



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de
Odontología

“Concentración de calcio salival en mujeres menopáusicas: desarrollo de un método de análisis de concentración en saliva y análisis de su eventual correlación con la densidad ósea”

TESIS

Para obtener el título de: Magister en ciencias Odontológicas
opción Biología Oral.

Presenta: **María Bernadet Herrera Díaz**

Tutor: **PhD. Miguel Arocena Sutz**

Montevideo, agosto 2023

Tabla de contenido

Tabla de contenido.....	2
RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 Osteoporosis: concepto, medios de diagnóstico y epidemiología.....	11
2.2 Metabolismo fosfo-cálcico: regulación y cambios asociados a diferentes estados fisiológicos.....	18
2.3 Componentes inorgánicos de la saliva: principales consideraciones, calcio salival y salud oral.....	24
2.4 La saliva como medio de diagnóstico, medios de determinación del calcio salival	29
3. HIPOTESIS.....	35
4. OBJETIVOS.....	35
5. MATERIALES Y METODOS.....	35
5.1 Recolección de datos.....	36
5.2 Determinación colorimétrica de calcio.....	38
5.3 Operacionalización de las variables.....	41
6. RESULTADOS.....	42
6.1 Presentación de datos.....	42
6.2 Análisis estadístico.....	43
7. DISCUSIÓN.....	47
8. CONCLUSIONES.....	51
9. PERSPECTIVAS.....	51
10. BIBLIOGRAFÍA.....	52
APENDICES.....	56
ANEXOS.....	63

Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
AFFC	Antecedentes familiares de fractura de cadera
AFO	Antecedentes familiares de osteoporosis
CaSR	receptor sensible al calcio

CCS	Concentración de calcio salival
CHPR	Centro Hospitalario Pereira Rossell
DEXA	Absorciometría de rayos X de energía dual
DO	Densidad ósea
DMO	Densidad mineral ósea
F	Fumador
FGF23	Factor de crecimiento fibroblástico
FRAX	Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fractura
FP	Fractura previa
GEOSUR	Grupo para Estudio de Osteopatías de la Sociedad Uruguaya de Reumatología
MP	Menopausia precoz
OMS	Organización Mundial de la Salud
PTH	Hormona paratiroidea
QCT	Tomografía computarizada cuantitativa
TC	Terapia con corticoides

RESUMEN

En las tres últimas décadas los avances técnicos y metodológicos han permitido el empleo de muestras de saliva para monitorizar diversos procesos biológicos tanto fisiológicos como patológicos. Además, la concentración salival de calcio puede determinarse mediante la utilización de diferentes métodos. Así, el objetivo central de este trabajo fue determinar los niveles de calcio salival por métodos colorimétricos y establecer la existencia o no de una correlación estadísticamente significativa entre estos y la densidad ósea (DMO)

determinada por absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA, por su sigla en inglés) en pacientes con riesgo de osteoporosis. Relevancia: La osteoporosis es una enfermedad metabólica del hueso que afecta la masa y arquitectura ósea. Es la enfermedad metabólica más prevalente y su morbilidad-mortalidad así como los altos costos de su tratamiento la ubican como un problema de muy alta relevancia para la Salud Pública. Más aún, esta patología no cuenta con métodos de diagnóstico precoz bien establecidos, por lo que la investigación en esta área tiene una enorme importancia en salud humana.

Materiales y métodos: El grupo de riesgo considerado fueron mujeres postmenopáusicas procedentes de la clínica ginecológica del Centro Hospitalario Pereira Rosell con DMO realizada por DEXA. Fue analizada la saliva estimulada de un total de 26 mujeres. En ellas se determinó el flujo salival y la concentración de calcio salival, mediante técnica colorimétrica con arsenazo III. Se recabaron además la presencia de factores de riesgos de padecer osteoporosis. Por último, se lograron obtener y se procesaron los datos procedentes de la densitometría ósea de 19 de las 26 mujeres participantes, considerando la densidad ósea en tres sitios de referencia del esqueleto axial. Para el análisis estadístico se realizaron las medidas de resumen de las diferentes variables consideradas y se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple que consideró la densidad ósea como variable de respuesta y la concentración de calcio salival como variable explicativa.

Resultados: Los valores promedio calculados para del grupo de estudio fueron, edad 48.8 años, flujo salival 1,98 mL/min, concentración de calcio salival 6,7 mg/dL y densidad ósea 0,88 gr/cm² para cuello de fémur. No se encontró evidencia estadísticamente significativa para afirmar que exista una relación lineal entre concentración de calcio salival y densidad ósea.

Conclusiones: la técnica colorimétrica para la determinación de calcio con arsenazo III es una técnica confiable para la determinación de los niveles de calcio salival. Sin embargo, no se observó correlación estadísticamente significativa entre la concentración del ión y la densidad mineral ósea. La controversia en los hallazgos reportados en la literatura sobre este tema, en conjunto con la relevancia del mismo, hacen necesario el planteo de nuevos estudios con diferentes enfoques metodológicos que permitan arribar a resultados más concluyentes.

Palabras claves: Concentración de calcio salival, densidad mineral ósea, menopausia, osteoporosis.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los electrolitos presente en los diferentes compartimientos del organismo es el ion calcio, este participa de numerosos procesos de importancia biológica. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) La importancia de estos, es tal que existe un complejo mecanismo de regulación homeostático para mantener su concentración en ciertos límites. (Brown, Edward M. MAC Leod, 2001) Su mayor depósito es el esqueleto donde constituye el mineral más abundante. (Moyano & Gonzalez, 2002; Chijani et al., 2012) De hecho, aproximadamente el 99% del calcio del organismo en el adulto promedio se encuentra en forma de cristales de hidroxapatita. (Moyano & Gonzalez, 2002)

Además, los niveles sanguíneos de calcio dependen no solo de la ingesta y eliminación del ion, sino también de la precipitación y reabsorción ósea, cabe recordar que el hueso es un órgano en continuo remodelado. La absorción de calcio procedente de la dieta ocurre en el intestino, principalmente a nivel del duodeno y el yeyuno. (Gómez & Henríquez, 2011) Existe un equilibrio entre la absorción intestinal del catión y su excreción urinaria, lo que permite mantener constantes los niveles extracelulares de calcio. (Cabrera & Saadoun, 2002)

Por lo tanto, el nivel de calcio iónico extracelular (que es una variable biológica fundamental) se encuentra fuertemente regulada, principalmente por el sistema endócrino a través de la paratohormona (PTH), la vitamina D y la calcitonina. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) A modo de resumen, se podría decir que las dos primeras aumentan la calcemia a expensas de la reabsorción ósea y el aumento de la absorción renal del ion, respectivamente. (Gómez & Henríquez, 2011) La calcitonina en tanto disminuye la calcemia aumentando su eliminación. (Moyano & Gonzalez, 2002) En estados fisiológicos como el embarazo y la senectud la concentración iónica se mantiene estable a expensas de la masa ósea; el hipoestrogenismo producido durante la lactancia y la posmenopausia conducen a un balance negativo de calcio y a la consecuente pérdida de la masa ósea. (Chijani et al., 2012; Komm, Morgenstern, Yamamoto, & Jenkins, 2015)

Por otra parte, la osteoporosis es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por el aumento en la fragilidad y deterioro de la microarquitectura ósea, es una patología silenciosa, crónica, sistémica y multifactorial, y es precedida por la osteopenia, que es la reducción en la densidad ósea respecto al valor acorde a la edad. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011) Uno de los principales factores de riesgo de padecer osteoporosis es el climaterio, es sabido que la máxima pérdida ósea ocurre en los primeros 5 años luego de la menopausia. (L. Sewón et al., 2000; Chijani et al., 2012; Komm et al., 2015; Goyal, Goyal, & Gupta, 2017) En efecto, de acuerdo a estimaciones realizadas por la Organización Mundial

de la Salud (OMS), un tercio de las mujeres mayores de 50 años padecen esta enfermedad, así como el 50% de las mayores de 70 años. (Chijani et al., 2012)

Además de la alta prevalencia, y del el riesgo de fracturas asociado a esta patología, se le suman altas tasas de morbilidad y mortalidad. (Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016) De hecho, de acuerdo a datos proyectados por la OMS más de dos millones de personas en el mundo sufrirán fracturas de cadera cada año y de estas 200.000 morirán como consecuencia directa de estas fracturas. (Chijani et al., 2012) Sumado a esto, los altos costos a nivel sanitario ponen a esta patología en la agenda de consideraciones de políticas de salud en muchos países. (Chijani et al., 2012)

Actualmente, en Uruguay existen pocos datos epidemiológicos respecto a esta patología. (Chijani et al., 2012; José Zanchetta, 2012; Maiche, Hernández, & Mendoza, 2019) En Uruguay, el aumento de la expectativa de vida pone un importante porcentaje de la población en el grupo de riesgo de padecer osteoporosis. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011) De acuerdo con el censo del 2011, el 19 % de la población uruguaya tiene más de 60 años, y el 14 % más de 65. (Berriel, Pérez, & Rodriguez, 2011) Uruguay es el país con mayor proporción de ancianos en América Latina. (José Zanchetta, 2012) Es conveniente recordar en este momento, que el riesgo de padecer osteoporosis aumenta sustancialmente a partir de los 70 años de edad. (Chijani et al., 2012)

El *gold standard* para el diagnóstico de osteoporosis es la realización de la densitometría ósea (DMO) por absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). (Lorente Ramos et al., 2012) La DMO es el único examen complementario que hace diagnóstico de osteoporosis. (Chijani et al., 2012; Bolívar, Sevilla, Martín, & Torres, 2022) Según los criterios de la OMS, la osteoporosis se define como una DMO que se encuentra 2,5 desviaciones estándar o más por debajo del valor promedio para mujeres jóvenes sanas (este valor recibe el nombre de T-score). (Goyal, Goyal, & Gupta, 2017) La DMO no está indicada como método de cribado en toda la población posmenopáusica, porque no se ha demostrado una relación costo-efectividad favorable. (Chijani et al., 2012)

Actualmente, en Uruguay son bien reconocidas las dificultades en el diagnóstico de esta patología. (Maiche, Hernández, & Mendoza, 2019) Citando textualmente a Chjani: “Es importante tener presente que en la práctica diaria encontramos pacientes, sobre todo mujeres menores de 65 años con bajo riesgo de fractura, que están sobreevaluados y sobretratados. Por otro lado es frecuente encontrar pacientes con alto riesgo de fracturas que están subevaluados y no tratados.” (Chijani et al., 2012) La morbilidad y mortalidad asociadas a esta patología han sido documentadas. (Maiche et al., 2019) En un estudio realizado en Uruguay en el 2013, de 184 pacientes tratados con artroplastia por fractura de

cadencia, luego de 84 semanas de seguimiento el 15% había muerto y el 9% había sido institucionalizado. (Maiche et al., 2019)

De lo expuesto, es de esperar la existencia de políticas nacionales para el control de esta patología. Dentro de estas, se puede destacar la creación del Grupo para Estudio de Osteopatías de la Sociedad Uruguaya de Reumatología (GEOSUR) en 1999. (Chijani et al., 2012) Desde entonces, este grupo ha desarrollado diferentes acciones entre las que se destacan la publicación de dos libros sobre osteoporosis (2002-2005), la implementación del programa de prevención en salud ósea, el desarrollo de una guía práctica de manejo clínico (2006), programas de prevención en adolescentes (2010) y programas de profilaxis en mujeres mayores de 40 años o con menopausia precoz (2018). (Chijani et al., 2012)

Por otra parte, existe controversia en cuanto al tratamiento farmacológico para esta patología con bifosfonatos y estrógenos. El uso de bifosfonatos está relacionado con la aparición de osteonecrosis mandibular. (Penoni et al., 2018) Si bien estos efectos deletéreos están bien documentados, algunos autores consideran que, con una terapia odontológica previa, los beneficios superan con creces los riesgos de padecer fracturas por fragilidad ósea. Con respecto a la terapéutica hormonal con estrógenos, se la ha vinculado con el desarrollo de cáncer endometrial. (Komm et al., 2015)

Por otro lado, el interés en la saliva como medio de diagnóstico ha aumentado exponencialmente en las últimas tres décadas. (Rabiei, Masooleh, Leyli, & Nikoukar, 2013; Patel & Barros, 2015) El empleo de muestras salivales ha cobrado relevancia como coadyuvante en el diagnóstico de patologías tanto sistémicas (Rodrigues et al., 2019) como orales (Rabiei, Asli, & Mohamadi, 2019) y se ha vinculado con la detección de osteoporosis fundamentalmente como método de tamizaje. (Rabiei et al., 2013; Tabor et al., 2021)

La saliva es un fluido complejo formado principalmente por agua, proteínas, glicoproteínas e iones. (Rabiei et al., 2019) Dentro de los electrolitos presentes en saliva encontramos al calcio (Lilisi A.Sewon, Sara M Karjalainen, Eva Söderrling, Helena Lapinleimu, 1998; Rabiei et al., 2013; Rabiei et al., 2019), principal componente cuantitativo del esqueleto. Si bien el calcio salival forma complejos con proteínas presentes en este fluido, al menos la mitad del calcio presente en saliva se encuentra en forma iónica. (Pateel, Gunjal, Math, Murugesappa, & Nair, 2017; Rabiei et al., 2019) Cabe recordar en este momento, que la saliva primaria representa un ultrafiltrado del plasma sanguíneo y que la proporción de calcio de esta no varía durante el pasaje por los conductos de las glándulas salivales, razón por la cual se la considera por muchos autores como un espejo del plasma sanguíneo. (Patel & Barros, 2015)

Además, algunos factores que han demostrado afectar la masa ósea han sido vinculados con los niveles salivales de calcio, como por ejemplo la edad. (Rabiei et al., 2013) Otro dato interesante es, que los niveles de calcio salival se encuentran aumentados en los fumadores con baja densidad ósea. (Liisi Sewón, Laine, Karjalainen, Doroguinskaia, & Lehtonen-Veromaa, 2004) También, se ha documentado que la concentración salival de ion calcio disminuye en los pacientes tratados con terapia hormonal de reemplazo. (Rabiei et al., 2013) Asimismo, se ha demostrado un incremento en la concentración de calcio salival y un aumento de fosfatasa alcalina (hormona vinculada con el recambio óseo) en mujeres en edad menopáusica con sensación de boca seca. (Agha-Hosseini, Mirzaii-Dizgah, & Moosavi, 2012) Además, se constató que la concentración salival de calcio varía con los cambios en los niveles hormonales registrados durante el ciclo menstrual. (Rabiei et al., 2019)

Por último, numerosos estudios han relacionado la concentración del ion calcio y la salud periodontal. (Goyal et al., 2017) La precipitación de calcio de la saliva precede a la formación de sarro dental y es un requisito fundamental para la misma. (Pateel, Gunjal, Math, Murugeshappa, & Nair, 2017) La precipitación de fases sólidas de calcio es determinada por su concentración en saliva. (Rabiei et al., 2019)

En suma, existe evidencia para suponer que los niveles de calcio salival varían con la disminución de estrógenos propia de la menopausia y en asociación con las repercusiones sobre la masa ósea de estos. (Rabiei et al., 2019; Tabor et al., 2021) Se podría esperar que en esta situación los depósitos de sarro oral aumenten, producto del aumento local de la concentración de calcio. (Rabiei et al., 2019) Por otra parte, hay evidencia de que los depósitos de sarro favorecen la aparición de periodontitis. (Penoni et al., 2018) Por ende, es de esperar que existan varias instancias de pacientes con concentración de calcio aumentada en saliva que lleguen a la consulta odontológica previo al desarrollo de patología ósea, por lo que los odontólogos podrían constituir un grupo de profesionales de la salud que jueguen roles importantes en la detección precoz de pacientes con posible riesgo de osteoporosis, así como en su derivación oportuna. De hecho, diversos estudios han documentado la asociación que existe entre la severidad de la enfermedad periodontal y la densidad ósea en pacientes con osteoporosis. (Goyal et al., 2017; Mohammed S. Ayed, Shafiq, Diab, Alahmari, & Divakar, 2018)

El objetivo principal del trabajo, que se presenta a continuación, es cuantificar la relación existente entre la concentración salival de calcio y la densidad mineral ósea. Para esto, se desarrolló un estudio descriptivo transversal en el que se analizaron las muestras salivales de 26 mujeres y se las comparó con los datos de densitometría ósea obtenida por DEXA. La

población de estudio fueron mujeres posmenopáusicas procedentes de la Clínica Ginecológica del CHPR con densitometría ósea ya realizada (ver metodología).

En el análisis estadístico se calcularon medidas de resumen para las dos variables en estudio (concentración de calcio salival, CCS y la densidad ósea, DO). Se generaron visualizaciones entre estas medidas empleando gráficos de dispersión. En una segunda etapa se empleó la transformación Z de Fisher para poner a prueba la hipótesis de correlación nula. Por último, se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple que consideró la DO como variable de respuesta y la CCS como variable explicativa. Se evaluó esta asociación mediante el estadístico *t* de student ajustando por las demás variables consideradas (edad, menopausia precoz, hábito de fumar, tratamiento con corticoides, fractura previa, antecedentes familiares de fractura de cadera y antecedentes familiares de osteoporosis). Los procedimientos inferenciales consideraron un nivel de significación del 5% y no mostraron una relación estadísticamente significativa entre las dos variables.

Esta tesis está organizada en 8 capítulos, en este capítulo (Introducción) se presentaron los elementos más relevantes del estado actual del tema en estudio, así como también las principales líneas de trabajo y resultados más destacables. El capítulo 2, Marco Teórico, se encuentra dividido en cuatro secciones que reúnen una revisión bibliográfica de los principales temas que dan sostén a esta propuesta de trabajo. En los capítulos 3 y 4 se presentan el problema de investigación hipótesis y objetivos, respectivamente. El capítulo 5, Materiales y Métodos, se divide en 5 secciones, en ellas se presentan en forma detallada la metodología de trabajo, las técnicas utilizadas, los datos obtenidos, su tratamiento y análisis. En el capítulo 6, Discusión, se revisan los resultados obtenidos se comparan con hallazgos reportados en la literatura, se analizan los puntos débiles y limitaciones del estudio. En el capítulo 7, se presentan las conclusiones de la tesis. Por último, el capítulo 8 detalla la bibliografía utilizada en esta tesis, seguida de los anexos y apéndices que reúnen la documentación pertinente y los elementos de comunicación utilizados con el paciente.

2. MARCO TEÓRICO

El ion calcio participa en el desarrollo y regulación de múltiples procesos celulares tanto a nivel intracelular como extracelular. Con el objetivo de evidenciar su relevancia, se podrían nombrar entre los mecanismos biológicos en los que participa los que siguen: conducción nerviosa, contracción muscular, mecanismos de secreción hormonal y enzimática, vías de señalización intracelular, control de la permeabilidad de las membranas biológicas, coagulación sanguínea y procesos de biomineralización. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Como se puede deducir de esta lista (que no pretende abarcar en su totalidad los diferentes eventos biológicos de los que este elemento participa), el control de su

biodisponibilidad reviste tal importancia, que existe un complejo mecanismo de regulación homeostático para mantener su concentración dentro de ciertos límites.(Chijani et al 2012)(Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Por otra parte, el mayor depósito de calcio en el organismo es el esqueleto, donde representa el constituyente mineral más abundante. De hecho, del total del ion que se encuentra disponible en el organismo, tan solo el 1 % se encuentra en el líquido extracelular, en tanto el 99 % forma parte de la matriz extracelular del tejido óseo. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) De lo expuesto hasta aquí es posible evidenciar que aquellos procesos —tanto fisiológicos como patológicos— que afectan la disponibilidad biológica del calcio repercuten de manera directa sobre la arquitectura y composición de la masa ósea Uno de los procesos fisiológicos que afecta la masa y arquitectura ósea es la menopausia, en efecto, se encuentra bien documentado el desarrollo de osteoporosis vinculada al climaterio. (Baccaro, Conde, Costa-Paiva, & Pinto-Neto, 2015 ; Black & Rosen, 2016)

Además, el ion calcio es uno de los constituyentes inorgánicos de la saliva y presenta una concentración salival fácilmente determinable; su cuantía no sufre cambios circadianos ni circanuales como si ocurre con otros electrolitos salivales. (Rabiei et al., 2013) Sin embargo, están ampliamente referidos en la bibliografía los cambios en la concentración salival de calcio vinculados a la enfermedad periodontal, una de las enfermedades orales más prevalentes que conduce a la pérdida de las estructuras de soporte dentario, afectando de forma directa la arquitectura y masa del hueso alveolar. (Goyal et al., 2017) Del mismo modo, está también bien documentada la asociación que existe entre la enfermedad periodontal y la menopausia. (Rodríguez, Frutos, & Machuca, 2001) Más aún, de acuerdo a meta-análisis realizados, la pérdida de inserción periodontal es mayor en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis u osteopenia que en mujeres que tienen un hueso con densidad normal. (Penoni et al., 2018)(Mohammed Saeed Ayed et al., 2019)

Por otra parte, se ha encontrado también una correlación entre la concentración salival de calcio y otras alteraciones orales propias de la menopausia como el síndrome de boca seca. (Agha-Hosseini et al., 2012) Asimismo, algunos hábitos relacionados con la pérdida de estructura ósea como es el hábito del tabaquismo provocan además un aumento de los niveles salivales de calcio. (Liisi Sewón et al., 2004)

En las diferentes secciones de este capítulo se presentarán los eventos que se consideran más relevantes para el análisis crítico de la relación que podría existir entre el deterioro óseo, producido como consecuencia de la osteoporosis, y las fluctuaciones que presenta la concentración del ion calcio en la saliva. Con este objetivo, se ha dividido el tema como sigue: 2.1 osteoporosis: concepto, medios de diagnóstico y epidemiología; 2.2 metabolismo fosfo-

cálcico: regulación y cambios asociados a diferentes estados fisiológicos; 2.3 componentes inorgánicos de la saliva: principales consideraciones, calcio salival y salud oral; 2.4 la saliva como medio de diagnóstico, medios de determinación del calcio salival.

