



## ARTÍCULO ORIGINAL

# Variaciones en la concentración de glucosa plasmática y salival en sujetos sanos

## Variations in plasma and salivary glucose concentration in healthy subjects

Flores Maldonado Catalina E,\* Ramírez Antonio David,‡  
Valdez Caballero Patricia,‡ Gallardo Juan Manuel‡

**Palabras clave:** Saliva, plasma, proteínas, glucosa, glucosilación.

**Keywords:** Saliva, plasma, proteins, glucose, glycosylation.

\* Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

‡ Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional «Siglo XXI», Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.

### Correspondencia:

**Juan Manuel Gallardo**

Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional «Siglo XXI»,

### RESUMEN

**Introducción:** La saliva es un fluido compuesto de varios elementos, entre ellos la glucosa, y es posible que pueda ser utilizada para detectar cambios en ese y otros analitos, su uso como medio de diagnóstico tiene una tendencia en aumento. **Objetivo:** El propósito de este estudio fue comparar las concentraciones de proteínas, glucosa y los productos finales de la glucosilación (AGEs) en saliva y plasma entre mujeres y hombres jóvenes aparentemente sanos. **Material y métodos:** La muestras de saliva no estimulada y plasma se obtuvieron de 91 sujetos (46 mujeres y 45 hombres) en aparente buen estado de salud y tras un ayuno de ocho horas. Las concentraciones de proteínas, glucosa y AGEs en saliva y plasma se midieron mediante procedimientos estandarizados. **Resultados:** Encontramos que la velocidad del flujo salival no estimulado fue diferente entre ambos sexos ( $p = 0.078$ ). No existen diferencias entre las proteínas ( $p = 0.3173$ ), la glucosa ( $p = 0.6636$ ) ni los AGEs ( $p = 0.1082$ ). En cuanto a los valores plasmáticos no hay diferencias entre los sexos: proteínas ( $p = 0.4718$ ), glucosa ( $p = 0.3404$ ) ni de HbA1c ( $p = 0.6871$ ); sin embargo, sí hay diferencia en los AGEs ( $p = 0.0162$ ) que fue más elevado en mujeres. En cuanto a las diferencias entre saliva y plasma hallamos que las proteínas son 100 veces menores, la concentración de glucosa fue 5.6 veces menor, tanto en mujeres como en hombres, y la concentración de AGEs fue 5.6 veces menor en la saliva de mujeres y de 6.7 veces menor en la saliva de hombres. **Conclusiones:** Los resultados sugieren que las concentraciones de los analitos relacionados en el metabolismo de la glucosa en la saliva puede ser un buen método para evaluar de manera no invasiva tanto el diagnóstico como la progresión de los padecimientos metabólicos de los carbohidratos.

### ABSTRACT

**Introduction:** Saliva is a fluid composed of several elements including glucose and it is possible that it can be used to detect changes in this and other analytes, its use as a means of diagnosis has an increasing trend. **Objective:** The purpose of this study was to compare the concentrations of proteins, glucose, and glycosylation end products (AGEs) in saliva and plasma in apparently healthy young men and women. **Material and methods:** Unstimulated saliva and plasma samples were obtained from 91 subjects (46 women and 45 men) in apparent good health and after an 8-hour fast. The concentrations of proteins, glucose, and AGEs in saliva and plasma were measured by standardized procedures. **Results:** We found that the unstimulated salivary flow velocity was different between both sexes ( $p = 0.078$ ). There are no differences between proteins ( $p = 0.3173$ ), glucose ( $p = 0.6636$ ) or AGEs ( $p = 0.1082$ ). Regarding plasma values, there are no differences between the sexes of the following: proteins ( $p = 0.4718$ ), glucose ( $p = 0.3404$ ) or HbA1c ( $p = 0.6871$ ), however there is a difference in AGEs ( $p = 0.0162$ ) which was higher in women. Regarding the differences between saliva and plasma, we found that the proteins are 100 times lower, the glucose concentration was 5.6 times lower, both in women and in men, and the AGEs concentration was 5.6 times lower in the saliva for women and 6.7 times less in saliva for men. **Conclusions:** The results suggested that the concentrations of related analytes in glucose metabolism in saliva might be a good method to non-invasively assess both the diagnosis and the progression of carbohydrate metabolic disorders.



