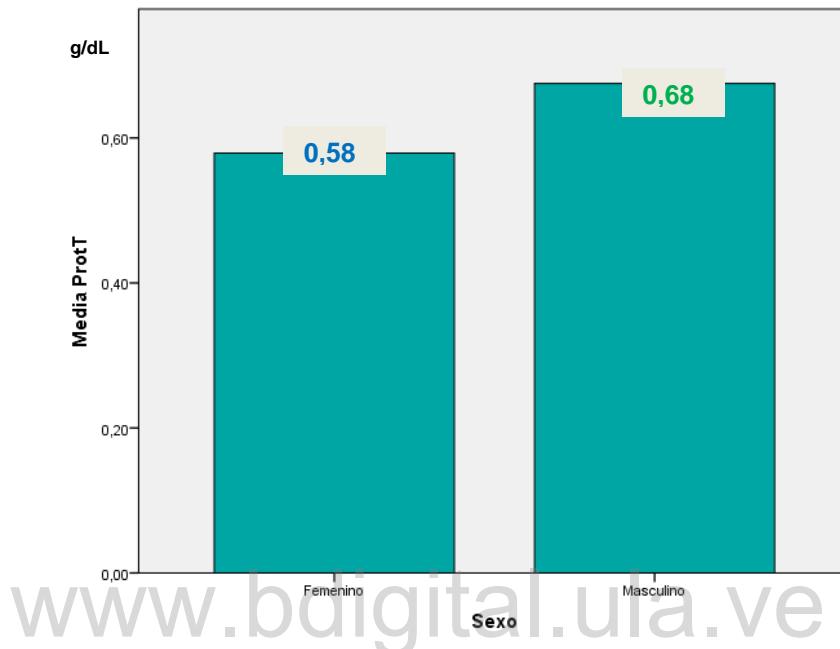


Figura 2. Distribución de la media de proteínas salivales según el sexo

La mayoría de los participantes se encontró en el grupo etario de 25-29 años representado por un 58,8% del total (tabla 5). Por otra parte, los grupos etarios de 18-19 años y 45-54 años tuvieron una representación significativamente menor, cada uno con un 5,9% de los participantes.

Tabla 5. Distribución de participantes por edades

Grupos etarios	Frecuencia	Porcentaje (%)
18-19 años	2	5,9
20-24 años	3	8,8
25-29 años	20	58,8
30-34 años	4	11,8
35-44 años	3	8,8
45-54 años	2	5,9
Total	34	100,0

Valoración bucal

Según los datos obtenidos de la valoración bucal, se realizó la calificación a través del índice CPOD correspondiente a los criterios de la OMS, (tabla 6). Donde la mayoría de los participantes (76,5%) tenían un nivel de CPOD muy bajo. Un menor porcentaje el 20,6% tenían un nivel bajo, mientras que solo el 2,9% de los participantes tenían un nivel moderado.

Tabla 6. Niveles de prevalencia índice CPOD individual, según OMS

Nivel	Rango	Frecuencia	Porcentaje (%)
Muy bajo	0 - 4	26	76,5
Bajo	5 - 8	7	20,6
Moderado	9 - 13	1	2,9
Total		34	100,0

De igual manera se determinó que la mayoría de los participantes (79,4%) tenían un nivel de caries bajo (tabla 7). Un menor porcentaje (20,5%) presentaba un nivel de caries moderado, mientras que no se registraron casos con un nivel de caries alto.

Tabla 7. Prevalencia de caries dentales en los participantes, según la OPS⁶¹

Nivel	Rango de caries	Frecuencia	Porcentaje (%)
Bajo	0 - 2	27	79,4
Moderado	3 - 4	7	20,5
Alto	5 o más	0	0
Total		34	100,0

Características físico-químicas de las muestras de saliva

En relación al pH de la saliva la población estudiada (tabla 8) mostró que el valor promedio fue 6,47; con una variabilidad moderada (desviación estándar de 0,47). Los valores de pH oscilaron entre un mínimo de 5,50 y un máximo

de 7,50. Indicando una variación en la acidez de la saliva dentro del grupo estudiado.

Tabla 8. Rangos del pH salival

pH	Nº	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Nº	34	5,50	7,50	6,4706	0,47580
Total	34				

Así mismo, se pudo visualizar que la mayoría de las muestras de saliva tuvieron un pH de 6,50 (tabla 9); indicando que el pH de la saliva en casi la totalidad de los participantes estuvo en un rango ligeramente ácido. Y una densidad de 1.010, mostrando que esta fue la densidad más común en la saliva de los participantes.

Tabla 9. Distribución de pH y densidad salival en los participantes

pH	Frecuencia	Porcentaje (%)
5,50	1	2,9
6,00	11	32,4
6,50	13	38,2
7,00	7	20,6
7,50	2	5,9
Total	34	100,0

Densidad		
1.000	1	2,9
1.005	7	20,6
1.008	1	2,9
1.010	19	55,9
1.015	6	17,6
Total	34	100,0

Análisis bioquímico salival

En cuanto a la determinación de las proteínas totales y fraccionadas se obtuvo lo siguiente: una concentración promedio de 0,61 g/dL de proteínas totales; con albúmina y globulina promediando a 0,26 g/dL y 0,35 g/dL

respectivamente (tabla 10). Las desviaciones estándar proporcionaron una medida de la dispersión de los datos alrededor de la media.

Tabla 10. Concentración de proteínas salivales totales y fraccionadas

Parámetro	Nº	Mínimo(g/dL)	Máximo(g/dL)	Media	Desviación estándar
Proteínas Totales	34	0,17	1,67	0,6129	0,35159
Albumina	34	0,05	1,00	0,2621	0,19855
Globulina	34	0,02	1,47	0,3509	0,32848
Total	34				

En relación a la correspondencia entre la concentración de proteínas y el grupo etario (figura 3), el comportamiento que se observó en la población estudiada fue que la concentración de proteínas totales en saliva mostró una tendencia general a disminuir con la edad. Los niveles más altos se observaron en los individuos más jóvenes, con una media que disminuyó de manera constante a medida que aumentaba la edad. En el caso de la albúmina, también mostró una tendencia decreciente con la edad, comenzando con concentraciones relativamente bajas en los adolescentes, presentó una ligera disminución y fluctuación en la juventud y la adultez temprana y disminuyó ligeramente en los grupos de mayor edad.

Por otro lado, las globulinas presentaron una alta concentración inicial en los individuos más jóvenes, pero esta concentración disminuyó notablemente en los grupos de mayor edad. A partir de los 30 años, las concentraciones de globulinas mostraron una tendencia a estabilizarse con ligeras disminuciones en los adultos mayores.

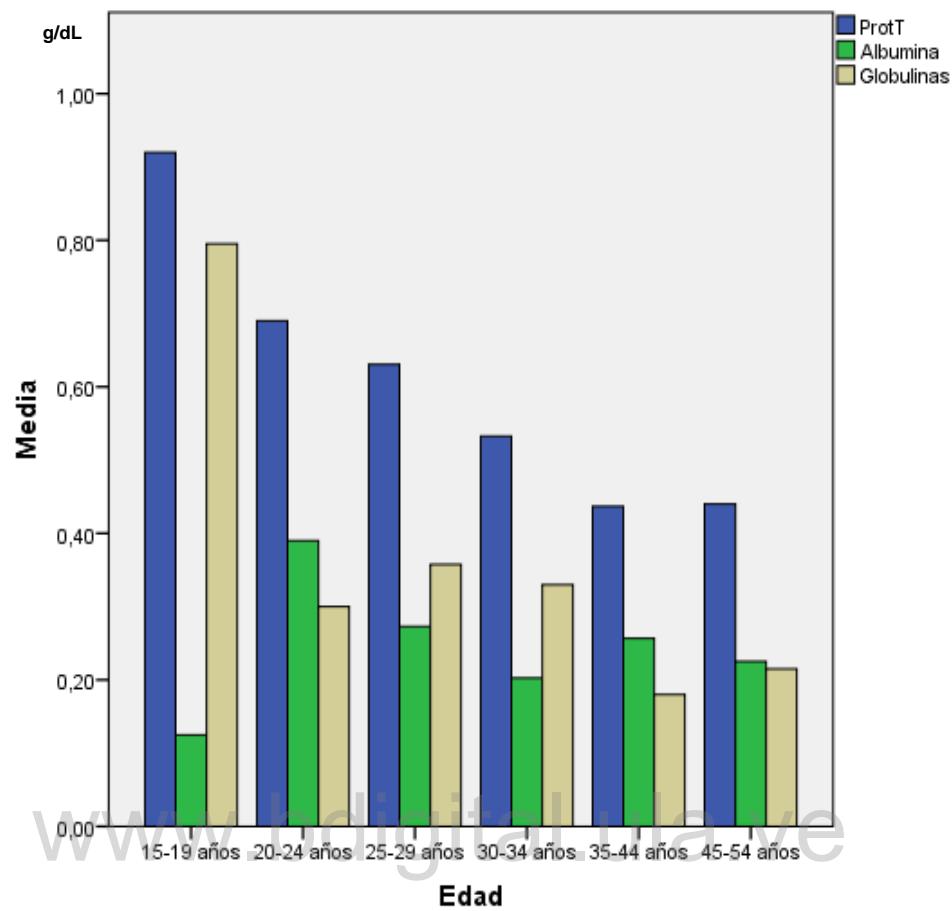


Figura 3. Relación entre las medias de proteínas totales y fraccionadas según grupos etarios

En el mismo orden de ideas, este estudio reveló en la figura 4, que las concentraciones de proteínas salivales tendieron a ser más altas en los grupos con índices CPOD más bajos y disminuyeron a medida que el índice CPOD aumentaba.