2.1 Osteoporosis: concepto, medios de diagnóstico y epidemiología

La osteoporosis es una enfermedad silenciosa, crónica, sistémica y multifactorial. Es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por el aumento en la fragilidad y deterioro de la micro arquitectura ósea.(Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016). El diagnóstico de osteoporosis puede ser realizado ante la ocurrencia de fracturas sin trauma significativo (Baccaro et al., 2015; Black & Rosen, 2016) o mediante la determinación de la densidad ósea medida por absorciometría de rayos X de energía dual. (Chijani et al., 2012; Baccaro et al., 2015) El criterio de diagnóstico establecido por la OMS es el de un T-score menor a -2,5 desvíos estándar (SD) para osteoporosis y menor a -2.1 SD para osteopenia.(Chijani et al., 2012; Lorente Ramos et al., 2012; Black & Rosen, 2016) Cabe señalar que la OMS no especifica ni cuántas ni cuáles regiones del esqueleto deben ser incluidas en la densitometría para realizar el diagnóstico de osteoporosis. (Lewiecki et al., 2004)

La densitometría ósea (DMO) es el único examen complementario (procedimiento auxiliar que permite evidenciar datos clínicos internos del paciente inobservables por medios externos) que hace diagnóstico de osteoporosis.(Chijani et al., 2012) El *gold standard* para la determinación de la densidad mineral ósea es la realización de la DMO por DEXA. (Mohammed S. Ayed et al., 2018)

Existen otros métodos para valorar la densidad ósea, tales como la tomografía computarizada cuantitativa (QCT, por su sigla en inglés), esta técnica presenta como ventaja frente a la DEXA la capacidad de diferenciar entre el hueso esponjoso y el cortical (Lorente Ramos et al., 2012), no obstante esta en comparación con el *gold standard* presenta mayores niveles de radiación y un alto costo. (Chijani et al., 2012) Del mismo modo, las técnicas de valoración por ultrasonido —si bien no presentan los inconvenientes considerados respecto a la radiación— son de menor costo que las realizadas por DEXA pero también de menor precisión, por este motivo su uso se encuentra reservado como una herramienta de cribado. (Tejeiro, 2002; Chijani et al., 2012; Rabiei et al., 2013) La DEXA periférica realizada con equipos portátiles es poco precisa, aunque también de menor costo, puede utilizarse para seleccionar a los pacientes susceptibles de ser evaluados con DEXA central en mesa estable (Lorente Ramos et al., 2012) (Chijani et al., 2012), o para sustituirla en los lugares donde su acceso no se encuentra disponible (Lorente Ramos et al., 2012) Los términos técnicos utilizados en la oración anterior se especifican más adelante en esta sección.

Por otra parte, recordemos que muchas veces el diagnóstico de osteoporosis llega luego de que aparecen sus complicaciones. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011; Agrawal, Jain, & Varshney, 2015) De hecho, los cambios en el mineral óseo son apreciables por densitometría en estadios muchas veces irreversibles. (Agrawal et al., 2015)

Por tal motivo, los marcadores de remodelado óseo, que reflejan el estado metabólico del hueso antes de que los cambios sean detectados por las técnicas antes mencionadas, han sido considerados como herramienta predictiva de pérdida ósea ya que podrían permitir una terapéutica temprana. (Agrawal et al., 2015)

Un estudio realizado en mujeres pre y posmenopáusicas encontró que los niveles de telopeptidasa-C (un marcador de reabsorción ósea) eran significativamente mayores en las mujeres posmenopáusicas que en las pre menopáusicas y que en ambos grupos se encontraba asociado con una pérdida de masa ósea. (Agrawal et al., 2015) Por otra parte, la osteocalcina (un marcador de formación ósea) si bien se presentó aumentada en las mujeres posmenopáusicas no mostró valores significativos. (Agrawal et al., 2015) No obstante, se ha considerado que los marcadores bioquímicos de remodelado óseo no permiten hacer diagnóstico de osteoporosis (Chijani et al., 2012) Además la indicación de estos queda reservada para especialistas, por lo que no tiene el alcance suficiente en una patología silenciosa, es decir sin manifestaciones clínicas tempranas. (Chijani et al., 2012) Asimismo, es aceptado actualmente que si bien la biodisponibilidad de los marcadores de remodelado óseo es un valioso indicador dinámico del sistema óseo, debe ser utilizado como complemento de los marcadores estáticos (como la DMO que no aporta información del ritmo de recambio óseo). (Romero Barco, Manrique Arijá, & Rodríguez Pérez, 2012) (Bolívar et al., 2022) Además, el uso de biomarcadores de remodelado óseo presenta limitaciones por lo que se encuentra reservado para el monitoreo de la respuesta a la terapia antiosteoporótica. (Bolívar et al., 2022)(He et al., 2020)

Como en toda patología, el análisis detallado de la condición clínica y la presencia de factores de riesgos serán determinantes en la decisión tanto de la necesidad, como de la indicación de la paraclínica más apropiada. (Lewiecki et al., 2004) La Fundación Nacional de Osteoporosis ha identificado muchos de los factores de riesgo de padecer osteoporosis y fracturas relacionadas con esta, en mujeres blancas posmenopáusicas. Los principales factores de riesgo son antecedentes de fractura en la edad adulta, antecedentes de *fractura* por fragilidad de un familiar directo, tabaquismo, terapia con glucocorticoides orales durante más de 3 meses (todos contemplados en este estudio) y bajo peso corporal [menor a 57,7 kg]. (Lewiecki et al., 2004) Los factores de riesgo adicionales son problemas de visión, deficiencia de estrógenos a una edad temprana (menor a 45 años), mala salud/debilidad,

caídas recientes, bajo consumo de calcio (de por vida), poca actividad física y alcohol en cantidades mayores a dos tragos por día. (Lewiecki et al., 2004)

Del mismo modo, algunas condiciones médicas se han asociadas con un mayor riesgo de osteoporosis. Estas incluyen: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, gastrectomía, hiperparatiroidismo, hipogonadismo, mieloma múltiple y enfermedad celíaca. (Lewiecki et al., 2004) Además de los glucocorticoides orales, otros medicamentos se asocian con la reducción de la masa ósea en adultos entre estos, anticonvulsivos, agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), dosis excesivas de T4 y litio. (Lewiecki et al., 2004)

En Uruguay, los criterios de diagnóstico para osteoporosis actualmente aceptados se enumeran a continuación: la presencia de factores de riesgo, fractura previa, DMO, edad, antecedentes de familiar directo con fractura de cadera. En cuanto a la paraclínica, cabe señalar que en la osteoporosis no hay alteraciones en los exámenes de laboratorio habituales. (Chijani et al., 2012) Estos criterios enumerados son aceptados por muchos países (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011)(Black & Rosen, 2016) y se encuentran disponibles al público en general.

De hecho, la OMS desarrolló una herramienta de evaluación de riesgo de fractura (FRAX, por su sigla en inglés) que permite una evaluación más completa de los factores de riesgo clínicos de un individuo, es útil para definir el riesgo absoluto y seleccionar a los pacientes para el tratamiento. La Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fractura (FRAX) se encuentra disponible en <https://frax.shef.ac.uk/FRAX/>. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011; Black & Rosen, 2016)

Como se mencionó anteriormente, la absorciometría con rayos X de doble energía, también denominada densitometría, o, en inglés, *dual X-ray absorptiometry (DXA)* o *dual energy X-ray absorptiometry (DEXA)* con mesa estable, es la técnica paraclínica de elección para el diagnóstico de osteoporosis. (Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016; Bolívar et al., 2022) Por tal motivo, en los párrafos que siguen se describirán brevemente algunos detalles técnicos que se consideran de interés.

La DEXA es una técnica radiográfica que permite cuantificar la densidad mineral ósea y puede discriminar entre diferentes estructuras del organismo. (Lorente Ramos et al., 2012) Esta técnica se basa en la absorción variable de los rayos X por los diferentes componentes del organismo, empleando fotones de rayos X de alta y baja energía. Los mecanismos para la obtención de estos fotones varía de acuerdo al equipo utilizado, pudiendo obtenerse con doble lámpara o por medio de filtros de tierras raras. (Lorente Ramos et al., 2012) Los equipos disponibles cuentan con distintos tipos de hardware (filtros, colimadores,

detectores) y software (algoritmos de análisis) que cotejan y analizan la información recogida. (Lorente Ramos et al., 2012). La técnica puede ser realizada con mesa estable o móvil y puede realizarse de cuerpo entero, en forma axial o periférica. La densitometría de cuerpo entero tiene como principal indicación los trastornos de la nutrición para realizar una valoración rápida y sencilla de la composición corporal, en particular en pacientes obesos. (Lorente Ramos et al., 2012)

Su modalidad más habitual en la práctica clínica es la densitometría ósea axial con mesa estable, que valora la columna lumbar y la cadera. Es la técnica de elección para estimar la DMO por su buena resolución y fiabilidad, rápida adquisición, y escasa radiación. (Chijani et al., 2012) A partir de los datos obtenidos por esta técnica es posible estimar el riesgo de fractura, tomar decisiones terapéuticas, y evaluar la respuesta al tratamiento. (Lorente Ramos et al., 2012; Black & Rosen, 2016) La densidad mineral ósea obtenida por DEXA se expresa en gr/cm^3 (Lorente Ramos et al., 2012; Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016)

La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD, por su sigla en inglés) indica la realización de una valoración por DEXA cada 2 años en los siguientes casos: para las mujeres mayores de 65 años en todos los casos y las menores de 65 años postmenopáusicas o perimenopáusicas, en varones mayores de 70 años o menores de 70 años con factores de riesgo de fractura y en ambos sexos en los casos de fractura inexplicada, enfermedades o tratamientos crónicos asociados con pérdida ósea y en adultos en los que se indique tratamiento antiosteopórotico o para monitorizar sus efectos. (Lewiecki et al., 2004)

Con el uso cada vez mayor de las pruebas de densidad ósea para diagnosticar la osteoporosis y establecer el riesgo de fractura, han surgido inconsistencias tanto en la forma en que se realiza la densitometría ósea como al interpretar sus resultados. Estas inconsistencias pueden tener efectos adversos en la atención al paciente y en el intercambio de información científica. Para mitigar estas inconsistencias y mejorar la interpretación se crea la ISCD. (Lewiecki et al., 2004)

El margen de error reportado para la técnica es del 1- 2%. (Lorente Ramos et al., 2012) Las principales causas de error en la densitometría axial con mesa estable son: la posición del paciente (la figura 1 muestra la correcta posición del paciente, principal fuente de error), el movimiento del paciente durante el procedimiento y la presencia de artefactos (generalmente evitables mediante una correcta valoración clínica). (Lorente Ramos et al., 2012) A modo de ejemplo, los elementos que pueden causar artefactos y deben por tanto ser considerados durante la etapa de planificación son, la presencia de cuerpos extraños (material quirúrgico, calcificaciones, medios de contraste) y afecciones óseas

(espondiloartrosis, fracturas, lesiones óseas líticas o esclerosas). (Lorente Ramos et al., 2012)



Figura 1: Correcta posición del paciente en densitometría axial y periférica de mesa estable. (Lorente Ramos et al., 2012)

Es importante resaltar que la densitometría ósea es considerada por la OMS como un método de diagnóstico no invasivo. (Lewiecki et al., 2004). De hecho, la DEXA utiliza dosis tan bajas de radiación que se considera que los equipos no precisan plomado de la sala y los operadores no necesitan medidas de protección especiales. (Lorente Ramos et al., 2012) Además, no requiere ningún tipo de preparación previa por parte del paciente, al cual en el momento de la realización del estudio se le indicará que retire todo elemento metálico que lleve sobre el cuerpo. (Lorente Ramos et al., 2012) Este estudio se encuentra contraindicado en pacientes embarazadas y en aquellos que hayan recibido terapia con isótopos dos días antes o recibido contraste cinco días antes. (Lorente Ramos et al., 2012)

Con respecto a las áreas a ser estudiadas, en adultos se indica valorar la columna lumbar y la cadera, agregándose el antebrazo en aquellos casos en los que las otras áreas presentan algún elemento capaz de inducir error. (Lewiecki et al., 2004) En todos los casos el resultado final de la densitometría se informa como el menor valor obtenido mediante el análisis de las dos áreas valoradas, utilizando para la columna lumbar el promedio obtenido de L1 a L4. (Lorente Ramos et al., 2012)

Además de la densidad ósea, la DEXA informa el valor T (T-score) y el valor Z (Z-score). (Chijani et al., 2012) La puntuación T es el valor usado para diagnosticar osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y en varones de 50 años o más. (Lorente Ramos et al., 2012) Esta puntuación representa el número de desviaciones estándar de diferencia entre el valor de DMO del paciente y la media de una población de referencia adulta joven del mismo sexo. (Lorente Ramos et al., 2012) La puntuación Z se utiliza en mujeres premenopáusicas, en hombres menores de 50 años, en adolescentes y niños. (Lorente Ramos et al., 2012) Se considera normal una puntuación $T > -1,0$, osteopenia cuando la puntuación T está entre -1 y $-2,5$ y osteoporosis con una puntuación $T < -2,5$, en el caso de la puntuación Z cuando esta es dos o más desvíos estándar menor se diagnostica “Densidad ósea baja para la edad”

(Lorente Ramos et al., 2012) La figura 2 muestra una DEXA en su presentación clásica , así como los datos que en ella se resumen. Es conveniente destacar que, por cada unidad de discrepancia obtenida en el valor T aumenta por un factor de dos el riesgo de fracturas. (Lorente Ramos et al., 2012)

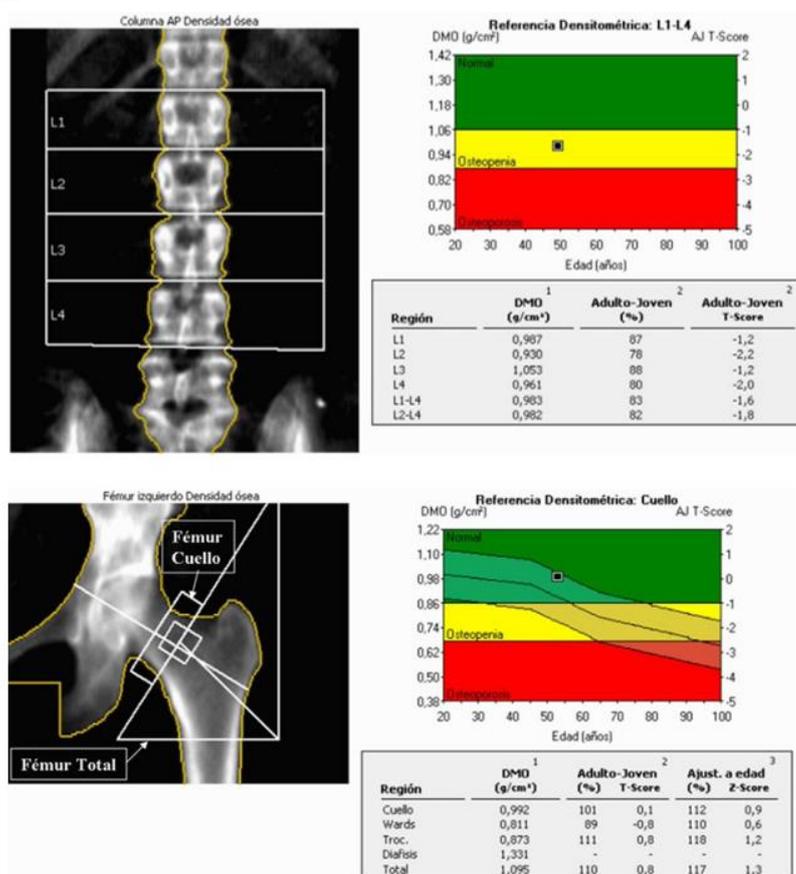


Figura 2: Imágenes de DEXA de columna lumbar incluyendo L1 a L4 y cadera incluyendo cuello del fémur.