**Cítar como:** Flores MCE, Ramírez AD, Valdez CP, Gallardo JM. Variaciones en la concentración de glucosa plasmática y salival en sujetos sanos. Rev Mex Patol Clin Med Lab. 2021; 68 (1): 11-17. <https://dx.doi.org/10.35366/101566>

Instituto Mexicano del Seguro Social. Ciudad de México, México.  
Investigador asociado  
55 5627-6900 ext. 21371  
E-mail: jmgallardom@gmail.com  
ORCID: 0000-0001-8833-4651

Recibido: 19/08/2021  
Aceptado: 06/09/2021

## INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica degenerativa que se caracteriza por el incremento de glucosa en sangre debido a la baja producción o alteración en la insulina secretadas por las células beta en el páncreas. La DM2 es padecida por alrededor de nueve millones de personas y fue la segunda causa de muerte a nivel nacional en 2018 con base en los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 publicada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).<sup>1</sup>

La DM2 es la forma más frecuente de diabetes. La población mexicana tiene una prevalencia de alrededor de 12.1%, lo que significa un importante problema de salud pública.<sup>1</sup>

La DM2 está representada por un aumento crónico del nivel de la glucosa sanguínea debido a la destrucción autoinmune de las células beta ( $\beta$ ) pancreáticas o a la resistencia a la insulina.<sup>2</sup> La acción deficiente de la insulina sobre los tejidos diana, principalmente fibras musculares estriadas, tejido adiposo e hígado, constituye la base de las alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas.<sup>3</sup>

La DM2 puede provocar complicaciones vasculares, afectando principalmente a corazón, riñones, ojos, nervios<sup>4</sup> y cavidad oral.<sup>5</sup> También se ha asociado con el deterioro de la función de las glándulas salivales que desencadenan en consecuencia la alteración de la homeostasis de la salud bucal y generan enfermedades orales.<sup>6</sup> Los diabéticos son propensos a la caries, la gingivitis y la xerostomía.<sup>7</sup>

La saliva es una de las secreciones exocrinas más importantes y juega un papel importante en las funciones bucales y digestivas. No sólo contribuye al habla, masticación y deglución, sino también podría ser una herramienta útil de muestreo sistémico para el diagnóstico y la investigación médica. Puede recolectarse fácilmente mediante métodos no invasivos, lo que la hace un buen medio de diagnóstico.<sup>8,9</sup>

Los productos finales de la glucosilación (AGEs, *advanced glycation end products*) son los productos finales del procesamiento químico de las proteínas llamado reacción de Maillard. Aquí el grupo carbonilo de los carbohidratos

reacciona de forma no enzimática con los grupos amino primarios de las proteínas.<sup>10,11</sup> Esta reacción de glucosilación implica que una molécula de glucosa (o cualquier otro carbohidrato) se una temprana y químicamente reversible con las proteínas, lo que conduce a las denominadas bases de Schiff y aductos de Amadori, un claro ejemplo de ello es la hemoglobina glucosilada (HbA1C).<sup>12</sup> En la década de los 80, los investigadores comenzaron a reconocer la importancia de los complejos procesos de Maillard en etapa tardía como mediadores de las complicaciones de la diabetes y el envejecimiento.<sup>13</sup> Posteriormente, las proteínas que llevan el producto Amadori se han denominado proteínas glucosiladas (que en términos generales son indistinguibles de las proteínas glucosiladas enzimáticamente), aunque al proceso de formación del producto Amadori se le denomina glicación. Los pigmentos complejos de etapa posterior y los enlaces cruzados formados a partir de la proteína glicada durante la reacción de Maillard *in vivo* se conocen como AGEs.<sup>14</sup>

El propósito de este estudio fue indagar las concentraciones de glucosa y los AGEs, así como la evaluación de otros parámetros físico-químicos relacionados con la saliva en mujeres y hombres jóvenes aparentemente sanos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal, comparativo, analítico, en una población de sujetos jóvenes (rango de 18 a 27 años) aparentemente sanos.