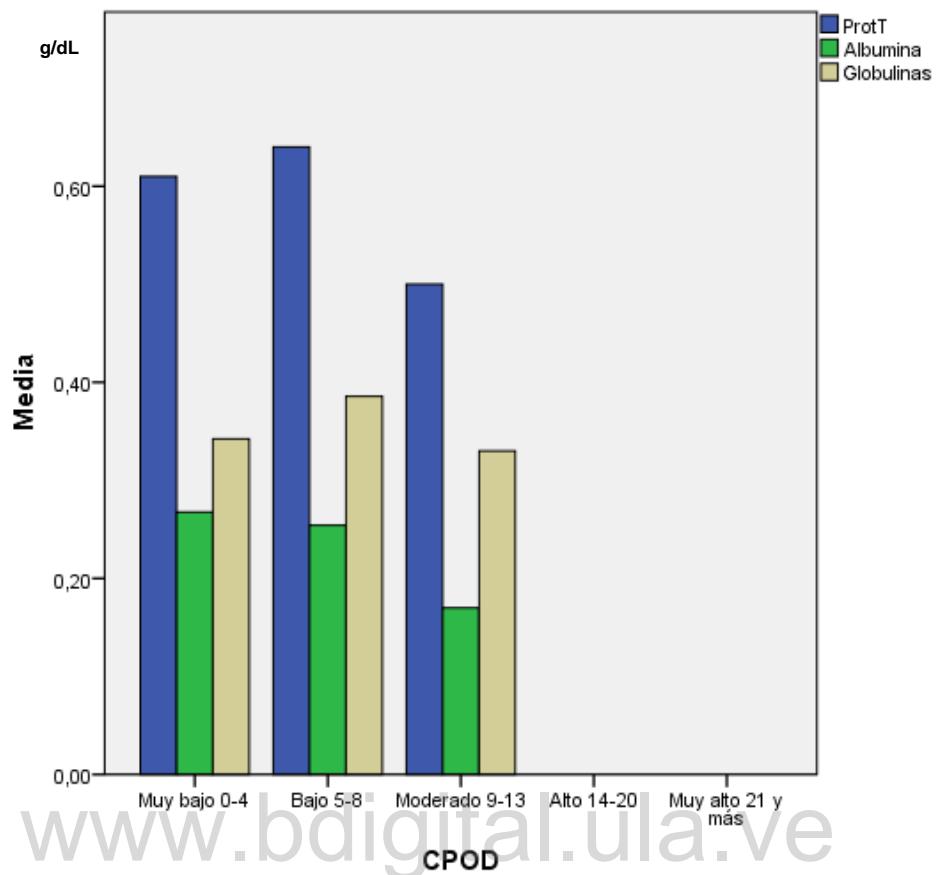


Figura 4. Relación entre las medias de proteínas totales y fraccionadas según el índice CPOD (individual)

Considerando la media de pH salival obtenido, mostrado en la figura 5, dicho parámetro se mantuvo constante alrededor de 6,0 indicando un pH ligeramente ácido entre los grupos con niveles de índice CPOD "muy bajo", "bajo" y "moderado". Es decir, no hubo variaciones significativas en el pH salival de los participantes en relación con el índice CPOD dentro de los niveles presentados.

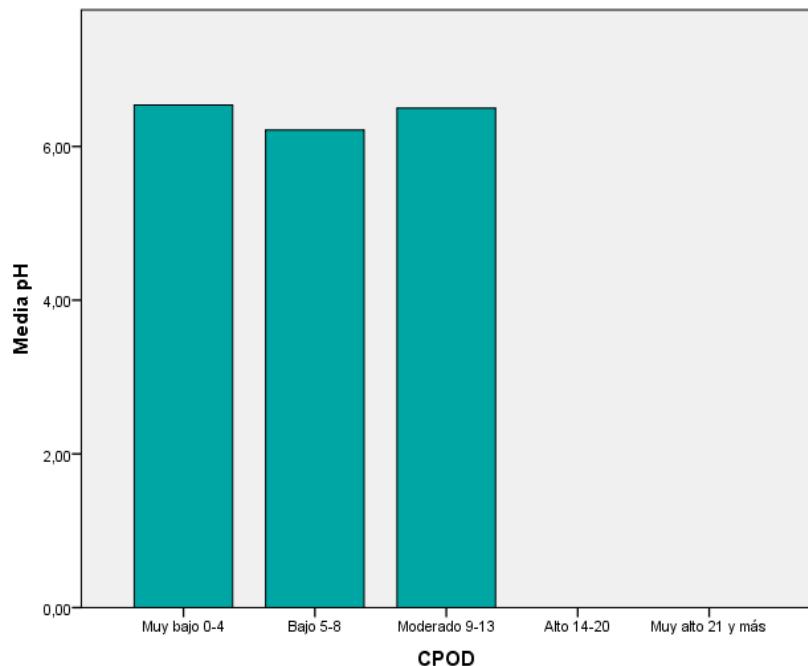


Figura 5. Relación entre la media del pH salival y el índice CPOD

Teniendo en cuenta el pH salival obtenido en cada participante se estableció la figura 6; la cual indicó que, aunque hubo una gran variabilidad en los índices individuales, los valores de pH salival presentaron poca fluctuación manteniéndose alrededor de 6,0 (al igual que su media). Por lo cual permaneció bastante estable.

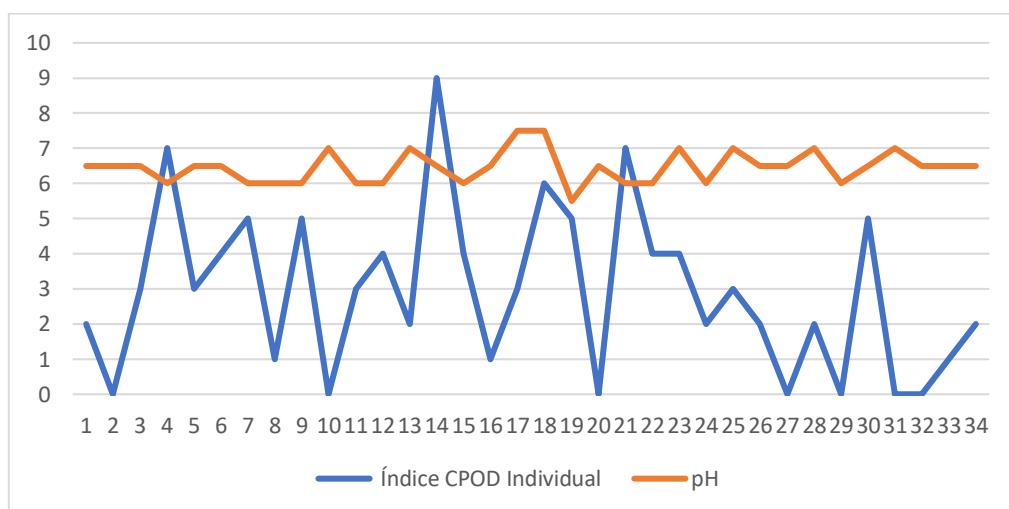


Figura 6. Comportamiento por participante: índice CPOD individual y pH salival

Se determinó así mismo, la relación entre la concentración de proteínas totales en saliva y el índice CPOD individual, mediante un análisis de correlación de Pearson (tabla 11). Mostrando que no hubo una relación significativa en la población estudiada; obteniéndose un coeficiente de correlación de Pearson de -0,006 (correlación muy débil), y estadísticamente no significativa entre estas dos variables, con un $p=0,972$.

Tabla 11. Correlación entre las proteínas totales y el índice CPOD

		Proteínas Totales	CPOD
Proteínas Totales	Correlación Pearson	de 1	-0,006
	Sig. (bilateral)		0,972
CPOD	Correlación Pearson	de -0,006	1
	Sig. (bilateral)	0,972	
		Nº 34	34

* $p \geq 0,05$ no existen diferencias estadísticamente significativas.

Además, por medio del gráfico de dispersión se corroboró una relación débil y no significativa entre las variables ($R^2 = 0,015$), siendo una correlación nula porque el valor de R^2 es igual a cero, indicando también que solo el 1,5% de la variabilidad en las concentraciones de proteínas totales puede explicarse por los niveles del índice CPOD.

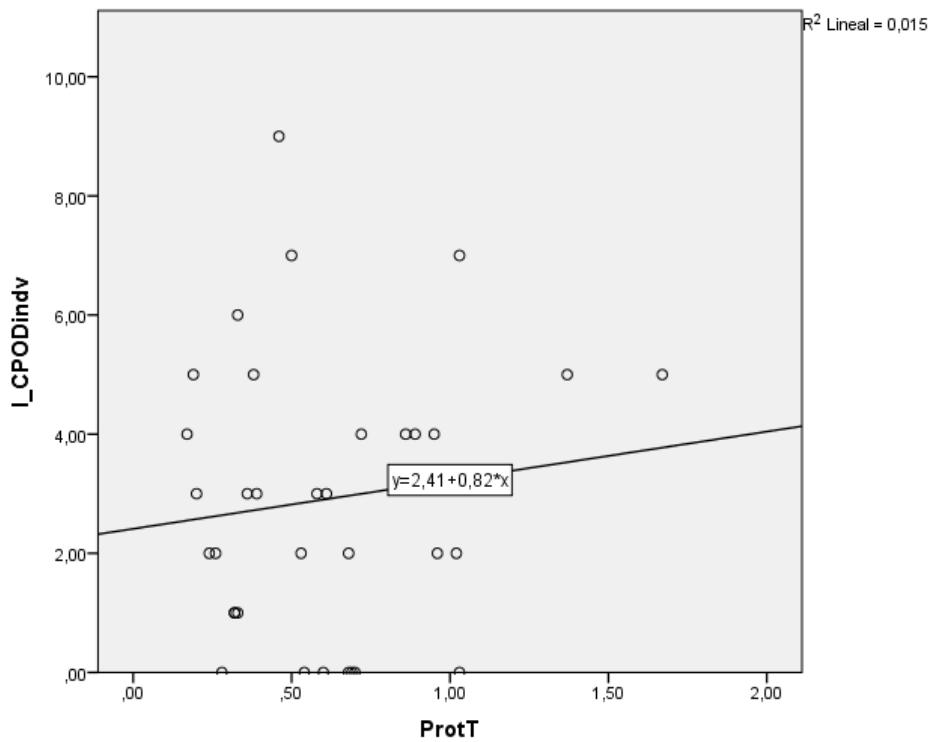


Figura 7. Gráfico de dispersión de proteínas totales y CPOD individual

Tanto la tabla de correlación como el gráfico de dispersión indicaron que no existe una relación significativa entre las concentraciones de proteínas totales en saliva y el índice CPOD individual.

Para evaluar la homogeneidad de varianzas, se realizó la prueba de Levene (tabla 12), con el objetivo de verificar si las varianzas de las concentraciones de estas proteínas en saliva eran homogéneas entre los diferentes niveles de índice CPOD obtenidos. Los valores de significación (Sig.) obtenidos fueron: proteínas totales ($p=0,460$), albúmina ($p=0,387$) y globulina ($p=0,918$) todos mayores que 0,05. Esto indicó que no hubo diferencias significativas en las varianzas. Por lo tanto, se cumplió el supuesto de homogeneidad, permitiendo el uso del ANOVA para comparar las medias de las concentraciones de proteínas entre los grupos.

Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene) para proteínas salivales

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
Proteína Totales	0,561 ^a	1	31	0,460
Albúmina	0,770 ^b	1	31	0,387
Globulina	0,011 ^c	1	31	0,918

*Un valor de significación (Sig.) $\geq 0,05$ indicó que no hay diferencias significativas en las varianzas entre los grupos, lo que cumple con el supuesto de homogeneidad de varianzas.