La imagen representa la forma de DEXA más utilizada en la práctica clínica para el diagnóstico de osteoporosis. (Lorente Ramos et al., 2012)

De acuerdo a estimaciones realizadas por la OMS, un tercio de las mujeres mayores de 50 años padecen osteoporosis, así como el 50% de las mayores de 70 años. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011)(Chijani et al., 2012) Si bien afecta principalmente mujeres de raza blanca, cabe destacar que su prevalencia en hombres a los 50 años es de un quinto. (Chijani et al., 2012)

Por otra parte, el aumento en la expectativa de vida a nivel global, ha conducido a poblaciones más envejecidas (Berriel et al., 2011), en las cuales las patologías crónicas (como la osteoporosis) suponen un mayor impacto tanto a nivel médico como socioeconómico. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011) Este hecho ha llevado a que se desarrollen políticas internacionales —así como nacionales en diferentes países— con el fin de encontrar un método de cribado, basado en la evidencia, que presente una adecuada relación costo beneficio. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011)(Baccaro et al., 2015)(Berriel et al., 2011)

Es conveniente señalar que, el riesgo de fracturas asociado a osteoporosis se encuentra considerablemente aumentado (Black & Rosen, 2016), en efecto, el riesgo de sufrir una fracturas para un paciente con osteoporosis es 40% mayor que para un paciente con una densidad ósea normal. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011) Dentro de las localizaciones más frecuentes se destacan la cadera, columna, radio y cúbito. Además, dichas fracturas presentan altas tasas de morbilidad y mortalidad. (Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016) La OMS proyecta que 2.4 a 3 millones de personas en el mundo sufrirán fracturas de cadera cada año y, de estos individuos, 200.000 morirán como consecuencia directa de estas fracturas. (Chijani et al., 2012)

Así, los altos costos a nivel sanitario ponen a esta patología en la agenda de consideraciones de políticas de salud en muchos países. (Chijani et al., 2012) En América Latina y Asia se producen una de cada cuatro fracturas de cadera de las ocurridas en el mundo y el número aumentaría a una de cada dos fracturas en el 2050 con un costo anual de aproximadamente trece mil millones de dólares. (Chijani et al., 2012) A modo de ejemplo, en EE.UU ocurren en promedio unas 300.000 fracturas de cadera por año. (Black & Rosen, 2016)

Actualmente, nuestro país es uno de los países con menor tasa de crecimiento de América Latina, con un índice de envejecimiento que lo califica como un país con “envejecimiento avanzado”. (Berriel et al., 2011) Según datos del último censo los mayores de 60 años en Uruguay representan el 19%, siendo el 60% mujeres, y este predominio femenino se acentúa a medida que avanza la edad. (José Zanchetta, 2012)(Berriel et al., 2011) En este contexto, las características epidemiológicas de la osteoporosis y sus complicaciones ponen esta patología en la agenda de las políticas nacionales de Salud Pública. (Chijani et al., 2012)

Sin embargo, pese a las políticas sanitarias adoptadas es bien reconocida la dificultad que existe en nuestro país para el diagnóstico oportuno de esta patología. (Chijani et al., 2012)(Maiche et al., 2019) De hecho, en un estudio de seguimiento de cohorte histórica realizado en Uruguay se encontró que el 85% de los individuos desconocía padecer osteoporosis y el 69% no recibía tratamiento para esta enfermedad. (Maiche et al., 2019) En Uruguay, se estima que hubo 994 fracturas de cadera en el 2009. (José Zanchetta, 2012) En el año 2013 se autorizaron 1.032 artroplastias de cadera por fractura y no existen datos de las fracturas no resueltas mediante implante protésico. (Maiche et al., 2019) En Uruguay, el costo hospitalario indirecto que implica el tratamiento de una fractura de cadera se calcula en unos cinco mil dólares por cada caso. (José Zanchetta, 2012)

2.2 Metabolismo fosfo-cálcico: regulación y cambios asociados a diferentes estados fisiológicos

Si bien el calcio y el fosfato juegan un papel importante en la mineralización ósea, también tienen múltiples funciones en el resto del organismo. (Chijani et al., 2012) Aunque estrictamente reguladas, las concentraciones séricas de fosfato varían a lo largo de la vida en función de las necesidades fisiológicas. (Gómez & Henríquez, 2011) Por el contrario, las concentraciones de calcio sérico ionizado se mantienen dentro de un rango muy estrecho gracias a la acción combinada de dos hormonas, hormona paratiroidea (PTH) y calcitriol, el metabolito activo de la vitamina D. (Komm et al., 2015) Dada su importancia en el mantenimiento de la homeostasis, incluso pequeñas variaciones en la concentración de calcio ionizado son detectadas por un receptor sensible al calcio (CaSR) que está presente en la superficie de las células paratiroideas y en muchos otros tejidos, entre estos el renal. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

Al igual que otros nutrientes, la biodisponibilidad del ion calcio depende de la relación que se establezca entre su ingesta, absorción y excreción. (Chijani et al., 2012) Dicho de otra manera, es posible afirmar que, en el equilibrio del calcio, participan principalmente tres órganos: intestino, hueso y riñón. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Sin embargo, la insuficiencia dietaria de calcio nunca llegará a afectar seriamente sus funciones biológicas, debido a que el organismo mantiene normales los niveles extracelulares de calcio mediante mecanismos muy eficientes que movilizan el calcio desde el hueso, deteriorando la cantidad, estructura y calidad óseas. (Gómez & Henríquez, 2011)

De hecho, una caída en el calcio sérico ionizado conduce a la inactivación del CaSR, lo que estimula la secreción de PTH. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Esta estimula la liberación de calcio y fosfato de los huesos al plasma, reduce la excreción de calcio y estimula la producción renal de calcitriol, este último aumenta la absorción intestinal de calcio y de fosfato. (Brown, Edward M. MAC Leod, 2001) Asimismo, la PTH contribuye también a la homeostasis del fosfato —cuyo principal regulador es un factor de crecimiento fibroblástico, FGF23— disminuyendo su reabsorción tubular renal. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

Es conveniente señalar que, si bien en párrafos anteriores se ha hecho referencia a los niveles séricos de calcio en su forma iónica, en el plasma el calcio está presente en tres formas diferentes. (Gómez & Henríquez, 2011) De hecho, 40 a 45% del ion se une a proteínas plasmáticas (principalmente albúmina), 5-10% está unido a aniones y alrededor del 50% está en forma de calcio ionizado. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Se consideran valores razonables de referencia para el calcio total un rango de entre 2,20- 2,60

mmoles/L. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) La suma de calcio ionizado y calcio unido a iones se conoce como calcio “ultrafiltrable” (estos aproximadamente 10g de calcio circulan diariamente por el plasma y son filtrados por el riñón). (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Para facilitar su comprensión podríamos agrupar los complejos mecanismos que regulan la disponibilidad del ion calcio en tres sistemas: 1) un sistema indicador, representado por la calcemia ionizada, que depende en última instancia de la entrada y salida del elemento desde y hacia el líquido extracelular, 2) un sistema de almacenamiento, representado por el esqueleto, que asegura un reservorio accesible de calcio ionizado cuando su valores descienden y 3) un sistema regulador, representado por las hormonas calciotrópicas, PTH y calcitriol (1,25-dihidroxitamina D3 o simplemente D3), que corrigen las variaciones en el calcio sérico ionizado detectadas por el receptor transmembrana CaSR. (Brown, Edward M. MAC Leod, 2001; Courbebaisse & Souberbielle, 2011) En la figura 3 se esquematizan estos eventos.

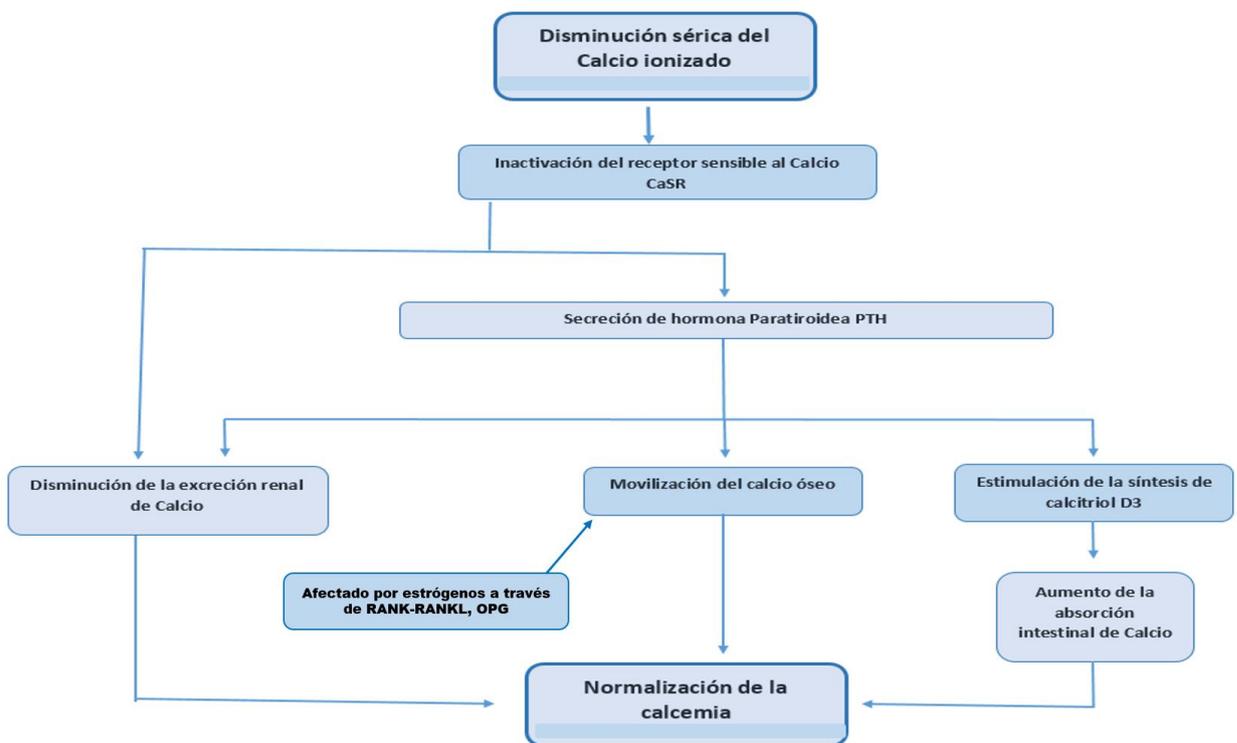


Figura 3: Regulación de la concentración de calcio ionizado. Las variaciones en el calcio ionizado son detectadas por el receptor sensible al calcio presente en la superficie de las células paratiroideas. Si el calcio ionizado disminuye, incluso muy modestamente, las paratiroides secretan PTH cuyo función es elevar el calcio ionizado y disminuir el fosfato. Modificado de (Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

Como se aprecia en la figura 3, la PTH es una de las principales responsables en la regulación de los niveles séricos de calcio ionizado. La PTH es producida y almacenada en vesículas

constantemente por las células paratiroides. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Cuando el calcio ionizado sube, el CaSR, se activa e induce la degradación de PTH en las vesículas de almacenamiento por lo cual secretan fragmentos inactivos de la hormona. (Brown, Edward M. MAC Leod, 2001) Por el contrario, la caída en el nivel de calcio ionizado conduce a una inactivación de CaSR que estimula la secreción de PTH intacta, lo que permitirá una normalización de la calcemia. (Brown, Edward M. MAC Leod, 2001; Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

Hasta aquí, hemos considerado someramente el rol desempeñado por la PTH en el control del metabolismo fosfocálcico; continuaremos ahora con el papel del Calcitriol (D3) un importante regulador del crecimiento y mineralización ósea. La vitamina D, puede ser sintetizada por la piel o ingerida mediante suplementos alimentarios. (Gómez & Henríquez, 2011) Por tal motivo, debería ser considerada más como un prohormona que como una vitamina. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

La síntesis de vitamina D (o colecalciferol) en la piel ocurre a partir del 7-dehidrocolesterol bajo el efecto de ciertas radiaciones ultravioleta B (UVB), en el rango de 290 y 315 nm de longitud de onda. (Umar, Sastry, & Chouchane, 2018) Cualquiera sea su origen (sintetizada o ingerida), la vitamina D es transportada hacia el hígado donde es hidroxilada en posición 25 (25OHD, 25 hidroxicolecalciferol), en una reacción no regulada enzimáticamente, sustrato dependiente. (Gómez & Henríquez, 2011) EL 25OHD así producido es entonces liberado a la sangre, donde será transportado unido a una proteína transportadora, con una vida media de tres semanas. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Por último, las células del túbulo proximal renal ingresan, mediante la acción de una proteína transmembrana, al 25OHD para ser hidroxilado nuevamente, pero ahora en posición 1 y en una reacción catalizada y regulada enzimáticamente por la 1- α - hidroxilasa, dando lugar así a la formación de 1,25 di hidroxicolecalciferol (también vitamina D3 o Calcitriol), el metabolito activo de la vitamina D que tiene una vida media en suero de cuatro horas (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Los fenómenos descriptos se esquematizan en la figura 4.

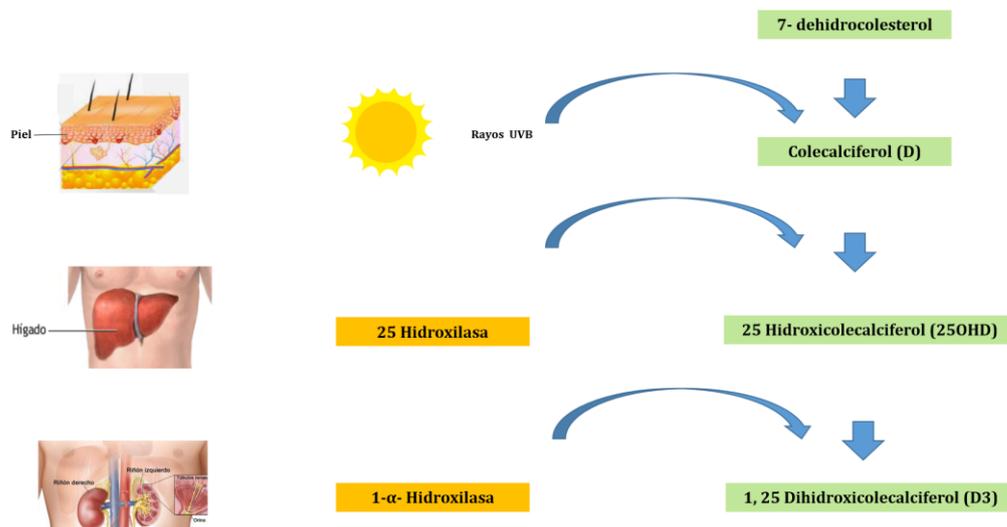


Figura 4: Representación esquemática de la síntesis de calcitriol.

Sin lugar a dudas, la función endocrina mejor conocida de la vitamina D3 es el mantenimiento de la homeostasis fosfocálcica. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Esta función, que desempeña aumentando la absorción intestinal de calcio y fosfato, genera un ambiente favorable para la mineralización. (Gómez & Henríquez, 2011; Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Sin embargo, el calcitriol participa en vías de señalización tanto autócrinas como parácrinas, desempeñando funciones en la regulación de algunos eventos celulares como la proliferación, diferenciación y apoptosis, así como en la regulación autoinmune. (Umar et al., 2018) De hecho, muchas células del organismo expresan no solo un receptor citosólico para la vitamina D (VDR) sino también 1- α -hidroxilasa. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) El receptor VDR pertenece a la superfamilia de receptores hormonales nucleares y es expresado por células paratiroides, pituitarias, linfocitarias, pancreáticas y queratinocitos, entre otros. (Umar et al., 2018) Actualmente, se encuentra bien documentado el rol de la vitamina D en la prevención de enfermedades como, hipertensión diabetes, enfermedad cardiovascular, enfermedades autoinmunes y algunos tipos de cáncer (carcinoma de mama, carcinoma de células escamosas, cáncer de colon y otros). (Courbebaisse & Souberbielle, 2011; Umar et al., 2018)

Tanto la vitamina D, como su metabolito intermedio el 25OHD pueden ser inactivados por acción de la 24 hidroxilasa. (Gómez & Henríquez, 2011) Esta enzima, que hidroxila en posición 24 ambos metabolitos, produce ácido calcitrioico soluble en agua e inactivo biológicamente. (Gómez & Henríquez, 2011)

Debido a su corta vida media, los niveles séricos de vitamina D3 se valoran a partir de la concentración plasmática de 25OHD. Se consideran insuficientes valores séricos de 25OHD

menores a 29 ng/L (72,5 nmol/L). (Umar et al., 2018) La principal fuente de calcitriol es la exposición al sol, que aporta al organismo un 90% de la vitamina D, tan solo algo menos de un 10% procede de la dieta normal o suplementada. (Gómez & Henríquez, 2011) Los alimentos habituales contienen muy poca vitamina D, salvo que estén suplementados y por lo tanto no pueden aportar niveles apropiados de D3. (Gómez & Henríquez, 2011)

Como consecuencia directa de la deficiencia en vitamina D, disminuye un 15% la absorción de calcio, disminuyendo el calcio sérico ionizado. Esto es detectado por los receptores CaSR de las glándulas paratiroideas, resultando en un aumento de la expresión, síntesis y secreción PTH. (Gómez & Henríquez, 2011) Cabe señalar también que, los niveles séricos de calcio pueden ser detectados por otros receptores asociados a proteína G, lo que vincula los niveles plasmáticos del ion con otros mecanismos celulares. (Brown, Edward M. MACLeod, 2001)

Por otra parte, la producción de vitamina D por la epidermis se reduce como consecuencia del uso de cremas de protección solar y también al cubrirse la piel. Asimismo, la obesidad y el envejecimiento reducen la producción de vitamina D por la piel. Además, niveles apropiados de calcitriol no pueden ser aportados por alimentos no suplementados. (Gómez & Henríquez, 2011)

En tanto, los requerimientos biológicos de ion calcio se pueden cubrir fácilmente a través de la dieta. (Gómez & Henríquez, 2011) La absorción del calcio ingerido a partir de los alimentos es entre un 20-60% y ocurre principalmente en el intestino delgado. Con respecto a su metabolismo renal, el 98% del calcio filtrado renalmente es reabsorbido. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Para su absorción intestinal necesita (además de vitamina D) disolverse e ionizarse en el estómago y duodeno proximal, por la acción del ácido clorhídrico del estómago. (Gómez & Henríquez, 2011) La hipoclorhidria de cualquier causa (entre estas el envejecimiento) disminuye la ionización del calcio, y por tanto su absorción. (Gómez & Henríquez, 2011) La hipocalcemia resultante incrementa la secreción de hormona paratiroidea (PTH), que aumenta la resorción ósea y contribuye al desarrollo de osteoporosis. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Los niveles de calcio tiene además acción directa sobre las células óseas, así altos niveles del mismo promueven la formación ósea por parte de los osteoblastos, en tanto rangos inferiores a los normales estimulan la reabsorción ósea por los osteoclastos. (Brown, Edward M. MACLeod, 2001)

De acuerdo con las evidencias, se recomienda una ingesta de calcio mayor o igual a 1.200 mg por día, preferentemente acompañado de vitamina D (\geq 800 UI/día) en el tratamiento preventivo de la osteoporosis en personas mayores de 50 años. (Gómez & Henríquez, 2011) En tanto, ingestas de calcio superiores a 1.200-1.500 mg/día se han asociado con riesgos

cardiovasculares (principalmente en mujeres) y de litiasis renal. (Gómez & Henríquez, 2011)

Los requerimientos de calcio varían en los distintos estados fisiológicos. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) De hecho, los estrógenos participan en la homeostasis del calcio. (Raetz, Bierhalter, Schoenherr, Parameswaran, & McCabe, 2017) La deficiencia en el estrógeno posmenopáusico se asocia con la pérdida de calcio. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011) Existe evidencia de la presencia de receptores de estrógeno en la nefrona distal y de la posibilidad de la hormona de estimular la expresión de un canal de calcio de potencial transitorio (TRPV5, que participa del ingreso del ion a la célula renal), independientemente de los niveles de vitamina D3. (Courbebaisse & Souberbielle, 2011)

Recordemos que la menopausia es un proceso fisiológico caracterizado por la pérdida progresiva de los estrógenos. (Raetz et al., 2017) Tanto la actividad osteoclástica como la osteoblástica se encuentran drásticamente aumentadas en los años próximos a la menopausia. (He et al., 2020) Sin embargo, la falta de estrógenos estimula además la producción de citoquinas inflamatorias, que promueven la actividad de los osteoclastos e inhiben su apoptosis, al mismo tiempo que evitan la diferenciación de nuevos osteoblastos. (Raetz et al., 2017) En conjunto, estos eventos conducen a un predominio de la reabsorción sobre la formación ósea, que puede concluir en osteoporosis. (Raetz et al., 2017)

Asimismo, se ha documentado la asociación existente entre el hipoestrogenismo secundario a la insuficiencia ovárica precoz y un aumento en la morbilidad y mortalidad en mujeres. (Podfigurna-Stopa et al., 2016) La insuficiencia ovárica precoz se caracteriza por la ausencia de la menstruación por un periodo mayor a cuatro meses acompañado de un aumento sérico de la hormona folículo estimulante (FSH >40 IU/L) en una edad anterior a los 40 años. (Podfigurna-Stopa et al., 2016) Los efectos a largo plazo de esta alteración incluyen diferentes órganos y sistemas entre los que se pueden enumerar: óseo (osteopenia, osteoporosis y riesgo aumentado de fracturas), (Komm et al., 2015) sistema cardiovascular (daño en la función endotelial, síntomas vasomotores, aumento de los triglicéridos y colesterol), disfunción cognitiva (problemas de memoria y concentración, riesgo aumentado de demencia), riesgo aumentado de enfermedad tiroidea y autoinmune, hipoestrogenismo, aparato urogenital (desordenes sexuales, irritación y atrofia vaginal), riesgo aumentado de cáncer, riesgo aumentado de muerte prematura, entre otros. (Podfigurna-Stopa et al., 2016) Se ha documentado que la privación de estrógenos produce un aumento en la permeabilidad del epitelio intestinal con la consecuente intrusión de patógenos, lo que desencadena procesos inflamatorios que conducen en última instancia al aumento de la actividad osteoclástica y pérdida de la masa ósea. (He et al., 2020) Del mismo modo, la absorción de calcio por parte del

intestino se ve disminuida como consecuencia de la privación de estrógenos. (L. Sewón et al., 2000; Cydejko et al., 2020)