Los participantes estaban exentos de cualquier tipo de enfermedad infecciosa o metabólica aguda o crónica, sin neoplasias, ni alergias. No se incluyeron a mujeres embarazadas o en etapa de lactancia, ni a fumadores o que consumieran drogas de abuso ni suplementos alimenticios.

Sólo participaron los pacientes que firmaron la carta de consentimiento informado, realizada de acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud y con la normativa del IMSS en la materia, y en concordancia con la Declaración de Helsinki y sus enmiendas. Este proyecto fue aprobado por la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS (R-2015-3601-73).

### Recolección de la muestra de saliva

Las muestras de saliva se recolectaron por la mañana de 8:00 a 10:00. Se pidió a los participantes que no se cepillaran los dientes antes del muestreo. Se les solicitó un ayuno de al menos ocho horas continuas y que no bebieran ningún tipo de líquido al menos 90 minutos antes de la recolección. Los sujetos fueron sentados en sillas normales y se les pidió que inclinaran su cabeza ligeramente hacia el frente y abajo; posteriormente, se les pidió que arrojaran lentamente saliva no estimulada en un tubo de 15 mL y en un embudo de material plástico durante exactamente cinco minutos.<sup>15,16</sup> Las muestras fueron trasladadas al laboratorio a temperatura de entre 2-8 °C, donde fueron centrifugadas a 12,000 g por 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante obtenido se almacenó en un congelador a -80 °C.

### Obtención de la muestra sanguínea

Al finalizar el periodo de recolección de la muestra de saliva, se les tomó una muestra de sangre de una vena del antebrazo en condiciones de asepsia y antisepsia. Para ello se utilizó un tubo de 4 mL con anticoagulante K2EDTA. La muestra sanguínea fue centrifugada a 3,000 rpm por 10 minutos a 4 °C. El plasma se recuperó y almacenó en un congelador a -80 °C.

### Procedimientos bioquímicos

**Medición de la concentración de glucosa en saliva y plasma.** La concentración salival de D-glucosa se determinó mediante el método de glucosa oxidasas (método GOD-POD, Spinreact, Barcelona, España) modificado

para su lectura en una placa de 96 pozos (Costar). En resumen: se mezclaron 50 µL de saliva centrifugada con 150 µL de los reactivos del juego diagnóstico y se registró la absorbancia. El ensayo se realizó simultáneamente con estándares de glucosa (concentración final comprendida entre 25 y 250 mg/dL). Los resultados se calcularon como mg de glucosa/mL. El coeficiente de variación, respectivamente, fue de  $3.3 \pm 0.4\%$  ( $n = 25$ ) y  $5.4 \pm 0.6\%$  ( $n = 25$ ) para los estándares de D-glucosa y las muestras de saliva o plasma. La curva estándar de glucosa entre 25 y 250 mg/dL es lineal con un coeficiente de correlación de 0.997.

**Medición de la proteína total.** La medición de las proteínas tanto en la saliva como en el plasma se basó en el método de Bradford,<sup>17</sup> utilizando el azul de Coomassie G-250 (Amresco, Solon, OH., USA) como colorante. Para la curva de calibración se utilizó albúmina bovina fracción V (BSA) como estándar. La curva estándar de glucosa entre 5 y 100 mg/dL es lineal con un coeficiente de correlación de 0.998.

**Medición de los productos glucosilados.** Los AGEs se evaluaron utilizando un ensayo espectrofluorimétrico como lo describe Kalousova y su equipo.<sup>18</sup> Tanto la saliva como el plasma de los participantes se diluyeron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) con un factor de 50. Se registró la intensidad de la fluorescencia a una excitación de 350 nm y una emisión de 440 nm y se expresó como porcentaje de emisión fluorescente. El coeficiente de variación intraensayo fue de 5.1% y el interensayo fue de 7.9%.