Los grupos con sólo un caso se ignoran en el cálculo de la prueba de la homogeneidad de varianza para proteínas totales^a, albúmina^b y globulina^c.

En el análisis estadístico, se asumió que la población de la cual se extrajo la muestra tenía una distribución normal, es decir, los datos formaban una curva en forma de campana conocida como la curva de Gauss. También se supuso que las observaciones en la muestra eran independientes y que la muestra fue seleccionada aleatoriamente, asegurando que cada miembro de la población tuviera la misma probabilidad de ser seleccionado. Además, se esperó que los datos presentaran homocedasticidad, lo que significa que la variabilidad de los datos fuese constante a lo largo de todas las observaciones, permitiendo un análisis válido y confiable. Dado que la muestra fue homogénea, efectivamente se pudieron establecer valores de referencia para los analitos en el fluido estudiado.

Se realizó un análisis estadístico de ANOVA (tabla 13) en la población sana, midiendo la proteína total salival y fraccionada (albúmina y globulina) con el índice CPOD. Los resultados del análisis de ANOVA no mostraron diferencias significativas entre estas variables debido a que los valores de significación (p) para todas las comparaciones fueron mayores que 0,05 ($p \geq 0,05$).

Tabla 13. Análisis de Varianza (ANOVA) para proteínas salivales según el índice CPOD

		Media				
		Suma de cuadrados	gl	cuadrática	F	Sig.
Proteínas	Entre grupos	0,018	2	0,009	0,069	0,933
	Dentro de grupos	4,061	31	0,131		
	Total	4,079	33			
Albúmina	Entre grupos	0,010	2	0,005	0,117	0,890
	Dentro de grupos	1,291	31	0,042		
	Total	1,301	33			
Globulinas	Entre grupos	0,011	2	0,005	0,047	0,954
	Dentro de grupos	3,550	31	0,115		
	Total	3,561	33			

Con el fin de establecer los rangos de referencias de las proteínas salivales totales y fraccionadas en la población estudiada se diseñó una serie de histogramas, que mostraron la distribución de las concentraciones de proteínas totales (figura 8.1), albúmina (figura 8.2) y globulina en saliva (figura 8.3), proporcionando una representación visual de cómo se promediaban estas en la población de individuos sanos.

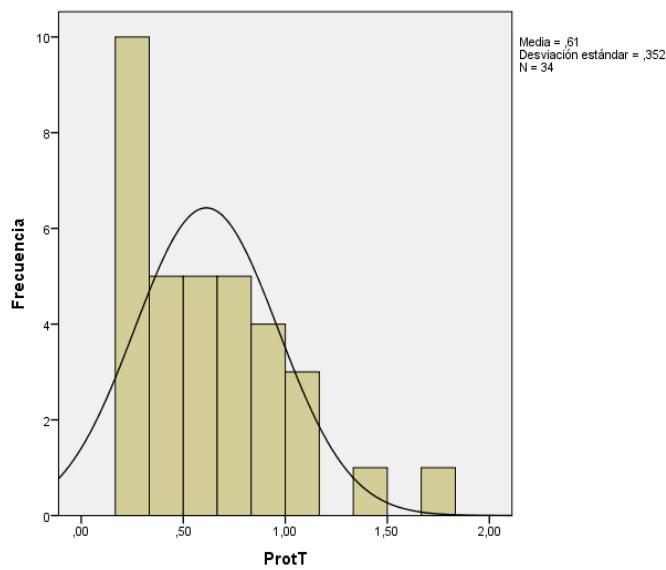


Figura 8.1- Distribución de las concentraciones de proteínas totales con el método de Biuret. La media fue de 0,61 g/dL con una DE de 0,352 g/dL. Reveló que la mayoría de los individuos tenían concentraciones de proteínas totales, que oscilaban entre el rango de 0,1 a 1,31 g/dL.

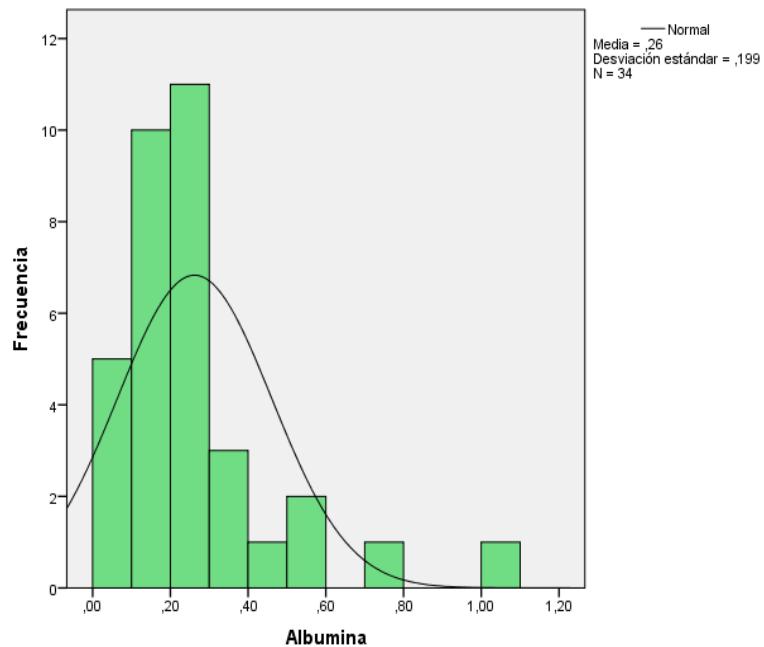


Figura 8.2- Distribución de las concentraciones de albúmina con el método verde de bromocresol. Presentó una media de 0,26 g/dL y una DE de 0,199 g/dL. La mayoría de los individuos tuvo concentraciones de albúmina en el rango que osciló desde 0 a 0,6 g/dL.

www.bdigital.ula.ve

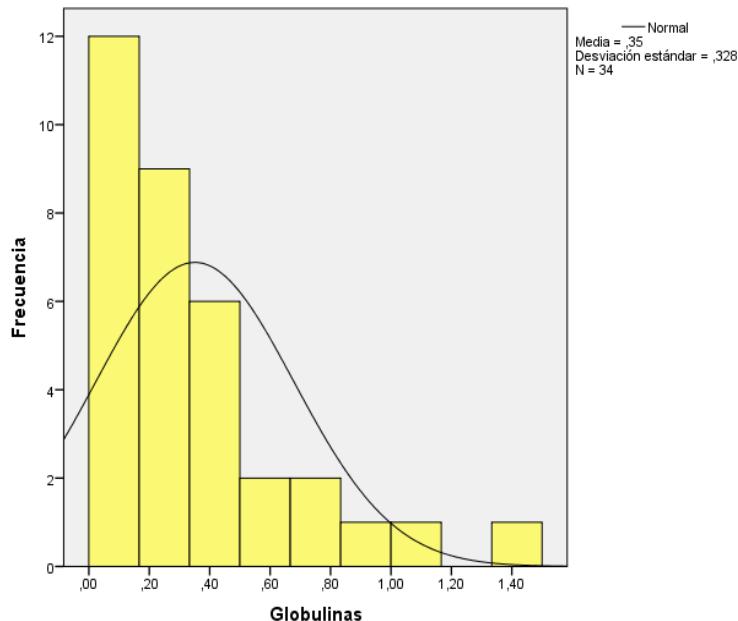


Figura 8.3- Distribución de las concentraciones de globulina por el método diferencial. Mostró una concentración promedio de 0,35 g/dL, con una DE de 0,328 g/dL. La mayoría de los individuos tenían concentraciones entre el rango de 0,1 a 1 g/dL

El histograma reveló una distribución de datos aproximadamente normal (gausiana), con una concentración de valores alrededor de la media. Mostró una tendencia clara: la mayoría de los individuos en la población estudiada tenían concentraciones bajas de estas proteínas. Los valores de referencia establecidos para cada analito fueron: proteína total salival de 0,1 a 1,31 g/dL, albúmina de 0 a 0,6 g/dL y globulinas de 0,1 a 1,0 g/dL en la población sana estudiada.

Discusión

En los últimos veinte años se ha demostrado como la saliva ha tomado un papel relevante en la investigación. Actualmente, gracias a técnicas colorimétricas simples, es posible emplear la saliva como un auxiliar del diagnóstico clínico. En el presente estudio, al comparar los datos obtenidos con aquellos reportados en diferentes investigaciones, se observaron resultados similares o disimiles.

Pretendiendo enriquecer la información en torno al índice CPOD, el estudio liderado por Olávez et al.⁷¹, se centró en estudiantes universitarios de odontología y arquitectura (jóvenes adultos entre 18 y 30 años) de la Universidad de Los Andes. Obteniendo un promedio de 4,43 y 4,80 respectivamente para el índice CPOD grupal, indicando una prevalencia de caries mayor. Así mismo, se evaluaron los hábitos alimenticios y odontológicos, encontrando una relación significativa entre el consumo de carbohidratos (pasta, pan y golosinas) y el índice de caries en estudiantes de arquitectura, mientras que en odontología solo se relacionaron pan y golosinas. Sin embargo, Ramírez et al.⁷², observaron un índice moderado en la ciudad de Medellín Colombia, estudiando edades de 35 a 44 años.

Por otra parte, investigaciones más actuales como las de Corredor et al.⁷³, incluyó 80 pacientes, con edades entre 18 y 59 años, en donde obtuvo un CPOD elevado (>5), representado por el 78,75%. Mientras que en el presente

estudio según los valores de prevalencia que estableció la OMS y la OPS se obtuvo un CPOD individual para la población entre 18 y 60 años muy bajo, con un índice de 0 a 4 (tabla 6), y una baja prevalencia de caries (tabla 7) lo cual sugería en ambos casos, una buena salud dental en la mayoría de los participantes. Se estableció así mismo, como criterio de exclusión pacientes con más de 5 caries activas.

En cuanto al pH salival, investigaciones derivadas de Zárate et al.⁷⁴, determinaron el pH promedio en el grupo control de saliva no estimulada, siendo de $7,48 \pm 0,55$; además de evaluar la saliva de pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija. Un parámetro importante que se pudo dilucidar cambia el medio ambiente bucal modificando el pH salival volviéndolo más ácido, en cambio no altera la concentración de proteínas totales. Tal y como lo expreso el autor Velez⁷⁵ cuando realizó su investigación sobre dicho parámetro salival en diversos grupos de pacientes, informando que los cambios en este ecosistema pueden llevar a patologías orales. Explicó que el problema surge cuando en presencia de pH salival ácido, ocurre la desmineralización del esmalte lo que lleva a caries dental, mientras que, en presencia de pH alcalino, favorece la patogenia de la periodontitis.