Por último, en los últimos años han cobrado gran interés los cambios en la microbiota asociados a diferentes procesos fisiológicos y patológicos. (He et al., 2020) Actualmente, son conocidos los cambios que presenta la microbiota del intestino vinculados al envejecimiento. (He et al., 2020) Más aún, se ha demostrado la asociación que existe entre estos últimos y la osteoporosis posmenopáusicas. (He et al., 2020) La microbiota intestinal está compuesta aproximadamente por 10 trillones de bacterias, se ha demostrado un descenso tanto en riqueza comunitaria como en variedad en mujeres con osteopenia y osteoporosis posmenopáusicas. (He et al., 2020)

2.3 Componentes inorgánicos de la saliva: principales consideraciones, calcio salival y salud oral

La saliva es el producto de secreción de las glándulas salivales. (Puy, 2006) Las glándulas salivales son órganos exocrinos (Patel & Barros, 2015) que de acuerdo a su tamaño pueden ser clasificadas como glándulas salivales mayores (que producen el 90% de la saliva) y menores (que producen el 10% restante). (Gutiérrez et al., 2017) Asimismo, la proporción relativa que aporta cada glándula a la saliva total es variable, en estado de reposo la glándula submaxilar produce un 60%, la parótida un 20%, las sublinguales un 7-8% y el resto de la saliva es producida por las glándulas salivales menores. (Patel & Barros, 2015) Esta proporción se invierte durante el estímulo, en el cual la mayor proporción de saliva es aportada por la parótida (65-70%), (Gutiérrez et al., 2017) cobrando también mayor relevancia las glándulas salivales menores. (Patel & Barros, 2015)

Con excepción de la encía, las glándulas salivales se encuentran dispersas por todas las regiones de la boca (Puy, 2006) y de acuerdo a sus características histológicas es posible clasificarlas como serosas, mucosas o mixtas. (Patel & Barros, 2015) La calidad de la secreción producida está estrechamente vinculada con las características histológicas de la glándula, así como por el tipo de estímulo que la desencadena. (Patel & Barros, 2015)

Desde el punto de vista de su inervación, la producción de saliva está regulada por el sistema nervioso autónomo. En conjunto, las glándulas salivales producen entre 0.5-1.0 L de saliva al día. (Gutiérrez et al., 2017) La saliva se secreta estéril, pero deja de serlo inmediatamente cuando llega a la cavidad bucal y se mezcla con el fluido crevicular, restos de alimentos, microorganismos, células descamadas de la mucosa oral y otras sustancias que podrán encontrarse en la cavidad oral. (Puy, 2006)

A nivel fisiológico, el proceso de secreción salival se puede describir como un modelo en dos etapas. Primero, las células acinares producirán una saliva isotónica con respecto al plasma, la saliva primaria. (Patel & Barros, 2015) En segundo lugar, durante el pasaje de la saliva primaria por el sistema de conductos glandulares, las células ductales reabsorben Na^+ y Cl^- al tiempo que transportan hacia luz del conducto K^+ y HCO_3^- dando lugar a una secreción hipotónica. (Patel & Barros, 2015; Tabor et al., 2021)

El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas. (Patel & Barros, 2015; Sejdini et al., 2018) Tanto la cantidad como la calidad de la saliva pueden variar como respuesta a múltiples factores endógenos y exógenos a lo largo de la vida. (Puy, 2006) Solo por enumerar alguno de estos se podrían mencionar, tipo de estímulo (sensitivo, eléctrico o mecánico), situaciones fisiológicas (edad, número de dientes presentes en la boca, sexo, peso corporal o momento del día), medicamentos (más de 400 medicamentos afectan el flujo salival), condiciones patológicas (diabetes, hipertensión, deshidratación, Síndrome de Sjögren), radioterapia, entre otros. (Puy, 2006)

Por otra parte, la saliva es el principal mecanismo de defensa de las estructuras presentes en la cavidad oral. (Cydejko et al., 2020) Las funciones protectoras de la saliva, son bien conocidas y se resumen en la tabla 1. (Sejdini et al., 2018)(Patel & Barros, 2015)(Puy, 2006)(Betancor, 1990) Del análisis de estas funciones se puede concluir que: un flujo salival (volumen de saliva por minuto) insuficiente causará un desbalance en la microbiota oral pudiendo desencadenar diferentes procesos patológicos, tales como una mayor incidencia de caries dental y paradenciopatías, mucositis oral, disfagia, infecciones orales, alteración del gusto, etc. (Cydejko et al., 2020)

Funciones	Componente
Lubricación	Mucina, Glicoproteínas ricas en prolina, agua
Antimicrobiana	Lisozima, Lactoferrina, Peroxidasa Salival, Mucinas, Cistinas, Histatinas, Inmunoglobulinas, Proteínas ricas en Prolina, SIgA
Mantenimiento de la integridad de la mucosa	Mucinas, Electrolitos, agua
Limpieza/Aclaramiento	Agua
Capacidad tampón	Bicarbonato, fosfato, Histatinas
Remineralización	Estaterinas, Proteínas ricas en Prolina, Calcio, Floruro
Preparación de los alimentos para la deglución	Agua, Mucinas
Digestión	Amilasa, Lipasa, Ribonucleasas, Proteasas, agua, Mucinas
Sabor	Agua, Gustina
Fonación	Agua, Mucina

Tabla 1: Funciones y componentes de la saliva. (Puy, 2006)

Entre los componentes orgánicos de la saliva (si bien es posible encontrar representantes de todos los tipos de biomoléculas), las proteínas desempeñan un papel central en el cumplimiento de las funciones salivales. (Betancor, 1990; Puy, 2006; Patel & Barros, 2015) Por otro lado, los principales electrolitos que encontramos en la saliva humana son: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , PO_4^{3-} , SCN^- y F^- . (Betancor, 1990; Patel & Barros, 2015)

Como se mencionó anteriormente, la proporción de estos electrolitos varía sustancialmente en relación a diferentes eventos por ejemplo, la glándula de origen, el tipo de estímulo, la hora del día y muchos más. (Betancor, 1990; Patel & Barros, 2015) Solo a modo de ejemplo, el estímulo masticatorio produce un aumento en el flujo salival, a expensas principalmente de la glándula parótida; estos cambios traen consigo variaciones en la composición iónica de la saliva con un aumento franco de la concentración de bicarbonato (HCO_3^-). (Patel & Barros, 2015) Asimismo, la proporción relativa de electrolitos en saliva puede variar en relación con uso de sustancias o medicamentos, así por ejemplo el hábito de fumar se ha asociado con mayores niveles de tiocianato (SCN^-) en saliva. (Puy, 2006) Del mismo modo, eventos fisiológicos, como la menopausia, o patológicos, como la fibrosis quística, pueden alterar la proporción relativa del componente inorgánico. (Puy, 2006)

De lo expuesto hasta aquí, es posible concluir que los cambios en la composición salival no solo tendrán un impacto directo sobre la salud de las estructuras presentes en la cavidad bucal (Patel & Barros, 2015; Pateel et al., 2017), sino que también podrán reflejar condiciones sistémicas ya sea que estas tengan o no manifestaciones orales. (Puy, 2006; Singh, Sheikh, Pallagatti, Kaur, & Sohi, 2013; Tabor et al., 2021) A continuación, nos limitaremos a considerar únicamente la asociación que existe entre las variaciones en la concentración salival de calcio y diferentes estados tanto fisiológicos como patológicos.

Un dato importante a señalar, es que, de acuerdo a la gran mayoría de los estudios realizados, la concentración salival de calcio no varía con el flujo salival, de hecho se ha reportado de forma sostenida a lo largo del tiempo, que es el único electrolito salival cuya concentración permanece constante frente a la estimulación salival. (Betancor, 1990; Rabiei et al., 2019) La actividad salival del ion calcio es del orden de $0.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ (A. Thylstrup, 1988) o de 5 a 9 $\text{mMol}/100\text{mL}$ dependiendo el tipo de glándula (Betancor, 1990) La concentración media de calcio obtenida en un estudio de corte transversal realizado sobre 72 sujetos fue de 3,87 mg/mL . (Pateel et al., 2017)

La importancia del ion calcio en el mantenimiento de la homeostasis del organismo ya ha sido citada en este mismo capítulo. Como es de esperar, su papel en el mantenimiento de la salud oral no dista mucho de lo expresado con anterioridad. (Pateel et al., 2017; Puy, 2006) En efecto, se ha establecido la relación que existe entre la concentración del ion y las dos

enfermedades orales más prevalentes, caries y paradenciopatías. (Pateel et al., 2017; Sejdini et al., 2018)

La caries dental es un problema de salud pública con un alto grado de morbilidad y elevada prevalencia, esta patología afecta casi al 99 % de la población mundial. (Velásquez, Pérez-Ybarra, Urdaneta, & Pérez-Domínguez, 2019) El proceso de la caries se inicia mucho antes de que la lesión cariosa pueda apreciarse, así la fermentación de azúcares por las bacterias de la placa dental conduce a la producción de ácidos orgánicos que reducen el pH del medio, provocando en última instancia un desequilibrio del proceso dinámico de desmineralización remineralización. (Puy, 2006) Dicho de otro modo, el desarrollo de la caries dentaria se inicia cuando se rompe el equilibrio dinámico entre remineralización y desmineralización, lo que afecta la integridad fisicoquímica de la apatita del esmalte debido a la liberación e incorporación de iones como el calcio y el fosfato. (Velásquez et al., 2019) La lesión cariosa así formada se diferencia de otras lesiones dentarias (como la erosión) en que la pérdida de mineral de la caries es subsuperficial. (Puy, 2006) Un parámetro clínico importante vinculado al desarrollo de la caries dental es el pH crítico, que representa el pH en el cual el esmalte dental comienza a disolverse. (Dawes & Wong, 2019) Algunos estudios muestran valores inferiores de flujo salival, pH, capacidad amortiguadora y concentración de calcio, en la saliva de escolares con caries dentaria. (Velásquez et al., 2019) En efecto, el calcio es el elemento más importante al momento de mantener la sobresaturación de la saliva con respecto al mineral dentario, proporcionando así una barrera a la desmineralización. (Puy, 2006) Altos niveles en la concentración de calcio salival se han correlacionado con un bajo número de caries, en tanto un mayor número de lesiones cariosas se asoció con concentraciones menores del ion. (Sejdini et al., 2018)

Asimismo, la enfermedad periodontal es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta las estructuras de soporte dentario. (Goyal et al., 2017) Diferentes índices son utilizados para valorar la pérdida de inserción dentaria, entre estos la pérdida clínica de inserción (CAL, por su sigla en inglés), es considerado mejor indicador que los otros. (Goyal et al., 2017) Tanto meta análisis como revisiones sistemáticas realizadas demostraron que existe una relación estrecha entre la pérdida de soporte periodontal valorado por CAL y la densidad mineral ósea, en mujeres menopáusicas con osteoporosis. (Goyal et al., 2017; Penoni et al., 2018)

Si bien muchos estudios han correlacionado un aumento en la concentración salival de calcio con la tendencia a formar sarro tanto supra como infra gingival, esta relación no determina la cantidad de sarro formado. (Pateel et al., 2017) Cabe señalar en este momento que, de acuerdo con la teoría de la precipitación mineral para formación de sarro, la

calcificación de la placa dental ocurrirá a un pH tal que las concentraciones de calcio y fosfato sean lo suficientemente altas como para permitir la precipitación de una sal de fosfato de calcio. (Sharma et al., 2012) No obstante, algunos estudios han demostrado que a pesar del aumento estadísticamente significativo en los niveles salivales de calcio y fosfato, no se observó la formación de cálculos dentales en los sujetos que mantenían un adecuado control de la placa bacteriana dental (Sharma et al., 2012)

Por otra parte, se ha demostrado, un aumento en la concentración del calcio salival asociado al hábito de fumar. (Liisi Sewón et al., 2004) Recordemos que el hábito de fumar no solo es un factor de riesgo fuertemente asociado a la periodontitis sino también a la osteoporosis. (Liisi Sewón et al., 2004) Sin embargo, la etiopatogenia de estas enfermedades es diferente. (Liisi Sewón et al., 2004) Un dato interesante a señalar es que los pacientes fumadores mostraron tanto un aumento en la concentración del calcio salival como una reducción en la densidad mineral ósea (próximo a osteopenia). (Liisi Sewón et al., 2004) Por otra parte, la rápida mineralización de la placa dental como consecuencia del aumento de la concentración local de calcio dificulta la remoción de la misma por el paciente, contribuyendo a los procesos inflamatorios que conducen a la enfermedad periodontal. (Liisi Sewón et al., 2004) Sin embargo, la estandarización de las técnicas de higiene oral en pacientes fumadores y no fumadores mostró que no existen diferencias significativas en la formación de placa dental entre ambos grupos. (Liisi Sewón et al., 2004)

Además, se ha demostrado que la formación de sarro está más estrechamente vinculada con la concentración salival de estaterina (una proteína salival con alta afinidad por el calcio y la hidroxiapatita) que con la concentración de calcio. (Pateel et al., 2017) Por otra parte, la pérdida ósea asociada a la osteoporosis ha mostrado relación con un aumento en la progresión de la enfermedad periodontal. (Liisi Sewón et al., 2004) Además, meta análisis realizados han mostrado que las mujeres con osteoporosis posmenopáusica exhiben una mayor pérdida de inserción periodontal que aquellas con una densidad ósea normal y muestran mayor probabilidad de desarrollar periodontitis severa, con la consecuente pérdida dentaria. (Penoni et al., 2018)

También, se han analizado diferentes parámetros salivales en relación al síndrome de boca seca, entre estos la concentración de calcio. En este síndrome, la disminución del flujo salival de reposo no solo trae complicaciones en la salud oral sino que conduce a repercusiones sistémicas. (Agha-Hosseini et al., 2012) Contrariamente, el flujo de saliva estimulada no presenta variaciones significativas entre las mujeres que padecen este síndrome y las que no lo hacen. (Agha-Hosseini et al., 2012) La sensación de boca seca ha sido fuertemente asociada con la menopausia. (Agha-Hosseini et al., 2012) En efecto, la sequedad oral es uno

de los síntomas orales más comúnmente informados por las mujeres menopáusicas, no obstante, la prevalencia y gravedad de los síntomas parece no ser proporcional a la cantidad de saliva secretada. (Cydejko et al., 2020) Se han demostrado, al comparar grupos de mujeres que padecen este síndrome, que si bien los cambios cuantitativos en la producción de saliva son despreciables los cambios cualitativos pueden ser relevantes. (Agha-Hosseini et al., 2012) Entre los parámetros que mostraron variación, la concentración salival de calcio (tanto en saliva estimulada como no estimulada) se encontró aumentada en el grupo de mujeres con sensación de boca seca en relación con el grupo control, en tanto los niveles séricos del ion no mostraron variaciones entre ambos grupos. (Agha-Hosseini et al., 2012; Cydejko et al., 2020)

Otro problema común y complejo en la práctica odontológica, directamente relacionado con el hueso alveolar, es la pérdida de reborde residual en pacientes edéntulos. (Mercier & Inoue, 1981) Algunos estudios han demostrado una asociación no significativa entre la pérdida de reborde mandibular y el grado de desmineralización a nivel del esqueleto tanto en hombres como en mujeres. (Mercier & Inoue, 1981)

Es interesante destacar en este momento que algunos parámetros que han demostrado afectar la concentración salival de calcio afectan también el flujo salival, tal es el caso por ejemplo de la edad y el hábito de fumar. (Liisi Sewón et al., 2004; Rabiei et al., 2013) Si recordamos que el proceso de pérdida de densidad ósea ha demostrado tener como factores de riesgo la edad y el hábito de fumar, se puede suponer que ambos fenómenos (la concentración salival de calcio y la densidad ósea) pudieran estar vinculados entre sí. (Rodríguez et al., 2001) De hecho, debido a que tanto la osteoporosis como la enfermedad periodontal comparten múltiples factores de riesgos, son muchos los estudios que han tratado de establecer relación entre ambas condiciones. (Goyal et al., 2017) Es más, una revisión sistemática realizada mostró una fuerte asociación entre la densidad ósea a nivel central y la pérdida de inserción periodontal. (Goyal et al., 2017) Además, estudios de caso control muestran que existe una relación estadísticamente significativa entre el índice periodontal CAL y la pérdida de densidad mineral por osteoporosis, sugiriendo la posibilidad de utilizar la valoración ósea con radiografías periapicales como herramienta de tamizaje y monitoreo para osteoporosis. (Mohammed S. Ayed et al., 2018)

2.4 La saliva como medio de diagnóstico, medios de determinación del calcio salival

Si bien el estudio de algunos parámetros salivales comenzó a principios del siglo XX (Dawes & Wong, 2019) el uso de la saliva como medio alternativo para el diagnóstico o monitoreo de determinadas enfermedades ha cobrado relevancia en las últimas tres décadas. (Rabiei

et al., 2013; Patel & Barros, 2015) Dos pioneros en este campo, fueron Becks y Wainwright, quienes publicaron una serie de artículos entre las décadas de 1930 y 1940, en estos reportaban sobre flujo salival y las concentraciones de calcio y fosfato en la saliva humana total. (Dawes & Wong, 2019) En contraste con los estudios vinculados a los electrolitos salivales, los estudios referentes a la composición, estructura y función de las diferentes proteínas o glicoproteínas salivales mostró pocos avances hasta el desarrollo más reciente de técnicas de biología molecular. (Dawes & Wong, 2019) Los avances logrados en las tres últimas décadas en la metodología analítica del laboratorio y en el desarrollo de numerosas técnicas y dispositivos para la obtención de muestras de saliva en volúmenes suficientes y con las características adecuadas han permitido el empleo de muestras de saliva para determinar numerosos marcadores biológicos y analitos bioquímicos en diversas condiciones fisiológicas, patológicas, metabólicas, hormonales, infecciosas y de medicina legal. (Gustavo Barriga Angulo, 2019)

De hecho, en las últimas décadas el estudio de las ómicas se ha popularizado, estos estudios están relacionados al análisis de las moléculas biológicas e incluyen la genómica, proteómica, epigenómica, metabolómica y transcriptómica. (Patel & Barros, 2015) Así, la salivaómica representa el estudio de los constituyentes ómicos de la saliva, la gran cantidad de datos recabados hasta la fecha ha conducido al desarrollo por parte de un grupo de investigación de la Universidad de California de un sistema de gestión de datos llamado Salivao-mics base de conocimientos (SKB, por su sigla en inglés). (Patel & Barros, 2015) A modo de ejemplo, en el año 2008 estudios realizados sobre la composición proteica de la saliva procedente de las glándulas salivales mayores detectó 914 proteínas en saliva parotídea y 917 en saliva submandibular/sublingual, la mayoría en concentraciones muy bajas. (Dawes & Wong, 2019). Cabe destacar que han sido detectadas más de 3000 proteínas en la saliva total humana, que proceden en conjunto de las glándulas salivales, las células epiteliales descamadas, el fluido crevicular y los microorganismos orales. (Dawes & Wong, 2019)

Además, durante la última década, muchas organizaciones internacionales han apoyado la opción de utilizar la saliva como medio de diagnóstico. (Paul Desmond Slowey, 2015) Entre estas, el Instituto Estadounidense de Odontología e Investigación craneofacial, la Asociación Dental, la Asociación Americana de Investigación Dental, y la Federación Dental Internacional han respaldado diversos enfoques utilizando diagnósticos salivales. (Paul Desmond Slowey, 2015)

Por otro lado, el uso de la saliva como instrumento diagnóstico presenta ventajas sobre otros fluidos, es un método no invasivo, de fácil accesibilidad, de bajo costo y sin métodos cruentos para obtener la muestra, que no requiere personal altamente calificado para su

recolección. Además, el procesamiento posterior así como la eliminación de la muestra son sencillos y de bajo costo. (Puy, 2006 ; Paul Desmond Slowey, 2015) Asimismo, la saliva es rica en más de mil biomarcadores de diagnóstico para la inflamación crónica y la destrucción de tejidos. (Ramenzoni et al., 2021) También, es una vía prometedora para el control de determinados medicamentos, drogas o sustancias, incluyendo hormonas y biomarcadores, entre otros. (Puy, 2006) Por lo tanto, la saliva es una herramienta muy útil para monitorear no solo la salud bucal, sino también la sistémica. (Ramenzoni et al., 2021)