**Medición de la HbA1c.** La HbA1c se analizó con el equipo portátil A1C Now+ (Bayer) por el método de inmunoensayo, basado en la exposición de la sangre a anticuerpos anti-HbA1C marcados con látex azul. Los resultados se expresan en porcentajes.

**Tabla 1: Características clínicas de los participantes.**

Parámetro	Mujeres (N = 46)	Hombres (N = 45)	p
Edad (años)	20.64 ± 3.99	20.20 ± 2.85	0.5473
Talla (cm)	159.82 ± 5.79	169.18 ± 5.72	< 0.0001
Peso (kg)	62.93 ± 10.85	71.80 ± 15.90	0.0025
Circ. Cintura (cm)	81.04 ± 10.45	86.33 ± 12.63	0.0320
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24.58 ± 3.67	25.01 ± 5.03	0.6419
Circ. Cintura/talla	0.393 ± 0.062	0.424 ± 0.089	0.0259
PAS (mmHg)	103.20 ± 11.23	116.15 ± 12.20	< 0.0001
PAD (mmHg)	66.80 ± 8.62	72.35 ± 8.56	0.0027

PAS = presión arterial sistólica, PAD = presión arterial diastólica.

**Tabla 2: Mediciones bioquímicas en saliva de mujeres y hombres jóvenes.**

Parámetro	Mujeres (N = 46)	Hombres (N = 45)	p
Flujo salival (mL/min)	0.295 ± 0.156	0.405 ± 0.194	0.0037
Proteína total (mg/dL)	7.4 ± 2.9	8.1 ± 3.7	0.3173
Glucosa (mg/dL)	10.37 ± 2.09	10.59 ± 2.82	0.6636
AGEs (UAF)	0.604 ± 0.277	0.501 ± 0.327	0.1082

AGEs = productos finales de la glucosilación, UAF = unidades arbitrarias de fluorescencia.

**Tabla 3: Mediciones bioquímicas en plasma de mujeres y hombres jóvenes.**

Parámetro	Mujeres (N = 46)	Hombres (N = 45)	p
Proteína total (g/dL)	7.87 ± 0.96	8.02 ± 1.02	0.4718
Glucosa (mg/dL)	68.73 ± 7.32	70.39 ± 9.12	0.3404
AGEs (UAF)	4.1 ± 0.84	3.7 ± 0.71	0.0162
HbA1c (%)	3.8 ± 1.19	3.7 ± 1.17	0.6871

AGEs = productos finales de la glucosilación, UAF = unidades arbitrarias de fluorescencia, HbA1c = hemoglobina glucosilada.

### Análisis estadístico

Se presenta un análisis descriptivo con medidas de tendencia central y dispersión, así como uno inferencial en el que inicialmente se analizaron los valores obtenidos para determinar su normalidad con la prueba de D'Agostino y Pearson, y se llevaron a cabo pruebas paramétricas (t de Student), o no paramétricas (U de Mann-Whitney) para comparar entre dos grupos. Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ .

### RESULTADOS

Estudiamos a 91 participantes divididos en dos grupos: mujeres (n = 46) con edad promedio de 20.6 años y hombres (n = 45) con edad promedio de 20.20 años. Todos ellos sin hábito tabáquico y en aparente buen estado de salud, cuyos datos clínicos se muestran en la *Tabla 1*.

En la *Tabla 2* se muestran los cambios que se encontraron en la saliva donde existe un mayor flujo salival, en los hombres versus mujeres ( $p = 0.0037$ ), pero sin cambios en la proteína total, la glucosa y los AGEs.

Cuando se compararon los valores plasmáticos (*Tabla 3*), encontramos que los AGEs están más elevados en las mujeres que en los hombres ( $p = 0.0162$ ), pero sin cambios en la proteína total, glucosa y hemoglobina glucosilada.