Adicionalmente, Corredor et al.⁷³, valoraron en saliva (no estimulada) de pacientes adultos que asistieron al servicio de odontología, primeramente, el pH, oscilando entre 6,0 y 8,0; con una media de 7,0. Mientras que la densidad salival varió entre 1.005 y 1.020 mg/mL, con una media de 1.013 ± 0.004 mg/mL. En el presente estudio, se observó que la media del pH salival fue de 6,47; en donde los valores de pH oscilaron entre 5,5 y 7,5 (tabla 8); indicando una variación en la acidez de la saliva dentro del grupo estudiado. Al mismo tiempo, lo reflejado en la figura 6 indica que, a pesar que hubo variabilidad en los valores del índice CPOD, el pH salival no estaba significativamente afectado por el nivel prevalencia de dicho parámetro. Por otro lado, la densidad estudiada oscilo entre 1.000 a 1.015 mg/mL, con una frecuencia del 55,9% representada por 1.010 mg/mL.

Con respecto a la concentración de proteínas totales en saliva, el estudio realizado por Banderas et al.³², en México, implementando el método de Bradford en pacientes clínicamente sanos, obtuvo una concentración promedio de 1,37 g/dL, siendo mayor en mujeres (1,40 g/dL) que en hombres (1,34 g/dL). En la investigación actual la concentración promedio fue de 0,61 g/dL, determinada mediante el método colorimétrico Biuret, resultando ligeramente mayor la concentración obtenida en hombres (0,68 g/dL) en comparación con las mujeres (0,58 g/dL) representada en la figura 2. Ambos estudios coinciden que dicho parámetro puede ser un indicador útil de la salud bucal.

Comparando los promedios de proteínas totales reportados por Shaila et al.³³, que además de trabajar con pacientes sanos incluyó en el grupo, pacientes con gingivitis y periodontitis, representado por un total de 120 sujetos, dividido en 2 grupos según su edad como, jóvenes (20-35 años) y ancianos (mayor de 65 años). El promedio de concentración obtenido para los pacientes sanos fue 0,86 g/dL. Mientras que, la investigación actual estuvo representada por una muestra cautiva de 34 adultos sanos entre 18-60 años, sugiriendo una predominancia de adultos jóvenes en la población de estudio (tabla 5), obteniendo una concentración promedio de 0,61 g/dL, siendo 1,4 veces mayor que el obtenido en el contexto de este estudio, teniendo en común el método de recolección de saliva no estimulada y la técnica utilizada para determinar el analito. Shaila mencionó que lo más probable, es que los niveles elevados de proteína se deban a una mayor síntesis y secreción por parte de la saliva glandular individual.

Otros autores como Henskens⁷⁶ investigaron las concentraciones de proteínas totales en la saliva de pacientes sanos (sin edades descritas) con ayuda del método BCA (ácido bicinconílico) reflejando un rango que oscilaba entre 0,05 a 0,15 g/dL, con un valor medio de $0,106 \pm 0,025$ g/dL. Resultando muy diferente al obtenido en el presente estudio entre un rango de 0,1 a 1,31 g/dL con una media de 0,61 g/dL a través del método colorimétrico. Esta

diferencia probablemente se deba a los métodos analíticos utilizados, que varían en sensibilidad y especificidad para detectar proteínas totales, lo cual puede influir en los valores obtenidos.

Otro estudio del mismo autor⁷⁷ determinó que el aumento de los niveles de proteína en los grupos de prueba, podría deberse al proceso inflamatorio que activa el sistema simpático para mejorar la síntesis y secreción de algunas proteínas, aumentando así el potencial protector de la saliva contra las enfermedades. Los hallazgos actuales también fueron similares al resultado de investigaciones un poco más recientes como la publicada en el 2021 por Zin et al.²⁰, en donde el nivel medio de proteína total en el grupo sano fue 1,52 g/dL.

Cabe destacar que la concentración de este componente salival puede estar influenciada por diferentes factores, tales como el ritmo circadiano, la presencia de hormonas, trastornos psicológicos, cepillado dental y/o el ejercicio físico^{74,78}, dependiendo así mismo, del tipo de saliva recolectada y el método utilizado para su determinación. Tomando en cuenta las investigaciones relacionadas a dos parámetros de la saliva tenemos a Zárate et al.⁷⁴, quien mencionó que, al disminuir el porcentaje de caries, aumenta la concentración proteica por el contrario autores como Hernández⁷⁹ encontraron pacientes con riesgo de caries y concentración proteica elevada, sin diferencias estadísticas. Interesantemente, Cheaib et al.⁸⁰, encontró a través de su estudio piloto en participantes sanos, un incremento de pH en pacientes con concentración de proteínas totales disminuida con diferencia estadísticamente significativa. Esta comparación de resultados ayuda a determinar que las proteínas como las que se encuentran en saliva, exhiben una capacidad de tampón medible como protector de las estructuras dentarias.

En definitiva, a través del análisis de las características de la muestra de esta investigación; sugirió que una menor prevalencia de caries dental estaba asociada con mayores concentraciones de proteínas totales en la saliva (figura 4). Aunque no se halló correlación significativa entre estas variables

(coeficiente de Pearson) ni al comparar las diferencias entre grupos mediante el ANOVA, siendo este grupo, individuos sin complicaciones relacionadas con la salud bucal.

De acuerdo al estudio planteado por Wakde et al.²², en 2018, expresó que la albúmina salival es considerada como un ultrafiltrado sérico para la boca. Se ha comprobado que, durante la inflamación, la concentración de este analito aumenta significativamente. Esto sugiere que la albúmina salival podría desempeñar un papel crucial en la respuesta inflamatoria y la salud periodontal. De esta forma, sirve como indicador de fuga de proteínas plasmáticas y, en consecuencia, afecta el estado de salud bucal. Autores como Shaila et al.³³, explicaron que la albúmina salival media reportada para 40 participantes controles fue de 0,09 g/dL en contraste con la obtenida en el presente estudio (0,26g/dL), representando esta última aproximadamente 2,9 veces mayor, estando dentro de los rangos de referencia para adultos sanos. En la publicación de Henskens⁷⁶, el autor reveló que como se esperaba, sólo se encontró pequeñas cantidades de albúmina en la saliva de individuos periodontalmente sanos representada por 0,008 g/dL. En donde un aumento de la albúmina salival también influye en el aumento de las proteínas totales³³. Los hallazgos anteriores sobre los niveles totales de saliva fueron bastante diferentes, y esto puede estar influenciado por algunos factores como los métodos de detección de proteínas, los reactivos utilizados, grupo étnico, las variaciones genéticas en las glándulas salivales, entre otros.

En el mismo orden de ideas, Razooki et al.⁸¹, obtuvo en su estudio comparativo la concentración de globulinas en muestras de suero y saliva en pacientes patológicos (diabetes mellitus tipo 1 y 2) y grupos control, obteniendo en este último grupo 0,30 g/dL para dicha proteína en saliva. La actual investigación determinó una media de 0,35 g/dL ambos por el método diferencial, en donde la mínima diferencia presentada podría deberse a la metodología utilizada para proteínas totales y albúmina. Indicando, aun así,

que los resultados obtenidos en ambos estudios son congruentes con los valores esperados en poblaciones sanas.

Siguiendo un estudio confrontativo Ladgotra et al.⁸², determinaron niveles medios de globulina salival, siendo este 0,75 g/dL, mientras que los valores de albúmina salival fueron menores. Por otra parte, encontró una correlación significativa entre los niveles de globulina sérica y salival ($p=0,008$). Tal y como lo explicó, una disminución del nivel de globulina salival, puede deberse a una menor migración de inmunoglobulinas en la saliva como resultado de la inhibición directa de las globulinas por las citoquinas, mientras que la razón tal de un aumento es consecuencia a la fuga en exceso de la familia de inmunoglobulinas a través del daño de la mucosa oral.

Para este estudio, estos resultados sugieren que, en la población estudiada, las concentraciones de proteínas totales en saliva tendieron a ser mayores en los adolescentes y adultos jóvenes, y tendían a disminuir progresivamente en los adultos de mayor edad. Así mismo, la albúmina a pesar que presento una ligera disminución y fluctuación en la juventud, hubo un descenso progresivo que sugirió que los niveles de dicho analito en saliva tienden a ser más bajos en adultos jóvenes y adultos mayores en comparación con los adolescentes; lo que podría reflejar cambios en la producción o secreción a lo largo del envejecimiento. Finalmente, el comportamiento de la globulina indicó que, al igual que las proteínas totales y la albúmina, tienden a disminuir con la edad, aunque la estabilización en edades mayores podría apuntar un equilibrio en la regulación de esta proteína, en la población adulta y mayor (figura 3).

En general es relevante clarificar que las proteínas salivales fueron significativamente mayores en un estado de enfermedad que en los controles sanos ($p<0,01$), debido a que fueron los pacientes más estudiados por los autores anteriormente mencionados.

A través del análisis de regresión lineal descrito por Banderas et al.³², en su estudio, no se observaron correlaciones significativamente estadísticas entre la concentración de proteínas y los índices CPOD. Este hallazgo fue

congruente con el obtenido en la actual investigación en donde el estudio de correlación de Pearson sugirió que las variaciones en las concentraciones de proteínas totales no estaban asociadas con las variaciones en el índice CPOD cuando se habla de pacientes bucalmente sanos (figura 7). Es importante destacar que hallazgos previos en investigaciones de Mrag et al.²¹, han mostrado una correlación positiva entre la proteína total salival y el índice CPOD en poblaciones con condiciones bucales comprometidas. Esto resalta la importancia de considerar el estado de salud bucal de la población estudiada al analizar esta relación. Así mismo, la literatura científica ha revelado que, en individuos con enfermedades bucales, la proteína total salival y el índice CPOD presentan una correlación positiva, sugiriendo un papel significativo en la salud bucal.

Curiosamente, autores como Shaila et al.³³, demostraron a través de la prueba de Fisher (ANOVA) que la estimación de la proteína total salival y la albúmina son marcadores bioquímicos muy significativos ($p=0,001$). Es importante notar que la ausencia de diferencias significativas en la muestra sana analizada; subraya la necesidad de considerar el estado de salud bucal de la población estudiada, al interpretar los resultados de los análisis estadísticos. Debido a esto, la presencia de enfermedades bucales puede influir notablemente en las concentraciones de proteínas salivales y en su relación con el índice CPOD. Esto sugiere que dichas variables pueden desempeñar un papel más crucial en la salud bucal de individuos con altos índices y enfermedades bucales.