Está bien documentado que diversos elementos (que no son constituyentes habituales de la saliva) pueden llegar a ella, a través de rutas intra y extracelulares. (Puy, 2006) Las vías intracelulares más habituales son la difusión pasiva y el transporte activo, mientras que la ultrafiltración a través de las uniones celulares estrechas es el mecanismo extracelular más conocido. (Puy, 2006)

Asimismo, la saliva es un buen indicador de los niveles plasmáticos de diversas sustancias tales como hormonas y drogas. (Puy, 2006) En efecto, se considera a la saliva como un ultrafiltrado del plasma sanguíneo y como tal un “espejo de la salud sistémica”. (Paul Desmond Slowey, 2015) Diferentes estudios la han utilizado para monitorizar los niveles de sustancias como litio, carbamacepinas, barbitúricos, benzodiazepinas, fenitoína, teofilina, ciclosporina, cocaína y etanol. (Puy, 2006; Dawes & Wong, 2019) También, las hormonas de menor peso molecular y liposoluble se pueden detectar en la saliva con fiabilidad. (Puy, 2006) De hecho, se ha demostrado una alta correlación entre la concentración salival y plasmática para hormonas como el cortisol, la aldosterona, la testosterona, el estradiol o la insulina. (Puy, 2006)

Como se comentó anteriormente, en estados fisiológicos como la menopausia los cambios que ocurren en los niveles de hormonas esteroideas reducen la absorción intestinal de calcio, alterando la regulación del metabolismo fosfocálcico, resultando en una mayor liberación de calcio tanto en el suero como en la saliva. (Cydejko et al., 2020) De hecho, estudios de caso control han demostrado que la concentración media de calcio salival de mujeres menopaúsicas es significativamente mayor que la del grupo control. (Cydejko et al., 2020)

En algunas patologías, como la enfermedad celiaca, la detección en saliva de IgA y anticuerpos antigliadina muestra una alta especificidad y una baja sensibilidad, al contrario de lo que sucede con las determinaciones en suero que son altamente sensibles y menos específicas. (Puy, 2006) En el síndrome de Sjögren, además de la reducción del flujo salival se ha demostrado un aumento de la concentración de sodio, cloro, IgA, IgG, lactoferrina,

albúmina, $\beta 2$ microglobulina, cistatina C y S, lípidos y mediadores inflamatorios (prostaglandina E2, tromboxano B2 y la interleucina-6). (Puy, 2006)

También, pueden detectarse en la saliva marcadores asociados a enfermedades malignas, como anticuerpos frente a la proteína p53. (Puy, 2006) En efecto, diferentes grupos de investigación demostraron la utilidad potencial de la saliva en la detección de biomarcadores asociados al cáncer de mama, próstata, oral, ovario y páncreas. (Gustavo Barriga Angulo, 2019) (Paul Desmond Slowey, 2015) Además, el ADN tumoral circulante (ctDNA) un tipo de ADN libre de células, que se desprende de las células tumorales en el sistema circulatorio, también ha sido detectado en otros fluidos, incluida la saliva humana. (Dawes & Wong, 2019) Del mismo modo, estudios epidemiológicos han utilizado saliva para la determinación de enfermedades víricas como el VIH, el HPV y la hepatitis A, B y C. (Patel & Barros, 2015)(Puy, 2006) (Dawes & Wong, 2019)

Retomando, respecto a los componentes inorgánicos vinculados a la cavidad oral, si bien se conocen seis tipos diferentes de fosfato de calcio que se pueden formar dependiendo de las condiciones fisicoquímicas del medio, solo cuatro se han identificado en el sarro dental, y solo una (la Hidroxiapatita no estequiométrica) se encuentra en el esmalte y la dentina. (Dawes & Wong, 2019) Al igual que en otras muestras biológicas, las concentraciones de iones salivales pueden determinarse mediante la utilización de electrodos selectivos de ion, absorción o emisión atómica y métodos espectrofotométricos tradicionales. (Gustavo Barriga Angulo, 2019)

Con respecto al nivel de calcio ionizado, este puede determinarse por medios colorimétricos mediante el método Arsenazo III, que implica el uso del metalcromógeno Arsenazo III, que al unirse a los iones de calcio, produce un complejo coloreado cuya absorbancia se puede medir a 650 nm. (Cydejko et al., 2020) El Arsenazo III tiene una gran afinidad por los iones de calcio y no interfiere con otros cationes que normalmente se encuentran en el suero, el plasma, la orina o la saliva. (Cydejko et al., 2020) La intensidad del color medida a 650 nm es proporcional a la concentración de calcio en la muestra analizada. (Cydejko et al., 2020) La figura 5 muestra la fórmula estructural de la molécula de arsenazo III y su viraje de color en función de la concentración de calcio. La relación entre la absorbancia y la concentración de calcio es lineal hasta 20 mg/dL. Esto implica que para valores superiores, se deberá repetir la determinación empleando la muestra diluida al 1:2 ó 1:4 con solución fisiológica y multiplicar el resultado obtenido por 2 ó 4 respectivamente. Con respecto al límite de cuantificación: de este método, es decir la mínima concentración de calcio detectable por este método es, de 2,5 mg/dl.(weiner lab., 2022) La utilización de esta técnica está ampliamente difundida en suero y orina.

Otros métodos colorimétricos similares para determinar la concentración de ion calcio consisten en la utilización de cresoltaleín complexona, que a pH alcalino (pH= 11) reacciona con el calcio dando lugar a un complejo color magenta que se mide fotocolorimetricamente a 570 nm. (weiner lab., 2022) (Pereira et al., 2018)

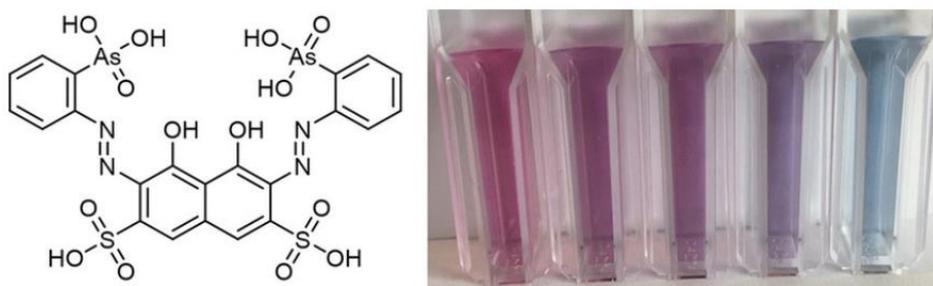


Figura 5: Formula estructural del arsenazo III-Variación de color en respuesta a diferentes concentraciones de calcio.

Como ya se mencionó anteriormente, la concentración de ion calcio puede determinarse por el uso de electrodos sensibles al ion. (Gustavo Barriga Angulo, 2019) Un electrodo selectivo a iones utiliza las medidas de los potenciales eléctricos en soluciones para calcular las concentraciones de un tipo preciso de ion. (Wahab, Salama, Saeid, & Battisha, 2018) Un electrodo selectivo a iones se compone de tres elementos: 1) un electrodo selectivo (sensible al ion específico), 2) un electrodo de referencia (comúnmente de Ag/AgCl) y 3) un dispositivo de medida de potencial (que permite medir la tensión de la celda que forman los electrodos referencia y selectivo) (Gaihier, 2015) El electrodo selectivo está formado por una membrana selectivamente permeable al ion y una solución con concentración conocida de este. (Gaihier, 2015) De esta forma cuando el electrodo es sumergido en una solución problema, con concentración desconocida del ion en cuestión, este comienza a difundir a favor de un gradiente negativo de concentración, hasta alcanzar el equilibrio, estableciéndose así un potencial transmembrana (detectado por el potenciómetro) que se corresponde con el potencial de Nernst, proporcionalmente relacionado con la concentración iónica. (Gaihier, 2015) La figura 6 esquematiza los principales componentes de un electrodo sensible. Un electrodo selectivo a iones usa las propiedades de algunos materiales de membrana para producir un potencial eléctrico (fuerza electromotriz) determinando así la concentración del ion en solución. El electrodo sensible tiene una membrana selectiva en contacto con la solución muestra y una solución interna con iones muestras de concentración fija. En los electrodos sensibles al calcio la membrana es generalmente de PVC con una molécula orgánica (ionóforo) que se une con los iones de calcio y los transporta. Inicialmente, cuando el electrodo está sumergido en la solución muestra, la diferencia de potencial es nula porque no hay diferencias de concentración a

cada lado de la membrana. Sin embargo, sumergido en la solución problema muy poco tiempo después los iones de calcio empiezan a difundir a través la membrana. De esta forma, los iones van del lado con la concentración de calcio más elevada al lado menos concentrado. El transporte de los cationes de calcio a través de la membrana por difusión provoca la formación de una carga positiva en un lado y por consiguiente una carga negativa al otro. El potencial que existe en este equilibrio es el potencial de la membrana y se calcula según la ecuación de Nernst para un ion específico en solución. (Gaihier, 2015)

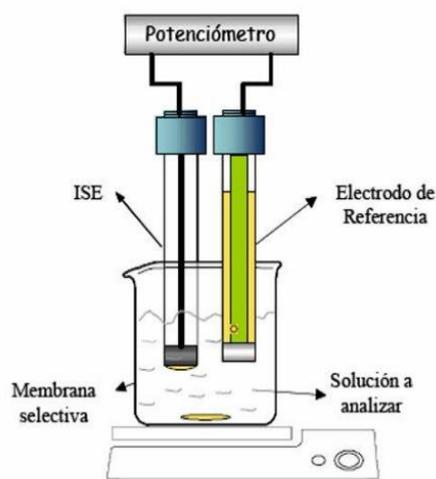


Figura 6: Esquema de montaje utilizado para mediciones potenciométricas con electrodos selectivos. (Gaihier, 2015)

Por último, con respecto a la determinación en saliva de biomarcadores de remodelado óseo se ha podido establecer que los niveles de fosfatasa alcalina y telopeptido C-terminal de colágeno tipo I varían de manera comparable en saliva y en sangre. (Pellegrini, Chaves, & Somoza, 2006) Sin embargo como se mencionó anteriormente estos marcadores no son efectivos para predecir por sí solos el estado óseo y su uso se limita al monitoreo de terapias antireabsortivas. (Bolívar et al., 2022)

Hasta aquí, hemos establecido las dificultades existentes en el diagnóstico precoz de osteoporosis, así como las limitaciones de las técnicas utilizadas. Del mismo modo se comentaron los principales métodos de determinación para la concentración de calcio que se encuentran más ampliamente difundidos en suero y orina, al igual que las ventajas que implica el uso de saliva como medio de diagnóstico. De esto surge la necesidad de estandarizar una técnica para la determinación de calcio salival que pudiera ser el punto de partida para nuevos estudios hacia el diagnóstico precoz de osteoporosis.

3. HIPOTESIS

En base a lo expuesto hasta aquí, el presente estudio se plantea la siguiente hipótesis: la concentración salival de calcio está correlacionada con la densidad ósea en mujeres en edad menopáusica, y en particular está aumentada en pacientes con densidad ósea disminuida y por ende en riesgo de osteoporosis.

4. OBJETIVOS

De acuerdo a la hipótesis planteada en este trabajo, se proponen los objetivos que se enumeran a continuación:

- Objetivo general: cuantificar la correlación entre la concentración de calcio salival y la densidad ósea en mujeres menopáusicas
- Objetivos específicos:
 - Poner a punto un método de determinación de calcio salival basado en una técnica colorimétrica, y aplicarlo en mujeres menopáusicas que ya cuentan previamente con mediciones de densidad ósea mediante DEXA.
 - Determinar los niveles de calcio salival en mujeres menopáusicas mediante la técnica colorimétrica puesta a punto, y ver si existe relación entre dichos niveles y la densidad ósea en estas mismas pacientes medida por DEXA

5. MATERIALES Y METODOS

En base a la evidencia mencionada hasta aquí, a la hipótesis planteada, atenta a la concreción de los objetivos establecidos y de acuerdo a las consideraciones éticas pertinentes, se estableció para este estudio el plan de trabajo que se detalla a continuación. El modelo de estudio desarrollado fue un estudio descriptivo transversal. El mismo fue realizado involucrando dos instituciones, por un lado la Facultad de Odontología de la Universidad de la República (en adelante FO) y por otro el Centro Hospitalario Pereira Rosell (en adelante CHPR). Los avales de los servicios institucionales involucrados se presentan en el anexo 1. De acuerdo a las normativas y consideraciones éticas vigentes, el protocolo de investigación fue presentado ante el Comité de Ética de la FO y el Comité de Ética del CHPR para su análisis y aprobación, inscripto en la unidad de investigación de la Facultad de Odontología (UIFO) y registrado frente a la División de Evaluación Sanitaria-Dirección General de la Salud del Ministerio de Salud Pública (ver anexo 4). La aprobación por parte de los comités de ética involucrados se presenta en los anexos 2 y 3. El proyecto fue presentado y aprobado ante la Comisión Académica de Posgrado de la Facultad de Odontología en el mes de diciembre del año 2021. Las responsables del proyecto en cada

una de las instituciones mencionadas son la Dra. Stephanie Viroga por el CHPR y la Dra. Bernadet Herrera por la FO.

Con el fin de organizar mejor los contenidos analizados en este capítulo, el mismo se dividirá en cinco secciones. En las siguientes secciones de este capítulo se tratarán en forma detallada los siguientes puntos: 5.1 recolección de datos, 5.2 determinación colorimétrica de calcio, 5.3 operacionalización de las variables, 5.4 presentación de datos y 5.5 análisis de datos

5.1 Recolección de datos

Los datos recabados en este estudio proceden de diferentes fuentes. Estas incluyen la historia clínica del paciente, el análisis bioquímico de la muestra salival obtenida y la anamnesis del paciente recabada en un cuestionario (ver apéndice 1). Para la toma de la muestra se utilizó una técnica de muestreo aleatorio simple. Considerando un nivel de significación del 5% y una potencia del 80%, se estimó que el tamaño de muestra necesario para una correlación (moderada) de al menos -0.6, entre la concentración de calcio salival y la densidad ósea debería ser de al menos 19 individuos. (Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, 2013)

La población de estudio fueron mujeres posmenopáusicas procedentes de la Clínica Ginecológica del CHPR, que recibieron la indicación médica para la realización de DMO por parte del médico tratante y se la realizaron en un periodo comprendido entre el segundo semestre del año 2021 y el primer trimestre del año 2023. Es decir, la población consiste en mujeres posmenopáusicas con densitometría ósea ya realizada. El Servicio de Gestión de Consultas del CHPR-ASSE facilitó de forma periódica una planilla en formato Excel en las que se registraron en total los datos de 95 pacientes postmenopáusicas con indicación de densitometría ósea. De acuerdo a los datos clínicos adjuntados en esta planilla y en base a los criterios de inclusión y exclusión, que se detallan más adelante en esta sección, la población mencionada fue reducida a 46 mujeres. A este grupo, se les envió por medio digital una carta con toda la información pertinente respecto al estudio (apéndice 3). Las pacientes interesadas en participar se comunicaron con el grupo de investigación por los medios de contacto que se detallaron en dicha carta informativa.

Luego de manifestar su interés en participar de forma voluntaria en el estudio (total 26 mujeres), se les brindó a todas las pacientes una explicación verbal de la naturaleza del estudio, se respondieron las preguntas realizadas y se les solicitó el consentimiento informado (se adjunta en el apéndice 2) debidamente firmado.

El procedimiento de muestreo resumido en el párrafo anterior se detalla en este párrafo. Luego de analizados los datos de las 95 pacientes, enviadas por el CHPR, fueron excluidas

del estudio 49 mujeres posmenopáusicas por presentar alguno o varios de los criterios de exclusión que se resumen en la tabla 2. Dado que las osteopatías pueden alterar o interferir con los resultados obtenidos en la DMO (ver sección 2.1), uno de los criterios de exclusión fue la presencia de una osteopatía previa diagnosticada. (Lorente Ramos et al., 2012) Asimismo, en pacientes con polifarmacia debido a un tratamiento oncológico en curso pueden existir alteraciones en la cantidad y calidad de la saliva, dado que dichas alteraciones representan efectos secundarios de numerosos fármacos, ver sección 2.3, (Puy, 2006). , y por otra parte los tratamientos de radioterapia tienen conocidos efectos sobre las glándulas salivales. (Carol-Anne Murdoch-Kinch, Hyugnjin M. Kim, 2008), mientras que la terapia antitumoral hormonal con inhibidores de la aromatasa (como por ejemplo Letrozole, Anastrozol) tiene efectos secundarios sobre el tejido óseo. (Eastell & Hannon, 2005) . Por ende, otro de los criterios de exclusión fue la presencia de un tratamiento oncológico en curso o historia de terapia antitumoral hormonal. Por último, también se tomó como criterio de exclusión la proveniencia del interior del país, dado que dichas pacientes no reciben asistencia ginecológica en el CHPR, lo que impide que la recolección de datos (anamnesis y muestra salival) se lleve a cabo en una sola instancia coincidente con la consulta ginecológica de la paciente en el centro hospitalario.

Los criterios de inclusión también se resumen en la tabla 2 y se enumeran a continuación. Fueron incluidas en el estudio mujeres posmenopáusicas con al menos 12 meses de amenorrea (Rabiei et al., 2013), sin tratamiento con drogas antirreabsortivas (Penoni et al., 2018) ni terapia hormonal de remplazo. (Komm et al., 2015)

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Mujeres posmenopáusicas	Osteopatía * diagnosticada
Determinación de la DMO realizada.	Tratamiento oncológico en curso
Usuaris del CHPR	Historia de tratamiento oncológico
	Con terapia antireabsortiva u hormonal.

Tabla 2: Criterios de selección de la muestra. (*espondiloartrosis, fracturas, lesiones óseas líticas o esclerosas)

Luego, aquellas pacientes que cumplieron con los criterios de selección (total 46) fueron invitadas a participar del estudio, como se indicó previamente en esta sección y de estas 26 pacientes comunicaron su interés en participar y fueron incluidas en el estudio. Como se mencionó en la sección 2.1 de este trabajo, varios datos pueden surgir de la anamnesis del paciente que pueden indicar un riesgo aumentado de padecer osteoporosis. En consideración a esto, se les solicitó a todas las pacientes llenar un cuestionario que se adjunta en el apéndice 1 y recaba información sobre algunos de los factores de riesgos más relevantes de padecer osteoporosis. (Chijani et al., 2012) Los datos recabados en este cuestionario se adjuntan en el apéndice 4 tabla 4-1.

Por otra parte, los datos concernientes a la densidad ósea fueron recabados desde la historia clínica de la paciente. Los mismos fueron extraídos a partir de la densitometría ósea realizada por DEXA, que como se mencionó es el método de valoración de la arquitectura ósea más ampliamente aceptado hasta la fecha. (Lorente Ramos et al., 2012; Bolívar et al., 2022)) El procedimiento de determinación de la DMO fue realizado usando Lunar Prodigy Advance DXA System (versión 12,30) fabricado por GE Healthcare en el Instituto Nacional de Reumatología durante el periodo comprendido entre el último semestre del 2021 y el último semestre del año 2022.

Por último, con respecto a la toma de la muestra de saliva y teniendo en cuenta los múltiples factores que pueden afectar su composición (ver sección 2.3), se utilizó una técnica de recolección de saliva estimulada siguiendo un protocolo estandarizado.

Para evitar las variaciones circadianas, las muestras de saliva fueron recolectadas a la misma hora del día y los rangos de secreción salival medidos entre las 8:30 am y las 12:30 pm. Las pacientes fueron instruidas a cepillarse los dientes y pasarse hilo dental previo al estudio al menos una hora antes. A todos los participantes se les solicitó no comer, beber ni higienizarse los dientes al menos una hora antes de recolección de las muestras. Antes de la recolección de saliva los participantes se enjuagaron la boca profusamente con agua deionizada.

La recolección de las muestras de saliva fue realizada por la Dra. María Bernadet Herrera, de acuerdo al protocolo presentado, el mismo día que la paciente concurrió a la consulta en el Centro Hospitalario Pereira Rosell. Además, la recolección de la muestra se realizó con la paciente cómodamente sentada y durante un lapso de 5 minutos durante los cuales no se le permitió deglutir. Las muestras fueron recolectadas por el método de salivar en vasos estériles comercializados para urucultivo. Las muestras así obtenidas fueron trasladadas al laboratorio de Bioquímica- Biofísica de la cátedra de bioquímica de FO para su procesamiento. Todas las muestras fueron procesadas de forma inmediata, con un lapso de tiempo entre la toma de la muestra y su procesamiento no mayor a una hora en ningún caso.