La concentración de proteínas fue de 100 veces menor en la saliva versus el plasma.

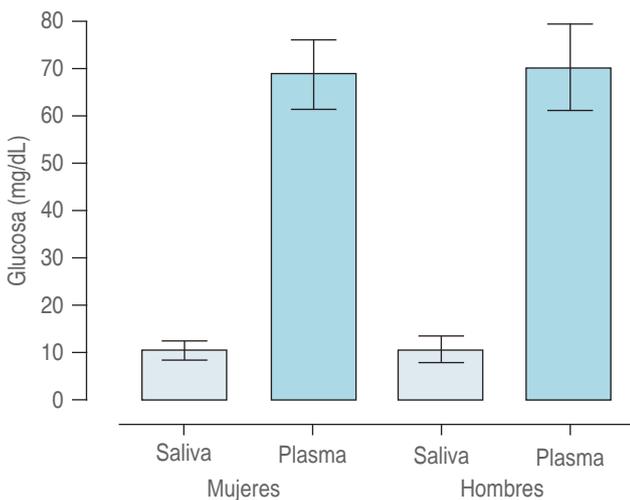
Las diferencias en la concentración de glucosa entre la saliva y el plasma fue 5.6 veces menor, tanto en mujeres como en hombres (*Figura 1*).

Las diferencias entre la concentración de los AGEs en plasma y saliva fue de 5.6 veces menor en la saliva para mujeres y de 6.7 veces menor en la saliva para hombres (*Figura 2*).

### DISCUSIÓN

Las funciones de la saliva incluyen lubricación, protección antimicrobiana, conservación de la integridad de la mucosa y digestión. Diversos autores han estudiado los cambios bioquímicos en la saliva de los pacientes diabéticos; existen muchas publicaciones acerca de la bioquímica salivar en los que se han descrito cambios en la concentración de glucosa, proteínas totales, lisozima, peroxidasas, amilasa, inmunoglobulina A, electrolitos y pH; sin embargo, los resultados difieren de un estudio a otro. Es posible que eso se deba a los métodos como se han medido los analitos, al diseño del estudio y a la diversidad de los criterios de selección de los participantes.<sup>19-23</sup> No obstante, son pocos los estudios en los que se estudia la saliva de sujetos sanos y su dimorfismo sexual.

El flujo salival fue notablemente mayor en hombres que en mujeres, pero cuando comparamos los promedios que encontramos para el flujo salival no estimula-



**Figura 1:** Cambios en la concentración de glucosa entre la saliva y el plasma de mujeres y hombres.

do, éstos fueron menores a los informados por Inoue y colaboradores.<sup>24</sup>

En cuanto a la concentración de proteínas totales, no hubo diferencias entre mujeres y hombres en contraparte a lo publicado por Banderas y su grupo,<sup>25</sup> quienes aseguran que la concentración de proteína es mayor en los hombres.

Por otro lado, la concentración de proteína entre ambos sexos no difiere mucho, ya sea de la saliva o del plasma; sin embargo, cuando se comparan las concentraciones de las proteínas totales entre la saliva y el plasma la diferencia es enorme, poco más de 100 veces la diferencia entre ellos, siendo mucho mayor en el plasma. Esto se debe a que prácticamente 99% de la composición bioquímica de la saliva es agua.

Un número reducido de estudios han evaluado los niveles de glucosa salival en pacientes sanos.<sup>26-29</sup> En el caso de la diabetes la literatura es más abundante, estudiando los niveles de glucosa salival y/o estableciendo comparaciones entre los niveles de glucosa en sangre y saliva, ya sea de manera aislada o respecto a un grupo control.<sup>20,30-33</sup>