Finalmente, fue importante determinar los valores consenso para las proteínas totales, albúmina y globulina, cabe destacar que en las fuentes consultadas que respaldaron la investigación no fue abordado dicho aspecto, siendo relevante al momento de su interpretación y valoración clínica. Valores fuera del rango de 0,1 a 1,31 g/dL en el caso de la proteína total salival pueden considerarse atípicos para una población sana y podrían sugerir que se deben a factores individuales, errores en la medición o posibles problemas de salud

no identificados, dando una idea de cómo se comportan los valores de referencia, permitiendo comprender su naturaleza para poder determinar si lo que se está observando es un valor normal extremo o un valor de una persona enferma. Siendo estos valores específicos y aplicables solo para la población que fue estudiada, de forma que si en un futuro se desea hacer un estudio más amplio se deberá realizar nuevamente las determinaciones de los rangos deseados.

www.bdigital.ula.ve

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La calificación de la valoración bucal de los participantes reveló una baja prevalencia de caries dental, indicando una buena salud oral en la mayoría de los individuos estudiados. Esta evaluación inicial es fundamental para establecer un contexto de bienestar oral que permite interpretar mejor las concentraciones de proteínas salivales y su posible relación con el estado de salud del paciente.
- Las propiedades físico-químicas de las muestras salivales, como el pH y la densidad, mostraron una variabilidad moderada entre los participantes, es decir, puede variar entre individuos, pero en general se mantuvieron dentro de los rangos esperados para una población sana. Estos resultados proporcionan una base sólida para la comparación con otros estudios y para la interpretación de las concentraciones de proteínas salivales.
- La cuantificación de las proteínas totales, albúmina y globulina en saliva mediante el método colorimétrico Biuret, verde de bromocresol y diferencial respectivamente, confirmó que las concentraciones de estas proteínas pueden variar entre individuos; disminuyendo con la edad en la población estudiada y mostrando niveles más altos en los individuos jóvenes y una reducción progresiva en los grupos de mayor edad. Las globulinas, aunque también disminuyeron con la edad, tendieron a estabilizarse a partir de los 30 años. Sin embargo, los valores obtenidos fueron consistentes con los reportados en la literatura, validando así la precisión y fiabilidad de los métodos utilizados en este estudio. Siendo empleado en la gran mayoría de los laboratorios clínicos por los Licenciados en Bioanálisis, debido a su costo accesible y resultados confiables.

- El histograma de proteínas totales (0,1 a 1,31 g/dL), albúmina (0 a 0,6 g/dL) y globulina (0,1 a 1 g/dL) en saliva de la población sana en estudio, reveló que el 95% de los valores se encuentran entre los rangos mencionados; utilizando los métodos citados anteriormente, con una distribución aproximadamente normal y una concentración de valores alrededor de la media. Estos datos pueden servir como referencia para futuras investigaciones y análisis clínicos entorno a las proteínas totales salivales en poblaciones sanas.

En resumen, esta investigación ha logrado sus objetivos al proporcionar datos cruciales sobre la concentración de proteínas salivales en adultos sanos, sentando las bases para futuras investigaciones en el campo de la salud dental y sistémica. Las conclusiones obtenidas refuerzan la relevancia de la saliva como un fluido diagnóstico valioso y subrayan la necesidad de seguir explorando su potencial.

Recomendaciones

Resulta oportuno formular las siguientes recomendaciones, en atención a lo expuesto en las conclusiones:

- Realizar estudios que analicen la relación entre las concentraciones de proteínas en muestra de suero y saliva. Esta investigación permitirá comprender mejor cómo los cambios en las proteínas salivales reflejan las alteraciones a nivel sistémico.
- Incluir pacientes con índices CPOD de nivel moderado y alto para evaluar las asociaciones entre estos índices y las concentraciones de proteínas.
- Ampliar la cantidad de muestra de la población en estudio, esto con el fin de establecer grupos etarios más homogéneos y así realizar una mejor interpretación de los valores de referencia.
- Determinar la concentración de proteínas totales en muestra de saliva en una población al azar, evaluando alguna correlación con el estado de salud actual del paciente en estudio.
- Incorporar técnicas adicionales como la electroforesis y la cromatografía en futuros estudios. Estas metodologías pueden ofrecer una visión más detallada y precisa de las fracciones proteicas en la saliva, complementando los hallazgos actuales y profundizando en la comprensión de su papel en la salud bucal.

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

1. López P. Fisiología Salival. En: Almerich J (eds.) *Simposio sobre: Saliva y Salud Dental*. Valencia: Editorial Promolibro; 1998.13-14.
2. Loyo K, Balda R, González O, Solórzano A, González M. Actividad criogénica y su relación con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva. *Acta Odontol Venez* 1999; 37(3): 10–17.
3. Lagerlöf F, Oliveby A. Caries protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 1994;8(2): 229-238.
4. Instituto la boca seca 2019 [Internet]. Barcelona: Romero G; 2019 [actualizado 2024; citado 05 de mayo 2024]. Disponible en: <https://www.institutodelabocaseca.com/articulos/la-saliva-y-el-flujo-salival/>.
5. Podzimek S, Vondrackova L, Duskova J, Janatova T, Broukal Z. Salivary Markers for periodontal and general diseases. *Dis Markers* 2016; 70(1):1-8. doi: 10.1155/2016/9179632.
6. Juárez. R, Domínguez. S, Romero. M. Fisiología y significación clínica de los complejos proteicos salivales. *Rev Estomatol Herediana* 2016;26(3):179-183. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=421548381010> (último acceso 10 mayo 2024).
7. Barrero M, Masgrau R. El proteinograma en medicina clínica. *Med Integral* 2001;9(38). <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-proteinograma-medicina-clinica-13022954> (último acceso 11 mayo 2024).
8. Edgar W. Saliva: it's secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992; 172(8):12-305. doi: 10.1038/sj.bdj.4807861. PMID: 1591115, PubMed Central.
9. Kaufman E, Lamster I. The diagnostic applications of saliva a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 197-212.

- 10.** Chávez H (eds.) *Saliva un Enfoque Integrativo*. Editorial Dirección de Fomento Editorial. Universidad Autónoma de Puebla: Puebla; 2008.
- 11.** Smith J, Jones A, Johnson C. Salivary immunoglobulin levels in relation to oral health and disease. *J Oral Immunol* 2015; 7(2): 120-130.
- 12.** Jones A, Johnson C. The role of salivary proteins in oral health: A comprehensive review. *Oral Health J* 2018; 14(3): 45-55.
- 13.** Marcantoni M. Ecología de la cavidad bucal. En: Negroni M (eds.) *Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica*. 2^aed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. 225-246.
- 14.** Gornall A, Bardawill C, David M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 1949;177(2): 751-766.
- 15.** Doumas B, Watson W, Biggs H. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clin Chim Acta* 1971; 31(1): 87-96.
- 16.** Humphrey S, Williamson R. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001; 85(2): 162-169.
- 17.** García B, Olayo T, Sotoll D, Aleida M, Lavandero E, Saldaña A. Principales proteínas salivales: estructura, función y mecanismos de acción. *Rev Habanera Cienc Méd* 2012; 11(4):450-456. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v11n4/rhcm04412.pdf> (último acceso 22 mayo 2024).
- 18.** Layne E. Spectrophotometric and Turbidimetric Methods for Measuring Proteins. *Methods Enzymol* 1957;3: 447-454.
- 19.** Johnson C, Smith AL, Walker P. Advances in Protein Quantification Methods: A Review. *Bioanal Chem* 2021; 413(15): 3755–3764.
- 20.** Zin T, Soe O, Thet Y, Tun S, Hein Y, Thiha K. Niveles de proteína total en saliva entre controles sanos, pacientes con gingivitis crónica y pacientes con periodontitis crónica. *J Oral Res Rev* 2021;1(3):18-24.

- 21.** Mrag M, Kissab A, Omezzine A, Belkacem R, Ben Fredj F, Douki N, Laouani C, Bouslema A, Ben Amor F. Saliva diagnostic utility in patients with type 2 diabetes: Future standard method. *J Med Biochem* 2020;39(2):140-148. doi:10.2478/jomb-2019-0019. PMID: 33033445, PubMed Central.
- 22.** Wakde Y, Singh A, Singh V. Comparative evaluation of salivary flow rate, pH, buffering capacity, total protein and albumin levels in chronic periodontitis patients: A clinico-biochemical study. *Int J Health Sci Res* 2018; 8(5): 62-66.
- 23.** Hurtado J (ed.). *El Proyecto de investigación. Comprensión holística de la metodología y la investigación.* 7^aed. Caracas: Ediciones Quirón; 2012.
- 24.** Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncol* 2012 Jul;48(7):569-77. doi: 10.1016/j.oraloncology.2012.01.021. PMID: 22349278, PubMed Central.
- 25.** Barriga G, Hernández E. Utilidad de las muestras de saliva en el diagnóstico por el laboratorio. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2016; 63(1): 13-18.
- 26.** Yoshizawa J, Schafer C, Schafer J, Farrell J, Paster B, Wong D. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin Microbiol Rev* 2013;26(4): 781-791. doi:10.1128/CMR.00021-13.
- 27.** Cuevas B, García J. Saliva: a fluid of study for OMICS. *Omics* 2014;18(2): 87-97. <https://doi.org/10.1089/omi.2013.0064>.
- 28.** Malathi N, Mythili S, Vasanthi, H. Salivary diagnostics: a brief review. *ISRN Dent* 2014; 1(3). doi:10.1155/2014/158786.
- 29.** Sánchez M. La Saliva como fluido diagnóstico. Trabajo de Investigación. Sevilla: Hospital Universitario Virgen Macarena; 2012-2013.
- 30.** Reyes T, Fernández O, Álvarez J. Biomarcadores salivales y su utilidad. *Rev Cubana Med Milit* 2024 ;53(2):1-15. <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/26095>.