5.2 Determinación colorimétrica de calcio

Para realizar la determinación de la concentración de calcio salival, se utilizó una técnica colorimétrica basada en la reacción altamente específica del ion calcio con el arsenazo III, esta reacción resulta en la formación de un complejo de color azulado (Leary, Pembroke, & Duggan, 1992). La intensidad del color, que puede medirse colorimétricamente a 650 nm en espectrofotómetro o 620 a 650 nm en fotocolorímetro, se encuentra directamente relacionada con la concentración del ion calcio en la muestra.

Las propiedades de la luz y su interacción con las sustancias pueden usarse para identificar y determinar las concentraciones de estas. Esto se basa en la estrecha relación que existe entre la absorción de la radiación electromagnética de las sustancias y su concentración. Así, cuando un haz de luz monocromático (I_0) incide sobre una solución de concentración dada (c) a través de una cubeta de b cm de espesor (paso óptico) la intensidad del haz de luz se atenúa (I) a causa de la interacción de la luz con las partículas de la sustancia absorbente. De este modo, el color de una sustancia resulta de las longitudes de onda que la sustancia deja pasar de la luz blanca que incide sobre ella y que llegan a nuestros ojos.

La transmitancia (T) de una solución es la fracción de la radiación incidente transmitida por una solución ($T = I/I_0$), con el fin de obtener funciones lineales se emplea generalmente su expresión logarítmica, la absorbancia (A), que se define por la ecuación $A = -\log T = \log I_0/I$. En el caso de las soluciones, la cantidad de luz absorbida por la sustancia depende del número de moléculas interpuestas en el trayecto del haz, de la naturaleza de la sustancia en solución y de la longitud de onda (λ) de la luz monocromática empleada. Así, para una misma sustancia y para una misma longitud de onda, la cantidad de luz absorbida depende de la concentración de la sustancia en solución y del espesor de la masa de solución interpuesta (b). La ecuación que relaciona la absorbancia con la concentración del soluto y con el espesor de la masa de solución interpuesta se conoce con el nombre de ley de Lambert y Beer.

De acuerdo con la Ley de Lambert y Beer $A = \epsilon \cdot c \cdot b$, donde ϵ es el coeficiente de absorptividad molar, c la concentración de la sustancia y b el espesor de masa de solución interpuesta o paso óptico. (Azcarate M.P.; Kloster N.; Ostinelli M.; Carreira, 2011) Es de notar que, siendo el paso óptico un valor fijo, la absorbancia de una solución varía en relación directa con la concentración de la sustancia en la misma. Además, el valor de ϵ puede calcularse a partir de la gráfica de absorbancia en función de concentración (curva de calibración), siendo igual a la pendiente de la curva.

En este trabajo, las medidas se realizaron utilizando el kit Ca-color arsenazo III del laboratorio Weiner (LOT 2110457930; REF 1152004). Es importante destacar que este kit está diseñado para la determinación directa de calcio en suero, sangre y orina. (weiner lab., 2022) No obstante, es un método de determinación de calcio salival ampliamente seleccionado en diferentes trabajos de investigación publicados en la literatura. Si bien, muchos de estos trabajos calculan la concentración de calcio salival en base a las especificaciones realizadas por el fabricante, en el presente trabajo se decidió construir una curva de calibración para calcular la concentración de calcio salival. Tanto las

concentraciones de calcio calculadas siguiendo las especificaciones del fabricante como las obtenidas a partir de la curva de calibración se muestran en la tabla 5.

El procedimiento utilizado para la determinación de calcio presente en las muestras se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras de saliva fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos en microcentrifuga Waverly y el sobrenadante fue conservado para su posterior análisis. El procedimiento fue realizado por triplicado para cada muestra. Con la ayuda de micro pipetas apropiadas se colocó en tubos eppendorf 1mL de reactivo A (solución de arsenazo III 100 mg/l y 8-hidroxi-quinolina sulfonato 1,4 g/l en buffer Tris 100 mM, pH 8,5 ; provisto en el kit) y 10 μ L de la muestra. El blanco de reactivos y el estándar se prepararon agregando, a 1mL del reactivo A, 10 μ L de agua destilada y solución estándar (proporcionada en el kit), respectivamente. Las muestras fueron agitadas e incubadas a temperatura ambiente durante 2 minutos. La absorbancia de las muestras fue determinada por fotometría en un lector de micro placas Multiskan MS con un filtro de 620 nm. Para el cálculo de la concentración salival de calcio se utilizaron dos procedimientos. La concentración de calcio estimada de acuerdo a la indicación del fabricante se realizó utilizando la fórmula provista para calcio sérico, donde:

Concentración de calcio sérico (mg/dL) = $D \times f$, siendo D absorbancia de la muestra y f = concentración del estándar/absorbancia del estándar.

También se construyó una curva de calibración para determinar la concentración de calcio salival como se describe a continuación. La curva de calibración se realizó con soluciones de calcio de concentración conocida, a partir de diluciones de la solución estándar provista por el fabricante (concentración de calcio 100 μ g/mL). La absorbancia de dichas soluciones fue determinada por fotometría en el lector de micro placas ya mencionado. Los datos obtenidos fueron procesados y utilizados para construir la curva de calibración (figura 5). La pendiente calculada para la curva (valor ϵ) fue 0,002845. Cabe destacar que este valor es muy similar al encontrado en estudios previos (Neelamegam, Jamaludeen, Ragendran, & Murugranathan, 2010; BioSystems S.A, 2011), por lo que la curva de calibración no fue repetida en simultáneo con la medida de cada muestra. La concentración de calcio salival se calculó despejando la fórmula de Lambert y Beer. Es conveniente aclarar en este momento que la concentración de calcio calculada con el método del fabricante fue expresada en mg/dL en tanto la calculada a partir de la curva de calibración se expresa en μ g/mL, 1 mg/dL equivale a 10 μ g/mL por lo cual para convertir mg/dL en μ g/mL hay que multiplicar por diez.

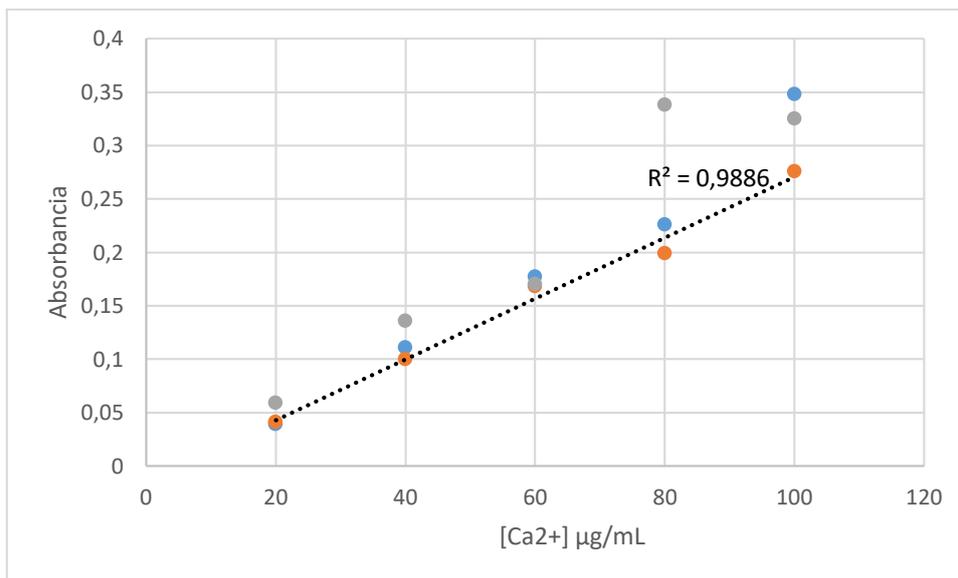


Figura 5: Curva de calibración para ion calcio.

5.3 Operacionalización de las variables

Como se mencionó en otras secciones de este capítulo, para el análisis del problema de investigación motivo de esta tesis se recolectaron datos procedentes de diferentes fuentes. Las variables recogidas fueron operacionalizadas en indicadores que se presentan en esta sección en la tabla 3.

Tabla 3: Operacionalización de las variables.

Variable	Tipo	Indicador	Fuente	codificación
Edad	cuantitativa	años cumplidos	cuestionario	
Factor de riesgo antecedentes de fractura (FP)	cuantitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)
Factor de riesgo antecedentes familiares de fractura (AFFC)	cuantitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)

Factor de riesgo menopausia precoz (MP)	cualitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)
Factor de riesgo antecedentes familiares de osteoporosis (AFO)	cualitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)
Factor de riesgo hábito de fumar (F)	cualitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)
Factor de riesgo uso prolongado de corticoides (TC)	cualitativa	Tiene- no tiene	cuestionario	Tiene (1) NO-tiene (0)
concentración de calcio salival (CCS)	cuantitativa	[Ca ²⁺] En, CCS(curva)µg/mL CCS(fabricante)mg/dL	Lectura con espectrofotómetro	
Densidad ósea (DO)	cuantitativa	En gr/cm ²	DEXA	
Flujo salival (FS)	cuantitativa	En mL/min	Lectura en probeta	

6. RESULTADOS

6.1 Presentación de datos

En esta sección se presentan los datos relevados en el estudio. Para facilitar su visualización, los datos fueron agrupados, dependiendo su fuente, en diferentes tablas. La tabla 4 resume los datos procedentes del cuestionario, la tabla 5 resume los datos obtenidos a partir de la muestra de saliva, por último en la tabla 6 se presenta las medidas de resumen de los datos derivados la DMO. La totalidad de los datos obtenidos, agrupados también en tres tablas de acuerdo a su origen, se encuentran disponibles en el apéndice 4, en las tablas 4-1 al 4-3.

	Frecuencia	Porcentaje
FP	7	25,9
AFFC	6	22,2
AFO	10	37,0
TC	1	3,7
F	5	18,5
MP	7	25,9

Tabla 4: Factores de riesgo de padecer osteoporosis. FP: fractura previa, AFFC: antecedentes familiares de fractura de cadera, AFO: antecedentes familiares de osteoporosis, TC: terapia con corticoides, F: fumador, MP: menopausia precoz

	Flujo Salival mL/min	CCS (fabricante) mg/dL	CCS $\mu\text{g/mL}$ (curva)
Máximo	3,1	28,0	237
Mínimo	0,9	2,6	22,2
Promedio	1,98	6,7	56,6
D. S	0,5	4,7	39,8

Tabla 5: Resumen de datos obtenidos a partir del análisis bioquímico de la saliva. DS: desvío estandar

	T-score	DO columna gr/cm^3	DO total gr/cm^3	DO cuello de fémur gr/cm^3
Máximo	1	1,336	1,197	1,153
Mínimo	-2	0,849	0,67	0,71
Promedio	-0,7	1,09	0,95	0,88
D.S	0,9	0,17	0,13	0,13

Tabla 6: Resumen densidad mineral ósea (DMO) de diferentes áreas del esqueleto axial. T-score DO: densidad ósea

Cabe señalar en este momento que no fue posible acceder a los datos concernientes a la DMO de algunas pacientes, debido a que estos no fueron anexados a la historia clínica institucional de ASSE, siendo inaccesibles al investigador. Se solicitó al Instituto Nacional de Reumatología (INRU) adjuntar los datos faltantes a la historia clínica del paciente y si bien se obtuvo una respuesta positiva esta acción no se materializó. Pasado unos 5 meses y encontrándose la cantidad de datos suficientes para completar la muestra n propuesta en este trabajo se decidió proceder al análisis de la misma sin los datos faltantes.

6.2 Análisis estadístico

El análisis estadístico consideró dos etapas. En la primera se calcularon medidas de resumen para las dos variables (en sus diferentes versiones) bajo estudio; concentración de calcio salival (CCS) y la densidad ósea (DO). Se calculó media y desvío de cada una, así como

una matriz de correlación entre las 2 versiones de CCS (la calculada a partir de las indicaciones del fabricante (fab) y las obtenidas a partir de la curva de calibración) y las 3 versiones de DO (media, total y fémur). Se generaron visualizaciones entre estas medidas empleando gráficos de dispersión.

En una segunda etapa se empleó la transformación Z de Fisher para poner a prueba la hipótesis de correlación nula. Por último, se ajustó un modelo de regresión lineal múltiple que consideró la DO como variable de respuesta y la CCS como variable explicativa. Se evaluó esta asociación mediante el estadístico *t* de student ajustando por las demás variables consideradas (edad, menopausia precoz, hábito de fumar, tratamiento con corticoides, fractura previa, antecedentes familiares de fractura de cadera y antecedentes familiares de osteoporosis).

Todos los análisis estadísticos fueron llevados a cabo en el software estadístico R, adicionalmente, los procedimientos inferenciales consideraron un nivel de significación del 5%.

Se trabajó con un conjunto de 26 observaciones. El Cuadro 1 presenta los valores descriptivos de las 2 versiones de CCS y las 3 versiones de DO.

	n	promedio	mediana	desvío	mínimo	máximo
<i>CCS</i>						
Fabricante mg/dL	26	6,71	5,58	4,72	2,62	28,04
Curva µg/mL	26	56,58	47,1	39,81	22,14	236,55
<i>DO</i>						
Media gr/cm³	20	1,09	1,11	0,17	0,85	1,34

total gr/cm ³	20	0,95	0,92	0,13	0,67	1,20
fémur gr/cm ³	20	0,88	0,85	0,13	0,71	1,15

Cuadro 1: Estadística descriptiva de CCS (concentración de calcio salival) y DO (densidad ósea).

Vale la pena aclarar que se detectó el caso de una paciente con un valor atípico (28,04 mg/dL) de CCS. Esta muestra fue analizada tres veces y en cada una de las oportunidades por triplicado, este hecho y el hallazgo de valores similares en otros trabajos previos sugieren que dato es real. Por este motivo, es conveniente tener en cuenta también las medianas y ser cautos con los promedios.

En la Figura 6 se presentan diagramas de dispersión entre las versiones de CCS y DO. En estos gráficos no parece evidenciarse ningún patrón que permita pensar una relación entre estas variables.

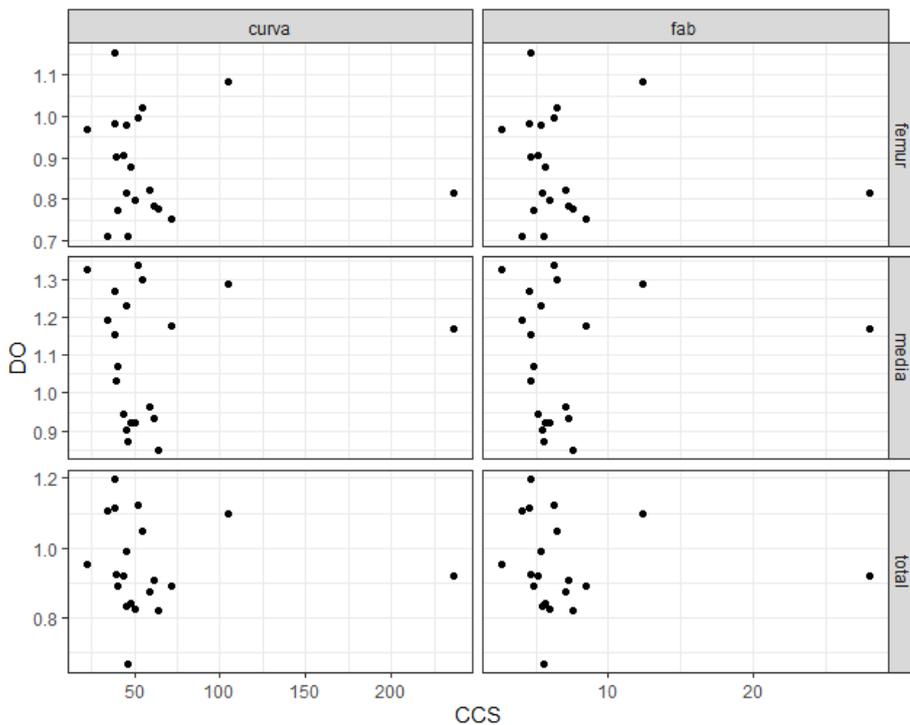


Figura 6: Diagramas de dispersión entre CCS y DO.

Para constatar lo observado en la Figura 6, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson en las 6 combinaciones y se evaluó su significación. Estos valores se presentan en el Cuadro 2.

	media	total	fémur
fab	0,099 (0,675)	-0,046 (0,846)	-0,087 (0,715)
curva	0,099 (0,675)	-0,046 (0,846)	-0,087 (0,715)

Cuadro 2: Correlaciones (y significación) entre CCS y DO.

Como se presumía a partir de lo observado en la Figura 6, no se detecta evidencia estadística suficiente para afirmar que exista una relación lineal entre CCS y DO.

En última instancia se llevó a cabo un análisis de regresión entre DO y CCS ajustando por los demás factores de riesgos.

	Estimación	E.E.	t	p-valor
Constante	0,8372	0,2891	2,8960	0,0146
CCS (curva)	0,0006	0,0011	0,5630	0,5850
Edad	0,0051	0,0045	1,1380	0,2791
Fractura previa	0,0413	0,1091	0,3790	0,7122
Antecedentes familiares fractura	0,0260	0,1131	0,2300	0,8223
Antecedentes familiares Osteoporosis	-0,1353	0,1076	-1,2570	0,2348
Tratamiento Corticoides (si)	0,0319	0,2571	0,1240	0,9035
Hábito de fumar (si)	-0,1379	0,1325	-1,0410	0,3202
Menopausia precoz (si)	-0,0071	0,1099	-0,0650	0,9494

Cuadro 3: Análisis de regresión múltiple.

A partir de este análisis no se detecta una asociación lineal entre DO y CCS (p -valor=0,585).

7. DISCUSIÓN

En esta sección de la tesis se revisan en forma detallada los resultados obtenidos y se los compara con hallazgos reportados en la literatura. Asimismo, aspectos referidos al diseño metodológico son analizados, señalando los puntos débiles y limitaciones encontradas en este estudio. Del mismo modo se comentan algunas consideraciones que podrían resultar de utilidad de cara a futuras investigaciones al respecto.

Los datos analizados en el presente estudio proceden de una población de 26 mujeres posmenopáusicas. La edad promedio de este grupo de estudio fue calculada en 48. años, con una edad máxima de 73 años y una mínima de 36. Así, en base a la técnica de muestreo propuesta para una correlación moderada (de al menos -0.6) entre las variables consideradas (concentración de calcio salival y la densidad ósea) además de superarse el establecido (Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, 2013) se contemplan amplias variaciones en uno de los factores de riesgo más relevantes de padecer osteoporosis, la edad. (Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, 2011; Podfigurna-Stopa et al., 2016 ; Raetz et al., 2017) No obstante, cuando este factor fue utilizado para ajustar la regresión realizada para DO y CCS no mostró resultados estadísticamente significativos. Como se mencionó anteriormente en otras secciones de este trabajo la prevalencia de osteoporosis aumenta significativamente con la edad. (Chijani et al. 2012; Baccaro et al., 2015) Sin embargo, recién a partir de los 70 años este factor de riesgo afecta de forma drástica la calidad del tejido óseo. (Chijani et al., 2012; Black & Rosen, 2016) Un hecho que conviene señalar en este momento, es que si bien la población de estudio contempla un amplio rango de edad en mujeres posmenopáusicas tan solo una de ellas es mayor a 70 años. Este hecho puede quizás explicar los resultados encontrados durante el análisis estadístico. De hecho, en el trabajo realizado por Rabiei se encontró que la concentración de calcio salival se multiplica por más de dos en mujeres con más de 10 años de menopausia respecto a mujeres con menos de 10 años de menopausia (41,5 mg/dL vs 18,7 mg/dL). (Rabiei et al.2013) Por otra parte, es de destacar que, atento a las consideraciones éticas realizadas al inicio de este estudio, el diseño metodológico de en este estudio carece de grupo de control. En conjunto estas consideraciones permiten suponer que la falta de edades avanzadas y de un grupo de comparación en este trabajo puede haber sido limitante para encontrar concentraciones de calcio salival más altas, en pacientes de mayor edad, asociadas a una menor densidad ósea. Otro factor de riesgo de padecer osteoporosis considerado fue la menopausia precoz (amenorrea anterior a los 40 años). La pérdida de masa ósea en las regiones de columna espinal y cuello del fémur se encuentra aumentada en mujeres con falla ovárica temprana y

en relación directa con un aumento de la hormona folículo estimulante. (Podfigurna-Stopa et al., 2016) La muestra analizada incluyó 7 mujeres (total, 25,9 %) que presentaban esta característica. Los análisis estadísticos de regresión múltiple no mostraron significación estadística de este factor. No obstante, se debe considerar a este respecto que la muestra no incluye mujeres premenopáusicas y que la prevalencia aumentada de deterioro óseo en mujeres con menopausia precoz fue establecida en relación a grupos control que no poseían esta característica. (Podfigurna-Stopa et al., 2016)

Con respecto a los otros factores de riesgo recabados en este estudio (se resumen en la tabla 4) la población analizada mostró que un 25,9 % relató haber padecido fracturas previas, un 22,2% poseía antecedentes de un familiar directo con fractura de cadera, el 37 % tenía antecedentes de familiar directo con osteoporosis, 3,7 % había recibido terapia con corticoides por más de tres meses y el 18,5% eran fumadoras. Estos factores de riesgos que son considerados en conjunto en los diferentes estudios realizados (Chijani et al., 2012)(Baccaro et al., 2015)(Black & Rosen, 2016) no mostraron significación estadística cuando se consideraron para ajustar la regresión realizada para concentración salival de calcio y densidad ósea. Asimismo, algunos estudios han mostrado un mayor deterioro de la masa ósea con un concomitante aumento de la concentración salival de calcio en pacientes fumadores. (Liisi Sewón et al., 2004) Sin embargo, esta relación mostró ser significativa en los fumadores severos (más de 10 cigarrillos al día) y este parámetro no fue considerado en el presente estudio.