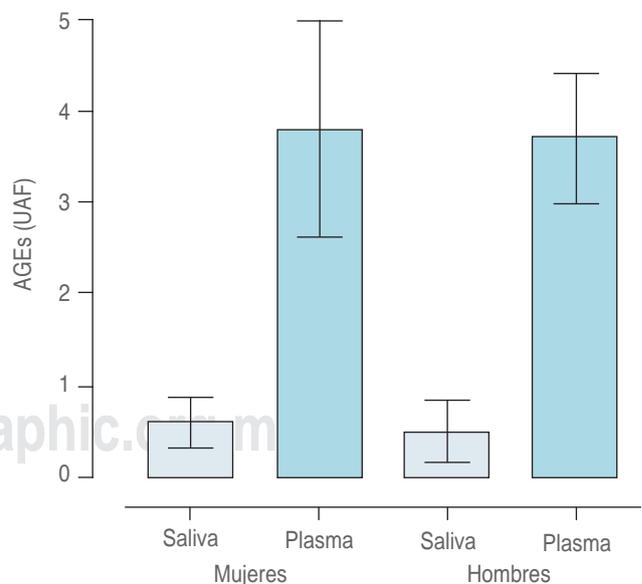
En este trabajo encontramos que la glucosa, tanto salival como plasmática, no presenta cambios sustanciales entre ambos sexos; sin embargo, cuando se comparan los valores plasmáticos y los salivales existe una gran diferencia entre ambos fluidos, siendo casi seis veces menor el contenido de glucosa en la saliva.

Los carbohidratos como la glucosa reaccionan de forma no enzimática con los grupos amino libres de las proteínas y pasan de los aductos reversibles de la base de

Schiff a los productos Amadori que son más estables. Algunos productos de Amadori se convierten en productos finales de glucosilación (AGEs) a través de una serie de reordenamientos químicos, deshidratación y reacciones de fragmentación.<sup>34</sup> Además de la formación endógena, los AGEs también pueden derivarse de fuentes exógenas como el tabaquismo y los alimentos.<sup>35,36</sup> Los AGEs sirven como biomarcadores generales del estrés oxidativo y pueden ser medidos mediante análisis fluorométrico, ELISA o Western blot.

Por otro lado, se piensa que la glucosilación de proteínas desempeña un papel importante en las funciones protectoras salivales. Se han reportado las caracterizaciones de 45 proteínas salivales y 303 plasmáticas que son glucosiladas, ya sea no enzimática como enzimáticamente,<sup>37,38</sup> y es muy posible que estas cifras sean mayores en ambos líquidos biológicos.

Los AGEs son un grupo heterogéneo de restos de carbohidratos unidos a proteínas y se caracterizan por pardeamiento, fluorescencia y reticulación. Su determinación se basa en la detección de la fluorescencia específica de los AGEs a una excitación de 370 nm y una emisión de 440 nm.<sup>39</sup> También se han aplicado otros métodos como ELISA, anticuerpos policlonales, HPLC o inmunohistoquímica para determinar AGEs específicos.<sup>40</sup> Otras proteínas glucosiladas no enzimáticamente se pueden medir a través del ensayo de fructosamina.<sup>41,42</sup>



**Figura 2:** Cambios en la concentración de AGEs en saliva y plasma de mujeres y hombres.

A la luz de los resultados obtenidos podemos inferir que existen diferencias químicas muy grandes entre la saliva y el plasma, lo que ha sido demostrado en una enorme cantidad de trabajos experimentales en saliva humana. A pesar de esas diferencias, los resultados sugieren que la concentración de la glucosa en la saliva pudiera ser un buen método para evaluar de manera no invasiva (debido a la facilidad y sencillez de su obtención) y a que ésta, tanto en el plasma como en la saliva, no presenta diferencias significativas entre las medidas para hombres y mujeres.

Diversos investigadores concuerdan en que es viable la utilización de la saliva como auxiliar de diagnóstico, tanto para enfermedades sistémicas como bucales. Se ha demostrado que existen procedimientos bioquímicos por los cuales es posible la identificación de algunas patologías, monitoreo de fármacos y drogas de abuso, algunos de estos son accesibles y de fácil realización, mientras que otros requieren de métodos más complicados para su estudio.