- 31.** Hernández R, Fernández C, Baptista M (eds.) *Metodología de la investigación*. 5 ª ed. México: McGraw-Hill / Interamericana Editores, S.A. de C.V; 2010.
- 32.** Banderas J, González M, Sánchez M, Milla E, López A, Vilchis A. Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. *Salud Publica Mex* 1997; 39(5): 433-443.
- 33.** Shaila M, Pai G, Shetty P. Salivary protein concentration, flow rate, buffer capacity and pH estimation: A comparative study among young and elderly subjects, both normal and with gingivitis and periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 2013;17(1): 42- 46. doi.org/10.4103/0972-124X.107473.
- 34.** Llena C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; (1)1: 449-455. <https://scielo.isciii.es/pdf/medicorpa/v11n5/15.pdf> (último acceso 10 junio 2024).
- 35.** Zayre R. Cuantificación de proteínas y electroforesis en gel de poliacrilamida en saliva. Tesis de grado. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco; 2019. <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/handle/123456789/26035> (ultimo acceso 18 junio 2024).
- 36.** Helmerhorst E, Oppenheim F. Saliva: a Dynamic Proteome. *J Dent Res* 2007; 86 (8): 680-693 DOI: 10.1177/154405910708600802.
- 37.** Zhang A, Sun H, Wang P, Wang X. Salivary proteomics in biomedical research. *Clin Chim Acta* 2013; 414 (1): 261-265 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2012.11.001> (último acceso 20 junio 2024).
- 38.** Cuantificación de Proteína [Internet]. Scribd. [citado el 20 de junio de 2024]. Disponible:<https://es.scribd.com/document/428162967/cuantificacion-de-proteina-docx>.

- 39.** Muñoz L, Narváez C. pH Salival, Capacidad Buffer, Proteínas Totales Y Flujo Salival en Pacientes Hipertensos Controlados Usuarios de Diuréticos. *J Odontostomatol* 2012; 6(1): 11-17. doi.org/10.4067/S0718-381X2012000100002.
- 40.** Santos J (ed.). *Proteínas estructuras fascinantes*. Buenos Aires: Ministerio de Educación de la Nación. Instituto Nacional de Educación Tecnológica; 2009.
- 41.** Kennelly P, Rodwell V. Estructuras y funciones de proteínas y enzimas. En: Murray. R, Bender. D, Botham. K, Kennelly. P, Rodwell. V, Weil. P (eds.) *Bioquímica ilustrada*. 28^a ed. México D.F: Mcgraw-hill interamericana editores, S.A; 2009.
- 42.** Pando R, Mendoza H. La importancia de la proteómica en la salud pública. *Salud Pública Mex* 2009; 51(3): 396-384
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000900004 (último acceso 20 junio 2024).
- 43.** Mascarell P, Peel C. Biomarcadores en la práctica clínica. Validación y verificación. *Dianas* 2014; 3(1).
<https://dianas.web.uah.es/article/3/1/dianas201431e23140914gimenezmascarrellypeel.pdf> (último acceso 22 junio 2024).
- 44.** Courchoud T, Pérez J. Biomarcadores y práctica clínica. *An Sist Sanit Navar* 2016; 39(1): 5-8. doi.org/10.4321/S1137-6627/2016000100001.
- 45.** Nelson D, Cox M (eds.) *Lehninger Principios de Bioquímica*. 3^a ed. Buenos Aires: RR Donelley; 2002.
- 46.** Sing'oei V, Ochola J, Owuoth J, Otieno J, Rono E, Andagalu B, Lucas O, Nwoga C, Copeland N, Lawlor J, Yates A, Imbach M, Crowell T, Eller L, Kamau E, Modjarrad K, Cowden J, Ake J, Robb M, Polyak C. Valores de referencia de laboratorio clínico en adultos en el condado de Kisumu, Kenia occidental;

hematología, química y CD4. *Plos one* 2021;16(3): e0249259. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249259> (último acceso 25 junio 2024)

47. González A (ed.) *Principios de Bioquímica clínica y patología molecular*. 3^aed.España: Editorial Elsevier; 2019.

48. Microbe Notes. [Internet]. Nepal: Aryal S; 20 de julio de 2018 [Actualizado 01 de mayo 2024; Consultado 25 de junio de 2024]. Disponible en: <https://microbenotes.com/spectrophotometer-principle-instrumentation-applications/>.

49. Pinchuk D, García I, Merelender R (eds.) *Salud bucodental. Un paseo por la boca*. Argentina: Novedades Educativas; 2005.

50. Barbato, A (ed.) *Enfermedad cero: El nacimiento del modelo colaborativo de la salud (commons). El nacimiento de las redes digitales*. Italia: Tektme; 2017.

51. Frías A (ed.) *Salud pública y educación para la salud*. Barcelona: Masson; 2000.

52. Cuenca E. Principios de la prevención y promoción de la salud en odontología. En: Cuenca E, Baca P (eds.) *Odontología preventiva y comunitaria Principios, métodos y aplicaciones*. 3^a ed. Barcelona: Masson; 2005. 1-17.

53. Basch Y, Peretz B. Salivary pH levels and caries among siblings and parents within families. *J Clin Pediatr Dent* 2013;38(2):129-132. doi: 10.17796/jcpd.38.2.90764500t2703188. PMID: 24683775; PubMed Central.

54. Hurtado J (ed.) *Metodología de la Investigación*. 4^a ed. Caracas: Quirón Ediciones;2010.

55. Arias F (ed.) *El proyecto de investigación introducción a la metodología científica*. 6^a ed Caracas: Episteme, C. A;2012.

- 56.** Arias, F (ed.) *El Proyecto de Investigación*. 7^a ed. Venezuela: Editorial Episteme; 2016.
- 57.** Palella S, Martins F(ed.) *Metodología de la investigación cuantitativa*.2^a ed. Caracas: FEDUPEL; 2006.
- 58.** Quito R. Índice CPOD en adultos de 18 a 65 años que acuden a la clínica de la carrera de odontología de la Universidad Católica de Cuenca, durante el período 2017. [Trabajo de grado para optar al título de odontólogo]. Ecuador: Universidad Católica de Cuenca; 2019.
- 59.** Medina J. Prevalencia de caries dental y necesidad de tratamiento en pacientes adultos con demanda de atención diagnóstica. [Trabajo de grado para optar al título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
- 60.** Petersen P, Baez R (eds.) *Oral health surveys: basic methods*. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2013.
- 61.** Montes N. Asociación entre obesidad con caries dental, pH y flujo salival en adolescentes. [Trabajo de grado para optar por la maestría en Salud Pública]. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2014.
- 62.** Cava C, Robello J, Olivares C, Salazar G, Reyes J, Orrego G. Relación entre índice IHOS e índice CPOD en pacientes atendidos en la clínica especializada de la Universidad San Martín de Porres. *Kiru* 2015; 12(2):33 - 36.
- 63.** Marengo A, Ulloque J. Indicadores epidemiológicos de la situación de salud bucal. Guía de contenidos. Unidad 3. Odontología Preventiva y Comunitaria II. 2014.
- 64.** Mohamed R, Campbell JL, Cooper-White J, Dimeski G, Punyadeera C. The impact of saliva collection and processing methods on CRP, IgE, and Myoglobin immunoassays. *Clin Transl Med*. 2012 Sep 5;1(1):19. doi: 10.1186/2001-1326-1-19. PMID: 23369566; PMCID: PMC3560976.

- 65.** Gutiérrez M, Ortiz L, Medina K, Chein S. Eficacia de una medida preventiva para el niño con riesgo cariogénico asociada a la estabilidad de pH salival. *Odontol Sanmarquina* 2007;10(1):25-27.
- 66.** Rayment, S, Liu B, Offner G, Oppenheim F. Immunoanalysis of human salivary cystatins: a family of cysteine proteinase inhibitors. *Biol Chem* 2000; 381(3): 231-240.
- 67.** Velásquez N. Evaluación físico química de saliva total estimulada y líquido crevicular gingival y su relación con caries dental. Tesis Especial de Grado. Universidad de Carabobo; 2016.
- 68.** Yercon Diagnosis Co. Ltd. Reagent strips (For both profesional & Self-testing use). Changchun China; 2019.
- 69.** Wiener Laboratorios S.A.I.C. Proteínas Totales. Método colorimétrico para la determinación de proteínas totales en suero. Rosario – Argentina; 2000.
- 70.** Wiener Laboratorios S.A.I.C. Albúmina. Método colorimétrico para la determinación de albumina en suero. Rosario – Argentina; 2000.
- 71.** Olávez D, Velazco N, Solórzano E. Hábitos alimenticios, hábitos odontológicos y caries dental en estudiantes de odontología y arquitectura de la Universidad de Los Andes. *Rev Odontol Andes* 2009;4(2):39-50.
- 72.** Ramírez B, González E, Morales J. Experiencia de caries dental en población de 25, 35, 45, 55 y 65 años edad, Medellín (Colombia) 2011. *Rev CES Odontol* 2013; 26(2): 36 - 48.
- 73.** Corredor A, Cols Y, Villasana K. Alpha amilasa salival: biomarker in dental caries. Mérida, 2019. *Rev Gicos* 2020;5(1):47-55.
- 74.** Zárate A, Leyva E, Martínez F. Determinación de pH y proteínas totales en saliva en pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija (estudio piloto). *Rev Odontol Mex* 2004; 8(3); 59-63.

- 75.** Velez R. Determinación de pH salival en pacientes con enfermedad gingivo-periodontal de la clínica odontológica UCSG semestre “A” 2015. [Trabajo de grado para optar por el título de odontólogo]. Ecuador: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; 2015.
- 76.** Henskens Y, van der Velden U, Veerman E, Nieuw A. Concentraciones de proteínas, albúmina y cistatina en saliva de sujetos sanos y de pacientes con gingivitis o periodontitis. *J Periodontal Res* 1993; 28(1):43-48. doi: 10.1111/j.1600-0765.1993.tb01049.x. PMID: 8426281, PubMed Central.
- 77.** Henskens Y, van den Keijbus P, Veerman E, Van der Weijden G, Timmerman M, Snoek C, Van der Velden U, Nieuw A. Composición proteica de la saliva entera y parótida en sujetos sanos y con periodontitis: Determinación de cistatinas, albúmina, amilasa e IgA. *J Periodontal Res* 1996; 31(1):57-65. doi: 10.1111/j.1600-0765.1996.tb00464.x. PMID: 8636877, PubMed Central.
- 78.** Gutiérrez P, Olivares R, Leyva E. Factor de crecimiento epidermal y proteínas totales en saliva de fumadores y no fumadores. *Av Odontoestomatol* 2008; 24 (6):377- 383.
- 79.** Hernández A. Características de la saliva y condición bucal del adulto mayor. [Trabajo de grado para optar por el título de odontólogo]. Bucaramanga: Universidad Santo Tomás; 2014.
- 80.** Cheaib Z, Lussi A. Role of amylase, mucin, IgA and albumin on salivary protein buffering capacity: a pilot study. *J Biosci* 2013;38(2):259-65. doi: 10.1007/s12038-013-9311-1. PMID: 23660660, PubMed Central.
- 81.** Razooki H, Abdulsattar A. Influence of diabetes disease on concentration of total protein, albumin and globulins in saliva and serum: A comparative study. *Nat J Chem iraquí* 2015;15(1):1-11.