En base a los objetivos planteados en este trabajo se realizó una puesta a punto de la técnica colorimétrica basada en la reacción del arsenazo III para la determinación de la concentración de calcio. El uso de este reactivo para determinación de calcio salival se encuentra referenciado en distintos estudios. (Agha-Hosseini et al., 2012) (Rabiei et al., 2013) (Cydejko et al., 2020) (Singh et al., 2013) (Velásquez et al., 2019) No obstante, conviene recordar que la técnica se encuentra desarrollada para suero y orina. En este caso, la CCS fue determinada en muestras de saliva total estimulada, mediante dos procedimientos diferentes que se describieron en detalle en la sección 5.2. Los valores obtenidos para la CCS por ambos procedimientos se resumen en el cuadro 1 y se encuentran disponibles en su totalidad en el apéndice 4, tabla 4-2. Los valores obtenidos para la CCS son muy similares por ambos métodos, este hecho permite concluir que ya sea que la concentración de calcio sea calculada utilizando los parámetros brindados por el fabricante para suero o sea determinada utilizando una curva de calibración (ajustando así el procedimiento para saliva) ambos son comparables. En la sección 5.2 se explican en detalle los procedimientos y equivalencias utilizadas ($1\text{mg/dL} = 10\text{g/mL}$). Este dato resulta

relevante principalmente debido a que muchos de los estudios que determinan la concentración salival de calcio con la técnica del arsenazo III no especifican como la calculan. Además, diferentes estudios eligen de forma indistinta una u otra técnica para calcular la concentración de calcio. (Cydejko et al., 2020) (Singh et al., 2013) (Velásquez et al., 2019)

Asimismo, la concentración de calcio promedio calculada fue aproximadamente 6 mg/dL (si consideramos en conjunto ambos medios de determinación), esta CCS coincide con la establecida en estudios previos como punto de corte para padecer osteoporosis y tener aumentada la concentración de calcio salival. (Rabiei et al., 2013) Cabe señalar en este punto que la correlación reportada (en el estudio antes mencionado) entre la CCS y la DO mostró significación estadística para aquellas pacientes con osteoporosis diagnosticada, esto es un T-score menor a -2,5. (Rabiei et al., 2013) En la muestra analizada en el presente trabajo ninguna de las pacientes presenta osteoporosis ni osteopenia (T-score menor a -2,1) por lo que la falta de significación estadística encontrada entre CCS y DO coincide parcialmente con los hallazgos reportados en la literatura. Por otra parte, la sensibilidad reportada en el estudio antes mencionado para aquellos pacientes con CCS superior al punto de corte (6.1 mg/dL) fue de 67.5% y la especificidad del 60%. (Rabiei et al., 2013) Asimismo, en la muestra analizada en el presente trabajo de aquellas mujeres en las fue posible recabar ambos datos (CCS y DO; en total 19 mujeres) 10 de ellas (52.6 %) presentaron una CCS superior a 6.1 mg/dL sin presentar osteoporosis.

Otro dato a destacar, es que en coincidencia con lo reportado en estudios anteriores (Cydejko et al., 2020) la concentración salival de calcio en mujeres menopaúsicas es en términos generales mayor que la esperada para individuos sin esta condición. (Cydejko et al., 2020) Este dato, que como ya se mencionó coincide con el reportado en estudios anteriores (Cydejko et al., 2020) se destaca por el hecho de que el método de obtención de la muestra de saliva fue diferente en ambos trabajos. De este modo se reafirman las afirmaciones encontradas en la literatura que sostienen que la CCS no se ve afectada por el tipo de estímulo que desencadena la salivación. (Rabiei et al., 2013) De hecho, la determinación de CCS en los estudios de Cydejko fue realizada en saliva de reposo en tanto en el presente trabajo fue realizado en saliva estimulada. Esto, en conjunto a la similitud en las CCS reportadas parecería confirmar que la CCS no se ve afectada por el flujo salival. (Rabiei et al., 2013)(A. Thylstrup, 1988) Por otro lado, uno de los principales síntomas bucales reportados durante la menopausia es la sensación de boca seca. (Singh et al., 2013)(Cydejko et al., 2020) (Agha-Hosseini et al. 2012) La disminución del flujo salival asociado a la menopausia se ha reportado de manera controversial en la literatura. (Dawes

& Wong, 2019)(Cydejko et al., 2020)(Rodríguez et al.2001) De esta forma, algunos estudios asocian esta condición a una disminución del flujo salival de reposo (Cydejko et al., 2020) en tanto otros no encuentran correlación significativa entre el síntoma bucal y el flujo salival de la paciente. (Singh et al., 2013) En el presente estudio el flujo salival fue determinado a partir de saliva estimulada. Se considera normal un flujo de saliva estimulada de 1-3 mL/min. (Betancor, 1990). De las pacientes analizadas n=26 solo una (3,8 %) presentó disminución del flujo de saliva estimulada. El flujo salival promedio de la muestra fue de 1,98 mL/min con un flujo máximo de 3,1 mL/min y un mínimo de 0,9mL/min (tabla 5). De lo expuesto se puede considerar que el flujo de saliva estimulada en pacientes posmenopáusicas no se encontraría disminuido de manera significativa, confirmando lo reportado en otros trabajos. (Pereira et al., 2018) Un hecho interesante a señalar es que algunos estudios de caso control reportaron un aumento en la concentración salival de calcio en mujeres menopaúsicas con sensación de boca seca sin alteración del flujo salival. (Agha-Hosseini et al., 2012)(Singh et al., 2013) Este dato coincide con lo observado en este estudio, en el que la concentración de calcio salival se encuentra elevada con respecto a lo reportado en la literatura sin alteración del flujo de saliva estimulada. Con respecto a la densidad ósea, fueron considerados para su análisis la DO media de la columna lumbar (con un promedio de 1.09 gr/cm²), el valor para cadera total (promedio 0.95 gr/cm²) y para cuello de fémur (promedio de 0.88 gr/cm²). Estos datos (se resumen en el cuadro 1, y están disponibles en su totalidad en el apéndice 4 tabla 4-3) parecen confirmar lo reportado en las recomendaciones para la interpretación de la DMO que sostienen que si bien la pérdida ósea en la columna podría preceder a la de la cadera el aplastamiento de las vértebras lumbares podría falsear el resultado. Constatándose de esta manera valores más bajos de densidad ósea en la zona del cuello del fémur donde la técnica no presenta superposiciones. (Lewiecki et al., 2004)(Orueta & Gómez-Caro, 2010) Sin embargo, en contraposición con lo reportado por Rabiei no se encontró correlación significativa entre la DO y la CCS en el presente estudio. Esto, puede explicarse quizás en base a las diferencias metodológicas entre ambos estudios, además la correlación reportada en el estudio de Rabiei fue establecida en base al T-score y no a la densidad ósea. No obstante, otros estudios realizados reportaron, en coincidencia con el presente, la falta de correlación entre ambos parámetros, señalando que la concentración de calcio y fosfato salival no parecerían ser buenos indicadores de la densidad mineral ósea. (Moghadam, Zakeri, Fakour, & Moghaddam, 2016)

Por otra parte, en un estudio epidemiológico realizado más recientemente sobre 125 mujeres postmenopáusicas se encontró una correlación negativa entre la concentración de calcio salival y la densidad ósea de la cadera reportada en gr/cm² (Tabor et al., 2021) En el estudio antes mencionado no se encontró correlación estadísticamente significativa entre

la CCS y la DO lumbar, además la correlación reportada para la cadera fue baja. (Tabor et al.2021) La falta de correlación entre la CCS y la DO observadas en el presente trabajo, son parcialmente contrapuestos al estudio antes mencionado y podrían deberse quizás al tamaño de la muestra analizada (n=19) que como se planteó en la sección correspondiente se consideraba apropiada para una correlación moderada y no para una correlación baja como se documentó en el trabajo de Tabor. (Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, 2013)

Por último, como se ha detallado en los párrafos anteriores aunque las coincidencias con estudios previos han sido pocas y en todo caso parciales estas parecen más devenir del diseño metodológico de este estudio que de hallazgos contrapuestos. Es conveniente señalar en este punto que las limitaciones éticas realizadas no permitieron la realización de un estudio de caso control que se considera más pertinente para arribar a resultados más concluyentes en este tema. Atento a dichas consideraciones sea quizás conveniente considerar la realización de nuevos estudios con una muestra con mayor n.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados en el presente trabajo y en base a los resultados reportados es posible arribar a las siguientes conclusiones. Primero, la técnica colorimétrica para la determinación de calcio con arsenazo III, en avíos provistos para determinación en suero y orina, es una técnica confiable ampliamente difundida en la literatura cuyos resultados son comparables sin importar cuál sea el método por el que la concentración de calcio sea calculada. Segundo, no se pudo establecer una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de calcio salival y la densidad ósea en mujeres postmenopáusicas. De esta forma el presente trabajo responde a los objetivos planteados, al tiempo que plantea la necesidad de considerar incluir grupos control en el diseño metodológico. Por último, nuevos estudios con otros diseños metodológicos serán necesarios para arrojar luz sobre los hallazgos reportados en la literatura y este estudio.

9. PERSPECTIVAS

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo surgen las siguientes perspectivas: 1) generar nuevos trabajos de investigación con un enfoque de carácter más epidemiológico que contemplen una población con un n mayor y diferentes características en cuanto a la presencia de factores de riesgo de padecer osteoporosis, la presencia o no de enfermedad ósea, el uso o no de terapia antireabsortiva, etc. Surgiendo de esta forma la posibilidad de generar diferentes grupos con características epidemiológicas disimiles que permitan comparar el impacto de estos factores sobre la concentración de calcio salival; 2) Asimismo,

surge la necesidad de, en bases a los resultados obtenidos, llevar a nueva consideración ética la posibilidad de realizar nuevos estudios con un diseño metodológico de caso control que incluya individuos sanos para poder comparar grupos y arribar a resultados más concluyentes.

10. BIBLIOGRAFÍA

- A. Thylstrup, O. F. (1988). *Caries* (Doyma S.A, Ed.). Barcelona.
- Agha-Hosseini, F., Mirzaei-Dizgah, I., & Moosavi, M. S. (2012). Relationship of serum and saliva calcium, phosphorus and alkaline phosphatase with dry mouth feeling in menopause. *Gerodontology*, 29(2). <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2012.00619.x>
- Agrawal, B., Jain, V., & Varshney, A. (2015). Bone turnover markers in women can predict low bone mineral density. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(4), 876. <https://doi.org/10.5455/2320-6012.ijrms20150410>
- Ayed, Mohammed S., Shafiq, S. S., Diab, H. M., Alahmari, A. D., & Divakar, D. D. (2018). Assessing periapical dental radiographs as a screening parameter for early indications of osteoporosis in postmenopausal periodontal patients and root surface evaluation using spectrochemical analysis. *Saudi Medical Journal*, 39(7), 719–724. <https://doi.org/10.15537/smj.2018.7.22453>
- Ayed, Mohammed Saeed, Alsharif, A. F., Divakar, D. D., Jhugroo, C., Alosaimi, B., & Mustafa, M. (2019). Evaluating the possible association between systemic osteoporosis and periodontal disease progression in postmenopausal women. *Disease-a-Month*, 65(6), 193–215. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2018.11.001>
- Azcarate M.P.; Kloster N. ; Ostinelli M.; Carreira. (2011). GUIA PARA LA VERIFICACION DE ESPECTOFOTOMETROS UV-VISIBLE UTILIZADOS EN EL ANALISIS DE SUELO Y AGUA. VI IBEROLAB. Congreso Virtual Iberoamericano, (1), 1–4.
- Baccaro, L. F., Conde, D. M., Costa-Paiva, L., & Pinto-Neto, A. M. (2015, March 20). The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: A viewpoint from Brazil. *Clinical Interventions in Aging*, Vol. 10, pp. 583–591. <https://doi.org/10.2147/CIA.S54614>
- Berriel, F., Pérez, R., & Rodriguez, S. (2011). *Vejez y envejecimiento en Uruguay. Fundamentos diagnósticos para la acción*. 1–136.
- Betancor, E. (1990). El papel fisiológico de la saliva. In *Suplemento especial de la Revista Odontoestomatología* (comision d, Vol. 3). Montevideo, Uruguay.
- BioSystems S.A. (2011). *Calcium-Arsenazo Calcio-Arsenazo Arsenazo iii*.
- Black, D. M., & Rosen, C. J. (2016, January 21). Clinical Practice. Postmenopausal Osteoporosis. *The New England Journal of Medicine*, Vol. 374, pp. 254–262. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1513724>
- Bolívar, V. C., Sevilla, J. E., Martín, A. G., & Torres, M. M. (2022). Protocolo del uso diagnóstico de los biomarcadores del metabolismo óseo. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, Vol. 13, pp. 3560–3564. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.06.014>
- Brown, Edward M. MAC Leod, R. J. (2001). Extracellular calcium sensing and signalling. *PHYSIOLOGICAL REVIEWS*, 81(1), 239–297.

<https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.1.239>

- Cabrera, C., & Saadoun, A. (2002). Biodisponibilidad de los minerales. In *osteoporosis* (1º, pp. 113–118). montevideo: grupo de osteopatias de la sociedad uruguaya de reumatología.
- Carol-Anne Murdoch-Kinch, Hyugnjin M. Kim, et al. (2008). Dose-Effect Relationships for the Submandibular Salivary Glands and Implications for Their Sparing by Intensity Modulated Radiotherapy Carol-Anne. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 72(2), 373–382. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.12.033>.Dose-Effect
- Chijani, V., Hernández, J., Albanese, M., Acosta, J. J., Alemán, A., Calegari, M., ... Cornes, R. (2012). GUÍA PRÁCTICA DE DIAGNÓSTICO, PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS. In *Sociedad Uruguaya de Reumatología*. Retrieved from www.reumauruguay.org.bibliotecasur@reumauruguay.org
- Courbebaisse, M., & Souberbielle, J. C. (2011). Phosphocalcic metabolism: Regulation and explorations. *Nephrologie et Therapeutique*, 7(2), 118–138. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2010.12.004>
- Cydejko, A., Kusiak, A., Grzybowska, M. E., Kochańska, B., Ochocińska, J., Maj, A., & Świetlik, D. (2020). Selected physicochemical properties of saliva in menopausal women-a pilot study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 1–8. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072604>
- Dawes, C., & Wong, D. T. W. (2019). Role of Saliva and Salivary Diagnostics in the Advancement of Oral Health. *Journal of Dental Research*, 98(2), 133–141. <https://doi.org/10.1177/0022034518816961>
- Eastell, R., & Hannon, R. (2005). Long-term effects of aromatase inhibitors on bone &. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 95, 151–154. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2005.04.009>
- Gaihier, F. (2015). *Desarrollo de biosensores de calcio para el control del proceso de angiogénesis*. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Industrial de Barcelona (ETSEIB).
- Gómez, J. M. Q., & Henríquez, M. S. (2011). Nutrición y osteoporosis. Calcio y vitamina D. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 25, 165–182. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=360933653005>
- Goyal, L., Goyal, T., & Gupta, N. D. (2017, October 1). Osteoporosis and periodontitis in postmenopausal women: A systematic review. *Journal of Mid-Life Health*, Vol. 8, pp. 151–158. https://doi.org/10.4103/jmh.JMH_55_17
- Gustavo Barriga Angulo, E. A. H. S. (2019). Utilidad de las muestras de saliva en el diagnóstico por el laboratorio. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 63(1), 13–18.
- Gutiérrez, J., Domínguez, M., Escudero, P., García, J. M., Vicente, M., Manchini, T., & Acevedo, N. (2017). *Anatomía craneofacial*.
- He, J., Xu, S., Zhang, B., Xiao, C., Chen, Z., Si, F., ... Chen, J. (2020). Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis. *Aging*, 12(9), 8583–8604. <https://doi.org/10.18632/aging.103168>
- Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, N. T. (2013). *Designing clinical research : an epidemiologic approach*. (L. W. & Wilkins, Ed.). Philadelphia.

- José Zanchetta, et al. (2012). THE LATIN AMERICA REGIONAL AUDIT Epidemiología, costos e impacto de la osteoporosis en 2012. In L. M. Stenmark, Judy (Ed.), *International Osteoporosis Foundation IOF* (p. internet). Retrieved from <https://www.iofbonehealth.org/data-publications/regional-audits/latin-america-regional-audit%0A%0A>
- Komm, B. S., Morgenstern, D., Yamamoto, L. A., & Jenkins, S. N. (2015, November 2). The safety and tolerability profile of therapies for the prevention and treatment of osteoporosis in postmenopausal women. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, Vol. 8, pp. 769–784. <https://doi.org/10.1586/17512433.2015.1099432>
- Leary, N. O., Pembroke, A., & Duggan, P. F. (1992). Single stable reagent (Arsenazo III) for optically robust measurement of calcium in serum and plasma. *Clinical Chemistry*, 38(6), 904–908. <https://doi.org/10.1093/clinchem/38.6.904>
- Lewiecki, E. M., Watts, N. B., McClung, M. R., Petak, S. M., Bachrach, L. K., Shepherd, J. A., & Downs, R. W. (2004). Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(8), 3651–3655. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0124>
- Lilisi A.Sewon, Sara M Karjalainen, Eva Söderrling, Helena Lapinleimu, O. S. (1998). Associations between salivary calcium and oral health. *Journal of Clinical Periodontology*, 25, 915–919.
- Lorente Ramos, R. M., Azpeitia Armán, J., Arévalo Galeano, N., Muñoz Hernández, A., García Gómez, J. M., & Gredilla Molinero, J. (2012). Dual energy X-ray absorptimetry: Fundamentals, methodology, and clinical applications. *Radiología*, 54(5), 410–423. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2011.09.023>
- Maiche, M., Hernández, M., & Mendoza, B. (2019). Características y evolución de las fracturas de cadera operadas en el Banco de Prótesis (enero-diciembre 2013). *Rev. Méd. Urug*, 35(3), 82–106. <https://doi.org/10.29193/rmu.35.3.4>
- Mercier, P., & Inoue, S. (1981). Bone density and serum minerals in cases of residual alveolar ridge atrophy. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 46(3), 250–255. [https://doi.org/10.1016/0022-3913\(81\)90209-2](https://doi.org/10.1016/0022-3913(81)90209-2)
- Moyano, M., & Gonzalez, G. (2002). osteoporosis generalidades. In *osteoporosis* (1°, pp. 17–25). montevideo: grupo de osteopatias de la sociedad uruguaya de ruematología.
- Neelamegam, P., Jamaludeen, A. S., Ragendran, A., & Murugranathan, K. (2010). Microcontroller-based system for estimate of calcium in serum samples. *Biomedical Instrumentation and Technology*, 44(5), 433–439. <https://doi.org/10.2345/0899-8205-44.5.433>
- Pateel, D. G. S., Gunjal, S., Math, S. Y., Murugesappa, D. G., & Nair, S. M. (2017). Correlation of Salivary Statherin and Calcium Levels with Dental Calculus Formation: A Preliminary Study. *International Journal of Dentistry*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2857629>
- Patel, S. A., & Barros, J. A. (2015). Advances in Salivary Diagnostics. In C. F. Streckfus (Ed.), *Advances in Salivary Diagnostics* (Department). https://doi.org/10.1007/978-3-662-45399-5_1
- Paul Desmond Slowey. (2015). Saliva Collection Devices and Diagnostic Platforms Abstract Over the last few years. In Charles F. Streckfus (Ed.), *Advances in Salivary Diagnostics* (pp. 33–63). New York: Department of Diagnostic and Biomedical University of Texa.
- Pellegrini, G., Chaves, M. G., & Somoza, J. (2006). Marcadores Del Remodelamiento Oseo En

Saliva Y Su Correlacion. *Medicina Buenos Aires*, 245–248.