En lo que se refiere a términos de sensibilidad y especificidad, aún no se han establecido métodos ni protocolos que se empleen ciento por ciento exactos en distintas pruebas para el diagnóstico y la prevención de la mayoría de las enfermedades, aun así, en el diagnóstico utilizando la saliva, la baja concentración de sus componentes ya no es un problema y, por lo tanto, la saliva no sólo puede ser una herramienta diagnóstica, sino que puede ser una forma fácil de monitorizar la salud y tener un alto potencial para revolucionar el futuro en la medicina de laboratorio.

## REFERENCIAS

1. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2018).
2. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2009; 32: S62-S67.
3. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003; 26: 3160-3167.
4. Milosevic D, Lukic-Panin V. Relationship between hematological parameters and glycemic control in type 2 diabetes mellitus patients. *J Med Biochem*. 2019; 38: 164.
5. Loe H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1993; 16: 329.
6. Shirzaiy M, Heidari F, Dalirsani Z, Dehghan J. Estimation of salivary sodium, potassium, calcium, phosphorus and urea in type II diabetic patients. *Diabetes Metab Syndr*. 2015; 9: 332.
7. Mohamed HG, Idris SB, Ahmed MF, Boe OE, Mustafa K, Ibrahim SO. Association between oral health status and type 2 diabetes mellitus among Sudanese adults: A matched case-control study. *PLoS One*. 2013; 8: 1-9.
8. Barriga AC, Hernández SEA. Utilidad de las muestras de saliva en el diagnóstico por el laboratorio. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2016; 63: 13-18.
9. Gallardo JM. Xerostomía: etiología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2008; 46: 109-116.
10. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med*. 1988; 318: 1315-1321.
11. Unoki H, Yamagishi S. Advanced glycation end products and insulin resistance. *Curr Pharm Design*. 2008; 14: 987-989.
12. Brownlee M. Glycosylation products as toxic mediators of diabetic complications. *Annu Rev Med*, 1991; 42: 159-166.
13. Monnier VM, Stevens VJ, Cerami A. Maillard reactions involving proteins and carbohydrates in vivo: relevance to diabetes mellitus and aging. *Prog Food Nutr Sci*. 1981; 5: 315-327.
14. Bucala R, Cerami A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. *Adv Pharmacol*. 1992; 23: 1-34.
15. Navazesh M. Methods for collecting saliva. *Ann NY Acad Sci*. 1993; 694: 72-77.
16. Elishoov H, Wolff A, Kravel LS, Shiperman A, Gorsky M. Association between season and temperature and unstimulated parotid and submandibular/sublingual secretion rates. *Arch Oral Biol*. 2008; 53: 75-78.
17. Bradford MM. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal Biochem*. 1976; 72: 248-254.
18. Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiological Research*. 2002; 51: 597-604.
19. Forbat L, Collins R, Maskell G, Sonksen P. Glucose concentrations in parotid fluid and venous blood of patients attending a diabetic clinic. *J R Soc Med*. 1981; 74: 725-728.
20. Reuterving CO, Reuterving G, Hagg E, Ericson T. Salivary flow rate and salivary glucose concentration in patients with diabetes mellitus influence of severity of diabetes. *Diab Metab*. 1987; 13: 457-462.
21. Ben-Aryeh H, Cohen M, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Salivary composition in diabetic patients. *J Diabet Complications*. 1988; 2: 96-99.
22. Ben-Aryeh H, Serouya R, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 1993; 7: 57-62.
23. Dodds MW, Dodds AP. Effects of glycemic control on saliva flow rates and protein composition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997; 83: 465-470.
24. Inoue H, Ono K, Masuda W, Morimoto Y, Tanaka T, Yokota M et al. Gender difference in unstimulated whole saliva flow rate and salivary gland sizes. *Arch Oral Biol*. 2006; 51: 1055-1060.
25. Banderas-Tarabay JA, González-Begné M, Sánchez-Garduño M, Millán-Cortéz E, López-Rodríguez A, Vilchis-Velázquez A. Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. *Salud Publica Mex*. 1997; 39: 433-441.
26. Borg A, Birkhed D. Secretion of glucose in human parotid saliva after carbohydrate intake. *Scand J Dent Res*. 1988; 96: 551-556.
27. Akanji AO, Ezenwaka C, Adejuwon CA, Osotimihin BO. Plasma and salivary concentrations of glucose and cortisol during insulin-induced hypoglycaemic stress in healthy Nigerians. *Afr J Med Med Sci*. 1990; 19: 265-269.
28. Agha-Hosseini F, Dizgah IM, Amirkhani S. The composition of unstimulated whole saliva of healthy dental students. *J Contemp Dent Pract*. 2006; 7: 104-111.
29. Soares MS, Batista-Filho MM, Pimentel MJ, Passos IA, Chimenos-Küstner E. Determination of salivary glucose in healthy adults. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009; 14: e510-e513.
30. Carda C, Mosquera-Lloreda N, Salom L, Gomez de Ferraris ME, Peydró A. Structural and functional salivary disorders in type