82. Ladgotra A, Verma P, Sunder Raj S. Estimation of salivary and serum biomarkers in diabetic and non-diabetic patients: A comparative study. *J Clin Diagn Res* 2016;10(6): 56- 61. DOI: 10.7860/JCDR/2016/19135.7995.

www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

www.bdigital.ula.ve

ANEXO A

Tabla 1. [Análisis Metodológico de los trabajos previos]

AUTOR (ES) AÑO	TITULO DEL TRABAJO	OBJETIVO GENERAL	PROCEDIMIENTOS	RESULTADOS	LOGRO DE LA INVESTIGACIÓN
Zin T, Soe O, Thet Y, Tun S, Hein Y, Thiha K (2021)	Salivary total protein levels among healthy controls, chronic gingivitis patients and chronic periodontitis patients.	Evaluar los niveles de proteína total en saliva en pacientes con gingivitis crónica y periodontitis crónica.	Recolectaron muestras de saliva no estimulada (5 mL) de 113 individuos y se dividieron en tres grupos, según la condición de los tejidos periodontales. La estimación de la proteína salival se realizó mediante el método de absorción ultravioleta directa y la determinación se basó en el método de Biuret que se mide con un espectrofotómetro.	Los pacientes con gingivitis crónica presentaron niveles de 1,6 veces mayores y con periodontitis crónica 4,2 veces mayores que los controles sanos. Además, se observó una correlación entre los niveles de proteína y los índices de inflamación de las encías en pacientes con gingivitis y periodontitis.	El aumento de los niveles de proteína total está relacionado con la gravedad de las enfermedades periodontales y puede servir como biomarcador en la inflamación del periodonto.
Mrag M, Kassab A, Omezzine A, Belkacem R, Ben Fredj F, Douki N, Laouani C, Bouslema A, Ben Amor F. (2020)	Saliva diagnostic utility in patients with type 2 diabetes: future standard method	Evaluar la fiabilidad de la saliva en el diagnóstico y monitoreo de la diabetes tipo 2, como una alternativa menos invasiva a la sangre.	Participaron 600 pacientes voluntarios dividido en 2 grupos equitativos (controles y diabéticos tipo 2). Se realizaron análisis bioquímicos de la saliva y la sangre para medir glucosa, urea, amilasa, proteína total, albúmina, proteína C-reactiva (CRP), inmunoglobulina A (IgA), potasio, calcio y cloruro utilizando métodos enzimáticos y colorimétricos.	Los pacientes con diabetes tipo 2 tenían niveles significativamente más altos de proteínas totales en saliva (0,05 g/dL) comparado con los controles (0,02 g/dL), mientras que los niveles de albúmina no mostraron diferencias significativas. Esto sugiere que las proteínas totales en saliva podrían ser biomarcadores efectivos para el diagnóstico de diabetes tipo 2	Los niveles elevados de proteínas totales en saliva pueden servir como biomarcadores no invasivos para la diabetes tipo 2, mientras que los niveles de albúmina no mostraron diferencias significativas entre pacientes y controles, subrayando la especificidad de las proteínas totales para este diagnóstico.
Wakde Y, Singh A, Singh V. (2018)	Comparative evaluation of salivary flow rate, pH, buffering capacity, total protein and albumin levels in chronic periodontitis patients: A clinico-biochemical study.	Comparar la concentración de proteínas totales, albúmina, tasa de flujo salival, pH y capacidad de amortiguación de la saliva en pacientes sanos, con gingivitis y con periodontitis crónica utilizando métodos bioquímicos simples.	Se seleccionaron un total de 60 pacientes divididos en 3 grupos (controles, gingivitis y periodontitis crónica). Se recogió la saliva no estimulada (5mL) mediante el método de escupir. La determinación de la proteína y albúmina salival total se realizó mediante el método colorimétrico	Hubo un aumento significativo en la concentración de albúmina y proteína total en la saliva en pacientes con gingivitis y periodontitis crónica, mientras que el pH, la capacidad tampon y el caudal no mostraron ningún cambio significativo.	Los niveles elevados de proteínas totales y albúmina en la saliva están asociados con la inflamación del periodonto. Por lo tanto, estos niveles pueden servir como parámetros bioquímicos importantes para evaluar la inflamación periodontal.

Fuente: Valero (2024).

ANEXO B

Tabla 2. [Razones o por qué que justifican la investigación derivada del planteamiento del problema]

Nº Párrafo	Razones o por qué	Tipo de razón
1	En los últimos años se han dedicado notables esfuerzos a la detección y cuantificación de proteínas en saliva mediante el uso de diversos enfoques ²⁴ .	Necesidad
2	Los métodos de cuantificación de proteínas totales incluyen técnicas tradicionales tales como la medición de la absorbancia a 280 nm, los ensayos de Bradford y el ácido bicinconílico (BCA), así como métodos alternativos como el de Lowry o novedosos ensayos desarrollados por los proveedores comerciales. Normalmente, los proveedores comerciales venden estuches bien diseñados y prácticos para cada tipo de ensayo. Los métodos para cuantificar proteínas individuales incluyen el ELISA, el Western blot y, más recientemente, la espectrometría de masas, entre otros ³⁷ .	Potencialidad
3	La determinación de proteínas salivales totales y fraccionadas en la práctica clínica posee una gran utilidad, ya que estas desempeñan roles esenciales en la defensa inmunológica y el mantenimiento de la homeostasis oral. Diversos estudios han demostrado que su análisis detallado puede ofrecer valiosa información sobre el estado general de salud y la funcionalidad del sistema inmunitario oral ²⁶ . Además, su capacidad para reflejar cambios metabólicos y fisiológicos destaca su utilidad en el monitoreo de la salud y en la detección temprana de desequilibrios en el organismo ²⁷ .	Motivación, interés
4	Uno de los métodos espectrofotométricos tradicionales implementado y que se desarrolló fue el método Biuret y verde de bromocresol. Los cuales son cruciales en la práctica clínica ya que permiten una evaluación detallada y precisa de la composición proteica en saliva, proporcionando indicadores importantes de salud oral y sistémica. Así mismo, la correcta interpretación de estas proteínas es esencial para el diagnóstico temprano de enfermedades y para el monitoreo de la salud en adultos sanos ²⁸ .	Potencialidad
5	Dado que la recolección de saliva es menos invasiva ni dolorosa que la de sangre para análisis clínicos, se ha convertido en un fluido de diagnóstico atractivo. Un método de recolección que no requiere personal experimentado para su obtención e incluso el mismo paciente puede realizarlo permitiendo de esta forma que la posibilidad de exposición accidental a patógenos virales y microbianos sea prácticamente nula ^{24,25} .	Necesidad y motivación, interés
6	A diferencia de la muestra de sangre, que es propensa a la coagulación, la saliva es mucho más fácil de manejar y requiere menos manipulación previa al análisis. En contraposición, las principales desventajas de las muestras de saliva en relación con las de sangre son: la mayoría de los analitos se encuentran en cantidades menores a las encontradas en la sangre. Sin embargo, se resuelve fácilmente aumentando los volúmenes de muestras utilizadas para las pruebas y filtrando las muestras de saliva con filtros de suero pre-analíticos de los que existen numerosas marcas disponibles, siendo de relevancia mencionar que dicho fluido puede conservarse después de su obtención ^{24,25} .	Motivación e interés
7	La saliva tiene un gran potencial para la vigilancia del cuerpo tanto en salud como enfermedad ²⁴ . La baja concentración de sus componentes ya no es un problema y, por lo tanto, dicho fluido no sólo puede ser una herramienta diagnóstica, sino también una forma fácil de monitorizar la salud a través de control rutinario ²⁹ .	Potencialidad

Fuente: Valero (2024).

ANEXO C

Tabla 3. [Análisis Metodológico de los Antecedentes históricos]

AUTOR (ES) AÑO	TITULO DEL TRABAJO	OBJETIVO GENERAL	PROCEDIMIENTOS	RESULTADOS	LOGRO DE LA INVESTIGACIÓN
Banderas J, González M, Sánchez M, Milla E, López A, Vilchis A. (1997)	Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana.	Determinar los promedios de flujo salival y la concentración de proteínas totales en una población joven del Estado de México.	Se seleccionaron 120 estudiantes (60 hombres y 60 mujeres) entre 17 y 24 años de edad, se les determinó el índice CPOD (para la evaluación de caries dental) recolectaron saliva total humana (STH) no estimulada y estimulada. Las muestras se centrifugaron durante 40 minutos a 4000 rpm, y la determinación de proteínas totales se realizó mediante el método Bradford.	Las mujeres presentaron una concentración mayor de proteínas en STH no estimulada ($1,37 \pm 0,47$ g/dL) y STH estimulada ($1,526 \pm 0,44$ g/dL), en comparación con los hombres. No se observaron, en general, correlaciones significativamente estadísticas entre la concentración de proteínas y los índices CPÓD.	Se observó gran cantidad de variaciones individuales que existe en el flujo salival y la concentración de proteínas en saliva. Ambos disminuyen periódicamente, por ende, se podría sugerir en base a los resultados que existen edades en las cuales el riesgo de caries dental y enfermedad periodontal se incrementa.
Shaila M, Pai G, Shetty P. (2013)	Salivary protein concentration, flow rate, buffer capacity and pH estimation: A comparative study among young and elderly subjects, both normal and with gingivitis and periodontitis.	Evaluar la concentración de proteínas en la saliva, la tasa de flujo salival, la capacidad tampón y el pH en sujetos jóvenes y ancianos, tanto normales como con gingivitis y periodontitis.	Participaron 120 pacientes divididos en dos grupos de edad como jóvenes (20 y 35 años) y ancianos (mayores de 65 años). Cada grupo se subdividió (20 sujetos) en controles, gingivitis y periodontitis. Se recogió saliva entera no estimulada de los pacientes y se anotó el caudal durante la recogida de la muestra. La estimación de la proteína salival se realizó mediante el método de Biuret y la albúmina salival se evaluó mediante el método del verde de bromocresol. El pH se estimó con un pHmetro y la capacidad tampón se analizó con el método de titulación.	El estudio resalta la importancia de las concentraciones de proteínas totales y albúmina en saliva como marcadores de enfermedades periodontales. Se encontró un aumento significativo en las proteínas totales (0,86 g/dL en controles, 1,19 g/dL en gingivitis, y 1,59 g/dL en periodontitis) y en albúmina (0,09 g/dL en controles, 0,24 g/dL en gingivitis, y 0,44 g/dL en periodontitis), reflejando la respuesta inflamatoria y la permeabilidad tisular aumentada.	Un aumento significativo en la concentración de proteína total y albúmina en la saliva utilizando los métodos de Biuret y verde de bromocresol sugiere el papel de estos métodos simples en la evaluación de estos parámetros como marcadores de gingivitis y periodontitis, donde se produce fuga de proteínas plasmáticas como consecuencia del proceso inflamatorio. Sin embargo, sería necesario un estudio longitudinal para sacar conclusiones definitivas y demostrar el papel de la saliva como indicador pronóstico.

Fuente: Valero (2024).

CONCENTRACIÓN DE PROTEINAS TOTALES Y FRACCIONADAS EN SALIVA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO BIURET EN ADULTOS SANOS

**ANEXO D
CONSENTIMIENTO INFORMADO**

En la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA) se está realizando el proyecto de investigación titulado **“CONCENTRACIÓN DE PROTEINAS TOTALES Y FRACCIONADAS EN SALIVA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE BIURET EN ADULTOS SANOS”**

Yo _____ C.I. _____

Nacionalidad: _____ Estado Civil: _____

Domicilio en _____

Siendo mayor de 18 años y en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgo relacionados con el estudio que más abajo se indicó, declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, por parte del grupo de investigación de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA), coordinados por la **Profesora Katiusca Villasana**, de todos los aspectos relacionados al proyecto de investigación titulado: **“CONCENTRACIÓN DE PROTEINAS TOTALES Y FRACCIONADAS EN SALIVA POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DE BIURET EN ADULTOS SANOS”**.

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo fundamental del trabajo antes señalado es:

Analizar la relación de correspondencia entre los niveles de proteínas totales y fraccionadas en saliva y el método colorimétrico de Biuret, en adultos sanos, que asistirán a Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica, Mérida- Venezuela, durante el periodo entre junio 2022 hasta junio 2024.

3.- Haber sido informado de que la participación en el proyecto consiste en donar de manera voluntaria una muestra de saliva.

4.- Que el equipo de investigación me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a la identidad de mi persona como de cualquier información relativa a la que tengan acceso por concepto de la participación en el proyecto de investigación antes mencionado.

5.- Que estoy de acuerdo en el uso, para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.

6.- Que cualquier pregunta que yo tenga en relación a este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores antes mencionado con quienes me puedo comunicar por el teléfono: 0424- 7438957 con la Prof. Katiusca Villasana o con la estudiante de la carrera de Bioanálisis: Ariana Valero (0424-7639815).

7.- Que bajo ningún concepto me han ofrecido ni pretendido recibir beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

8.- Que los resultados de las pruebas me serán entregados oportunamente.

DECLARACION DE LA PERSONA VOLUNTARIA

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto mi participación en este estudio en totalmente voluntaria acuerdo:

A.- aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes a realizar el referido estudio en la muestra de saliva que acepto donar a los fines indicativos anteriormente.

B.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización, así como mi participación en el proyecto, en cualquier momento, sin que ello conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Nombre de la voluntaria(o)_____ Firma de la voluntaria_____
C.I._____

Nombre del Testigo_____ Firma del Testigo_____
C.I._____

Lugar_____ Fecha_____



ANEXO E

FICHA CLÍNICA BUCAL

Nº: _____ Sexo: _____ Edad: _____ Ocupación: _____
Procedencia: _____ Estado Civil: _____ Teléfono: _____
Dirección: _____ Fecha: _____

1. Aspecto General de la Boca:

Labios: _____ Carrillos: _____

Lengua: _____

Periodonto: _____ Sondaje periodontal: _____

Bóveda Palatina: _____

Región Sublingual – Piso de la Boca: _____

Faringe – Orofaringe: _____

2. Higiene Oral: Buena _____ Regular _____ Mala _____

3. Halitosis: Si _____ No _____

4. Hábitos Orales: _____

6. Caries Dental: (Odonto-diagrama)

Superficiales: _____

Profundas: _____

Recidivantes: _____

CÓDIGO	ÍNDICE CPO-D
	CARIADOS
	PERDIDOS
	OBTURADOS
	NUMERO DE DIENTES

7. Obturaciones Presentes (Odonto-diagrama): _____

Amalgamas: _____

Resinas: _____

Incrustaciones: _____

Provisionales: _____

Observación: _____

Firma: _____ Criterio de valoración: _____

Odontólogo Asesor: **María Fernanda Sánchez**

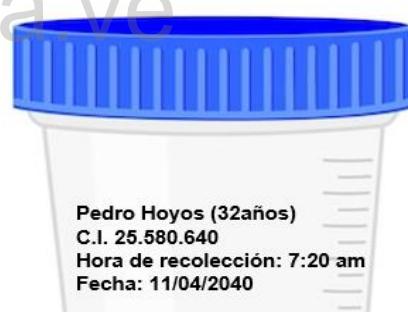
Fuente: Proporcionado por la Cátedra de Patología Clínica y Terapéutica Estomatológica (2024).

ANEXO F

Indicaciones para la recolección de muestra salival no estimulada (EN AYUNAS)

Observación: notificar al laboratorio el día anterior la fecha que ira al laboratorio a recolectar la muestra...

1. Cepillar la noche anterior los dientes como de costumbre
2. **El paciente debe estar en ayunas**, no debe masticar chicle, fumar o utilizar algún tipo de spray bucal antes de la toma de muestra, no tener labial, o productos cosméticos en la cara, tampoco toque los labios con sus manos antes de la toma de muestra.
3. Realizar un cepillado matutino como de costumbre, **PERO SIN CREMA DENTAL** y enjuagarse la boca solo con abundante agua.
4. Dirigirse al laboratorio entre las 7:30 am – 9:30 am
5. Responder el cuestionario de antecedentes médicos, e identificar el recolector proporcionado de la siguiente manera
6. Llevar a cabo la toma de muestra y depositar la saliva dentro del recolector repitiendo este paso de 3 – 5 veces.
7. Tapar de forma apropiada y segura, posteriormente hacer entrega de la muestra junto con el formato de historia clínica.



Fuente: Valero (2024).

ANEXO G

ESQUEMA DE ANAMNESIS A PRACTICAR

FORMATO DE HISTORIA MEDICA

PARTE I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN

Número de identificación..... Px N° _____

A2. Fecha: ____ día ____ Mes ____ año

Hora: _____

A1. Identificación

Nombres: _____ Apellidos: _____ Cédula: _____ Sexo: ___M ___F
Dirección: _____ Ocupación/Profesión: _____ Teléfono _____
Fecha de Nacimiento _____ Edad _____ email: _____

PARTE II. ANTECEDENTES PERSONALES

(Marcar SI o NO y especificar según sea el caso)

A1. Patologías Heredadas

- | | |
|--|---|
| 1. Enfermedades infecciosas de la infancia _____ | 7. Cardiopatía _____ |
| 2. Traumatismos (acc) _____ | 8. Enf. Alérgicas _____ |
| 3. Diabetes _____ | 9. Cáncer _____ |
| 4. Asma _____ | 10. Hepatopatía _____ |
| 5. Enfermedades endocrinas _____ | 11. Otros _____ |
| 6. Hipertensión _____ | 12. Intervenciones quirúrgicas _____ ¿Cuál? _____ |
- Medicamentos: _____
Especifique: _____

A2. Personales patológicos

(Marcar SI o NO y especificar según sea el caso)

- | | |
|--------------------------------------|--|
| 1. Enfermedades actuales _____ | 4. Hospitalizaciones previas _____
¿Cuál? _____ |
| 2. Quirúrgicos _____
¿Cuál? _____ | 5. Otros _____ |
| 3. Alergias _____ Si _____ No _____ | Medicamentos: _____
Especifique: _____ |

A3. Personales no Patológicos

(Marcar SI o NO y especificar según sea el caso)

- | |
|-----------------------------------|
| 1. Alcohol: _____ |
| 2. Tabaquismo: _____ |
| 3. Drogas: _____ |
| 4. Antecedentes familiares: _____ |
| 5. Otros: _____ |
- Medicamentos: _____
Especifique: _____

Parte III. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

C1. Cumple con los criterios de inclusión: (1) Sí _____ (2) No _____

Firma

1. Paciente no inmunosuprimidos (1) Sí _____ (2) No _____

Paciente _____

2. Paciente sin enfermedades degenerativas. (1) Sí _____ (2) No _____

3. Paciente con consentimiento informado. (1) Sí _____ (2) No _____

Responsable(s) _____



ANEXO H

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANALISIS
ESCUELA DE BIOANALISIS

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 4.

Índice CPOD

Nº Px	Edad	Sexo	Nº Dientes	CPOD			
				Cariados	Perdidos	Obturados	Individual
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							

Fuente: Valero (2024).



ANEXO I

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANALISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 5. Examen físico-químico

Nº Px	Edad	Sexo	pH	Densidad
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				

Fuente: Valero (2024).



UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES

ANEXO J



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANALISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla 6.

Proteínas salivales

Nº Px	Edad	Sexo	Proteína Total (g/dL)	Albúmina(g/dL)	Globulina(g/dL)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Fuente: Valero (2024).

ANEXO K

Formato de resultados



@vitalislaboratorioclinico

Horario de Atención al Público: Lunes a Viernes: 7:30 a.m – 1:00 pm

Nombres y Apellidos:

Edad:

Sexo:

Cédula:

Código:

Hora:

Dirección:

F.N:

Teléfono Fijo:

Teléfono Móvil:



e-mail:

Tipo de muestra: Saliva

Observaciones:

Fecha de Recepción:

Fecha de Emisión:

ANÁLISIS FISICO -QUIMICO

pH:

Densidad:

www.bdigital.ula.ve
QUÍMICA SALIVAL

PRUEBA

RESULTADO

VALORES DE REFERENCIA

Proteína total:

(Método Biuret)

0,1 – 1,31 g/dL

Albúmina:

(Método verde de bromocresol)

0 – 0,6 g/dL

Globulina:

(Método diferencial)

0,1 – 1,0 g/dL

Leda Katiusca Villasana

Rif: V - 16.613.871 - 6

Bioanalista/ Espc. Farmacología/ Espc. Biología Celular/ Bioquímica. ULA

Clinica Oftalmológica Santa Lucía. Av. Urdaneta, con calle 41. Telf: 04247438957

Fuente: Proporcionado por Vitalis y adaptado (2024).

ANEXO L

Consulta odontológica



www.bdigital.ula.ve



Fuente: Od. Sánchez (2024). M&M Dental, C.A. Mérida-Venezuela.

ANEXO M

Determinación de proteínas totales y albúmina



Fuente: Valero (2024). Vitalis Laboratorio de Investigación Clínica.
Mérida-Venezuela.