- 2 diabetic patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11: 309-314.
31. Panchbhai AS, Degwekar SS, Bhowte RR. Estimation of salivary glucose, salivary amylase, salivary total protein and salivary flow rate in diabetics in India. *J Oral Sci*. 2010; 52: 359-368.
  32. Vasconcelos AC, Soares MS, Almeida PC, Soares TC. Comparative study of the concentration of salivary and blood glucose in type 2 diabetic patients. *J Oral Sci*. 2010; 52: 293-298.
  33. Jurysta C, Bulur N, Oguzhan B, Satman I, Yilmaz TM, Malaisse WJ et al. Salivary glucose concentration and excretion in normal and diabetic subjects. *J Biomed Biotechnol*. 2009; 2009: 430426.
  34. Ott C, Jacobs K, Haucke E, Navarrete Santos A, Grune T, Simm A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol*. 2014; 2: 411-429.
  35. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*. 2001; 44: 129-146.
  36. Nass N, Bartling B, Navarrete Santos A, Scheubel RJ, Borgermann J, Silber RE et al. Advanced glycation end products, diabetes and ageing. *Z Gerontol. Geriatr*. 2007; 40: 349-356.
  37. Liu T, Qian WJ, Gritsenko MA, Camp DG 2nd, Monroe ME, Moore RJ et al. Human plasma N-glycoproteome analysis by immunoaffinity subtraction, hydrazide chemistry, and mass spectrometry. *J Proteome Res*. 2005; 4: 2070-2080.
  38. Ramachandran P, Boonthung P, Xie Y, Sondej M, Wong DT, Loo JA. Identification of N-linked glycoproteins in human saliva by glycoprotein capture and mass spectrometry. *J Proteome Res*. 2006; 5: 1493-1503.
  39. Münch G, Keis R, Wessels A, Riederer P, Bahner U, Heidland A, et al. Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997; 35: 669-677.
  40. Schmitt A, Schmitt J, Münch G, Gasic-Milencovic J. Characterization of advanced glycation end products for biochemical studies: side chain modifications and fluorescence characteristics. *Anal Biochem*. 2005; 338: 201-215.
  41. Armbruster DA. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. *Clin Chem*. 1987; 33: 2153-2163.
  42. San-Gil F, Schier GM, Moses RG, Gan IE. Improved estimation of fructosamine, as a measure of glycated serum protein, with the Technicon RA-1000 analyzer. *Clin Chem*. 1985; 31: 2005-2006.

**Financiamiento:** Este trabajo fue apoyado en parte por el Fondo de Investigación en Salud No. FIS/IMSS/PROT/G17/1664 del Instituto Mexicano del Seguro Social otorgado a Juan Manuel Gallardo.

DRA, recibió una beca para estudios de maestría del CONACYT.

**Conflicto de intereses:** No hay conflicto de intereses.

**Aprobación de ética:** Este estudio fue aprobado por el Comité Local de Ética e Investigación del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.