- Penoni, D. C., Leão, A. T. T., Torres, S. R., Farias, M. L. F., Fernandes, T. M., Crivelli, M., & Vettore, M. V. (2018). Effects of Bone Fragility and Antiresorptive Drugs on Periodontal Disease and Tooth Loss: A Longitudinal Study. *JDR Clinical & Translational Research*, 3(4), 378–387. <https://doi.org/10.1177/2380084418787451>
- Pereira, I. F., Brasileiro, C. B., Kleperon, N. P., de Abreu, M. H. N. G., da Silva, T. A., Mesquita, R. A., & Amaral, T. M. P. (2018). Comparative study of oral and salivary parameters in patients with and without loss of bone mass. *Brazilian Oral Research*, 32, 1–7. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0054>
- Podfigurna-Stopa, A., Czyzyk, A., Grymowicz, M., Smolarczyk, R., Katulski, K., Czajkowski, K., & Meczekalski, B. (2016). Premature ovarian insufficiency: the context of long-term effects. *Journal of Endocrinological Investigation*, 39(9), 983–990. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0467-z>
- Puy, C. L. (2006). La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 11(5), 449–455.
- Rabiei, M., Asli, H. N., & Mohamadi, M. H. (2019). Comparison of Salivary Calcium Level in Dentulous and Edentulous Patients. *European Journal of Dentistry*, 13(1), 36–41. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1688685>
- Rabiei, M., Masooleh, I. S., Leyli, E. K., & Nikoukar, L. R. (2013). Salivary calcium concentration as a screening tool for postmenopausal osteoporosis. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 16(2), 198–202. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12003>
- Raetz, S., Bierhalter, H., Schoenherr, D., Parameswaran, N., & McCabe, L. R. (2017). Estrogen deficiency exacerbates type 1 diabetes-induced bone TNF- α expression and osteoporosis in female mice. *Endocrinology*, 158(7), 2086–2101. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1821>
- Ramenzoni, L. L., Lehner, M. P., Kaufmann, M. E., Wiedemeier, D., Attin, T., & Schmidlin, P. R. (2021). Oral diagnostic methods for the detection of periodontal disease. *Diagnostics*, 11(3), 1–13. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11030571>
- Rodrigues, R. P., Aguiar, E. M., Cardoso-Sousa, L., Caixeta, D. C., Guedes, C. C., Siqueira, W. L., ... Sabino-Silva, R. (2019). Differential molecular signature of human Saliva using ATR-FTIR spectroscopy for chronic kidney disease diagnosis. *Brazilian Dental Journal*, 30(5), 437–445. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201902228>
- Rodríguez, S., Frutos, R., & Machuca, G. (2001). Manifestaciones periodontales en la menopausia. *Avances En Periodoncia e Implantología Oral*, 13(3), 17–22. <https://doi.org/10.4321/s1699-65852001000300003>
- Romero Barco, C. M., Manrique Arijá, S., & Rodríguez Pérez, M. (2012). Marcadores bioquímicos en osteoporosis. Utilidad en la práctica clínica. *Reumatología Clínica*, 8(3), 149–152. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2011.05.010>
- Sejdini, M., Meqa, K., Berisha, N., Çitaku, E., Aliu, N., Krasniqi, S., & Salihu, S. (2018). The Effect of Ca and Mg Concentrations and Quantity and Their Correlation with Caries Intensity in School-Age Children. *International Journal of Dentistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2759040>
- Sewón, L., Laine, M., Karjalainen, S., Leimola-Virtanen, R., Hiidenkari, T., & Helenius, H. (2000). The effect of hormone replacement therapy on salivary calcium

- concentrations in menopausal women. *Archives of Oral Biology*, 45(3), 201–206. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)00137-5](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)00137-5)
- Sewón, Liisi, Laine, M., Karjalainen, S., Doroguinskaia, A., & Lehtonen-Veromaa, M. (2004). Salivary calcium reflects skeletal bone density of heavy smokers. *Archives of Oral Biology*, 49(5), 355–358. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2003.11.004>
- Sharma, E., Vishwanathamurthy, R. A., Nadella, M., Savitha, A. N., Gundannavar, G., & Hussain, M. A. (2012). A randomised study to compare salivary pH, calcium, phosphate and calculus formation after using anticavity dentifrices containing Recaldent® and functionalized tricalcium phosphate. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(4), 504–507. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.106885>
- Singh, B., Sheikh, S., Pallagatti, S., Kaur, K., & Sohi, R. (2013). Evaluation of salivary calcium and salivary parathyroid levels in postmenopausal women with and without oral dryness. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(4), 488–492. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.123051>
- Tabor, E., Húpsch, H., Rokicka, J., Sierpińska, T., Konstantynowicz, J., Orywal, K., & Pluskiewicz, W. (2021). Salivary Content Might be Associated With Skeletal Status in Postmenopausal Women: SilesiaOsteoActive Study Results. *Journal of Clinical Densitometry*, 24(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jocd.2020.02.001>
- Tejeiro, R. (2002). Medición de la densidad mineral ósea. In *osteoporosis* (1º, pp. 38–47). montevideo: grupo de osteopatías de la sociedad uruguaya de reumatología.
- Tilman D. Rachner, Sundeep Khosla, and L. C. H. (2011). New Horizons in Osteoporosis. *Lancet*, 377(9773), 11276–11287. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62349-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62349-5).
- Umar, M., Sastry, K. S., & Chouchane, A. I. (2018). Role of vitamin D beyond the skeletal function: A review of the molecular and clinical studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), 1–28. <https://doi.org/10.3390/ijms19051618>
- Velásquez, N., Pérez-Ybarra, L., Urdaneta, C. J., & Pérez-Domínguez, M. (2019). Asociación de sialometría, fosfato y calcio en saliva total bajo estímulo y en líquido crevicular gingival con caries dental en escolares. *Biomédica*, 39(1), 157–169. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i1.4069>
- Wahab, H. A., Salama, A. A., Saeid, A. A. El, & Battisha, I. K. (2018). Development of ZN R - calcium biosensor application. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9, 1–5. <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aaf287>
- weiner lab. (2022a). *Ca-Color.Arsenazo III AA*. Retrieved from https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum_espagnol/ca_color_arsenazo_3_aa_sp.pdf
- weiner lab. (2022b). *Ca-Color*.

APENDICES

1) CUESTIONARIO SOBRE FACTORES DE RIESGO

Nombre:.....Edad:.....

Contacto:.....

Marque la opción correcta.

	si	no
Fracturas previas.		
Antecedentes de familiares directos con fracturas de cadera		
Antecedentes de familiares directos con osteoporosis.		
Terapia con corticoides por más de tres meses		
Fuma		
Menopausia precoz (amenorrea previa a los 40 años)		

2) CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimada participante:

Por este medio la invitamos a usted a participar, si así lo desea, del proyecto de investigación titulado **“Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis.”**

Este estudio será realizado en la **Facultad de Odontología de la UDELAR por la Dra. María Bernadet Herrera Díaz. Teléfonos 098311196 / 43421032. Correo: bernahd@yahoo.com.ar**

Para poder valorar su interés o no en participar del mismo podrá hacer las preguntas que usted considere pertinentes, si lo considera oportuno podrá comunicarse con quien sea necesario y tomarse el tiempo que requiera para valorar su participación.

Su participación en el proyecto no implicará ningún tipo de costo.

El proyecto de investigación se realizará en el marco de la Maestría en Ciencias Odontológicas y el **objetivo** de interés principal es cuantificar la correlación entre la concentración de calcio salival y la densidad ósea en mujeres menopáusicas.

La osteoporosis es una enfermedad que afecta el hueso. El principal componente cuantitativo del tejido óseo es el calcio. Una de cada 3 mujeres mayores de 50 años padece de osteoporosis. La disminución en los niveles de hormonales que acompaña la menopausia conduce a un deterioro del hueso. La máxima pérdida ósea ocurre en los primeros 5 años luego de la menopausia. Debido a ello, el diagnóstico temprano es de especial importancia. La investigación **se llevará a cabo** durante el segundo y tercer trimestre del año 2021 y **los participantes serán invitadas a concurrir en una única instancia** en la cual las pacientes serán **invitadas a llenar un cuestionario corto** que recaba el nombre, la edad y algunos

factores de riesgo de padecer osteoporosis (6 en total). En esta instancia las mujeres deberán concurrir entre las 8:30 y las 12:30 hrs. Y se le tomará además **una muestra de saliva** para lo cual deberán escupir en un recipiente que les será entregado y deberán abstenerse de comer, beber o higienizarse una hora antes de la recolección de la muestra. Dicho procedimiento será realizado en el consultorio de la Dra. María Bernadet Herrera.

Las muestras de saliva serán analizadas para determinar la concentración de calcio salival y se descartarán inmediatamente. El análisis de las muestras será realizado en el Laboratorio de la Cátedra de Bioquímica-Biofísica de la Facultad de Odontología de la UDELAR.

Asimismo, al aceptar participar en este estudio **se permitirá acceder** por parte del investigador **únicamente** a los datos del **estudio de densidad ósea** presentes en su **historia clínica**.

Los datos aportados por ustedes en el cuestionario así como los datos recabados en los análisis complementarios o historia clínica serán **confidenciales** y de **acceso único por los integrantes del grupo de trabajo** de este proyecto.

Entre los **beneficios** aportados por la participación en este proyecto se pueden enumerar el **monitoreo** de la concentración salival de calcio que ha sido vinculada con un mayor riesgo de padecer enfermedad periodontal, una de las patologías orales de mayor prevalencia en nuestro país.

Los participantes de este proyecto **no reciben remuneración económica**. Y el procedimiento **no tiene costo** extras para los participantes.

Se asegura la **libertad de rechazar esta invitación a participar o de retirarse del estudio** en cualquier momento del mismo, sin que esto traiga consecuencia a los participantes.

El abajo firmante declara que fue informado de los objetivos y procedimientos que serán realizados en este proyecto por esta vía, así como de sus derechos y los deberes de los investigadores. Declara también haber recibido una copia de este documento.

Acepto voluntariamente..... No acepto.....

Nombre:

Número de cédula de identidad.....

Montevideo,.....de 2021.

Firma investigadores.....

3) CARTA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

El proyecto de investigación titulado **“Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis”**

Es un estudio que será realizado en forma conjunta por la **Facultad de Odontología de la UDELAR y el Centro Hospitalario Pereira Rosell**.

Su participación en el proyecto no implicará ningún tipo de costo.

El objetivo principal es cuantificar la correlación entre la concentración de calcio en la saliva y la densidad ósea en mujeres menopáusicas. La densidad ósea es un parámetro que se utiliza para valorar la salud de los huesos.

La osteoporosis es una enfermedad que afecta el hueso. Una de cada tres mujeres mayores de 50 años padece de osteoporosis. La disminución en los niveles de hormonales que acompaña la menopausia conduce a un deterioro del hueso. La máxima pérdida ósea ocurre en los primeros 5 años luego de la menopausia. Debido a ello, el diagnóstico temprano es de especial importancia

La investigación se llevará a cabo durante el segundo y tercer trimestre del año 2021 y las participantes serán invitadas a concurrir en una única instancia en la que llenaran un cuestionario corto que recaba el nombre, la edad y algunos factores de riesgo de padecer osteoporosis (6 en total). En esta instancia las mujeres deberán concurrir entre las 8:30 y las 12:30 hrs. Y se le tomará además una muestra de saliva para lo cual deberán escupir en un recipiente que les será entregado y deberán abstenerse de comer, beber o higienizarse una hora antes de la recolección de la muestra. El análisis de las muestras será realizado en el Laboratorio de la Cátedra de Bioquímica-Biofísica de la Facultad de Odontología de la UDELAR.

Al aceptar participar en este estudio se permitirá acceder por parte del investigador únicamente a los datos del estudio de densidad ósea presentes en su historia clínica.

Los datos aportados por ustedes en el cuestionario así como los datos recabados en los análisis complementarios o historia clínica serán confidenciales y de acceso único por los integrantes del grupo de trabajo de este proyecto.

Entre los beneficios aportados por la participación en este proyecto se pueden enumerar el monitoreo de la concentración salival de calcio que ha sido vinculada con un mayor riesgo de padecer enfermedad periodontal, una de las patologías orales de mayor prevalencia en nuestro país.

Los participantes de este proyecto no reciben remuneración económica. Y el procedimiento no tiene costo extras para los participantes.

Responsable del proyecto: Dra. María Bernadet Herrera Díaz.

Teléfonos 098311196 / 43421032.

Correo: bernahd@yahoo.com.ar

4) TABLAS DE DATOS

Paciente	Edad	FP	AFFC	AFO	TC	F	MP
----------	------	----	------	-----	----	---	----

1	49	0	0	1	0	0	0
2	73	0	0	0	0	0	1
3	40	0	0	0	0	1	1
4	53	0	0	0	0	0	0
5	56	0	0	0	0	0	0
6	51	0	0	1	0	0	0
7	58	0	1	1	0	0	1
8	55	0	1	1	0	0	0
9	62	0	1	1	0	0	0
10	64	0	0	1	0	0	0
11	47	1	0	1	1	0	1
12	47	1	1	0	0	0	1
13	54	0	1	1	0	0	0
14	39	0	0	0	0	1	1
15	46	0	0	0	0	0	0
16	36	1	0	0	0	1	0
17	69	0	0	0	0	0	0
18	45	0	0	0	0	0	0
19	60	0	0	1	0	0	0
20	65	1	0	0	0	1	0
21	60	1	0	0	0	0	0
22	67	0	0	0	0	0	0
23	38	0	0	0	0	0	1
24	53	1	0	1	0	0	0
25	65	0	1	0	0	0	0
26	59	1	0	0	0	1	0

Tabla 4-1: Factores de riesgo de osteoporosis. FP: fractura previa, AFFC: antecedentes familiares de fractura de cadera, AFO: antecedentes familiares de osteoporosis, TC: terapia con corticoides, F: fumador, MP: menopausia precoz

Paciente	flujo salival mL/min	A	[Ca+]mg/dL (fabricante)	[Ca+] µg/mL (curva)
1	2	0,136	5,7	48,0
2	1,5	0,204	8,5	72,0
3	1,6	0,132	5,5	46,4
4	1,6	0,137	5,7	48,2
5	1,8	0,168	6,9	59,0
6	2,8	0,673	28,0	237,0
7	3,1	0,13	5,4	45,6
8	1,8	0,116	4,8	40,8
9	1,5	0,155	6,4	54,5
10	2,4	0,109	4,5	38,3
11	0,9	0,111	4,6	39,0
12	2,9	0,149	6,2	52,4
13	1,2	0,124	5,2	43,6
14	2,9	0,16	6,7	56,2

15	1,8	0,128	5,3	45,0
16	1,6	0,143	5,9	50,1
17	2,2	0,297	12,4	104,4
18	2,4	0,157	6,5	55,2
19	1,6	0,12	4,9	42,3
20	2,1	0,063	2,6	22,2
21	2	0,097	4,0	34,1
22	1,6	0,096	3,9	33,7
23	1,4	0,11	4,5	38,7
24	2,5	0,181	7,5	63,6
25	1,7	0,115	4,7	40,4
26	2,4	0,174	7,3	61,2

Tabla 4-2: Análisis bioquímico de saliva.

Paciente	DMO media columna (L1-L4) g/cm ²	DMO total gr/cm ²	DMO cuello de fémur	T- score
1	0,92	0,84	0,877	-0,3
2	1,177	0,89	0,753	-2
3	0,87	0,67	0,71	-1,8
4				
5	0,963	0,874	0,822	-1,6
6	1,17	0,921	0,815	-0,7
7	0,901	0,833	0,814	-1,6
8				
9	1,3	1,047	1,019	0,9
10	1,27	1,116	0,983	0,6
11	1,033	0,926	0,902	-0,5
12	1,336	1,124	0,996	-0,3
13	0,943	0,92	0,907	-0,9
14				
15	1,229	0,99	0,98	-0,8
16	0,92	0,826	0,799	-1
17	1,29	1,096	1,082	0,3
18				

19				
20				
21	1,192	1,105	0,711	-1,2
22	1,327	0,955	0,969	-0,5
23	1,155	1,197	1,153	1
24	0,849	0,822	0,778	-0,7
25	1,0715	893	0,773	-1,9
26	0,933	0,907	0,785	-1,3

Tabla 4-3: Densidad ósea en diferentes partes del esqueleto axial, T-score

ANEXOS



Montevideo, 24 de marzo de 2022.-

Doctora
Bernadet Herrera

Se comunica a usted la resolución adoptada por el Comité de Ética de fecha 17/03/22;

RESOLUCIÓN No. 1

Exp. No. 091900-000466-19: Analizadas las aclaraciones realizadas por la Responsable, APROBAR el Proyecto titulado: "Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis" - versión marzo 2022, presentado por la Dra. Bernadet Herrera Diaz. (4 en 4).

Sin otro particular, saluda atentamente;

Dra. Alicia Picapedra
Coordinadora del Comité de Ética

COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

Montevideo, 8 de Febrero de 2022.

INTEGRANTES

Coordinadora:

Prof. Dra. Gabriela Garrido



Dra. Beatriz Ceruti

Dr. Bruno Cuturi

Dra. Mariana Malet.

Dra. Olga Larrosa.

Quím. Farm. Fernando Antunez.

Lic. Enf. Scheley Santos.

Prof. Adj. Dra. Virginia Kanopa

Asist. Clínica. Dra. Clara Olmedo

Prof. Adj. (I) Dra. Josefina Tarigo

Lic. Psic. Ruben Garcia.

Lic. Psic. Lourdes Villafaña.

**A: Dirección General del Centro
Hospitalario Pereira Rossell
Dra. Victoria Lafluf**

**De: Integrantes del Comité de
Ética en investigación**

Por la presente se deja constancia que el Comité de Ética en Investigación considera aprobado el proyecto, " **ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE CALCIO SALIVAL Y SU EVENTUAL CORRELACIÓN CON LA DENSIDAD ÓSEA EN PACIENTES CON RIESGO DE OSTEOPOROSIS**". Resp.: Prof. Adj. Dra. Ma Bernadet Herrera Díaz. Prof. Adj. Dra Stephanie Viroga.

Sin otro particular, saludo a usted atentamente.

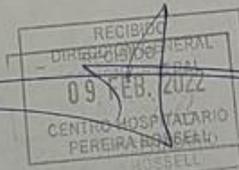


Secretaria

Asst. Part. Julie Nathalie Canobra
comite.etica.investigacion@gmail.com

Recepción de Protocolos

Dirección General del
Centro Hospitalario Pereira Rossell
7º Piso - Tel/Fax: + (598) 2 707 5224
Br. Artigas 1550 C.P. 11600
direccion.pereirarossell@asse.com.uy
Montevideo - Uruguay



Comité de Ética en Investigación
Centro Hospitalario Pereira Rossell
Tel/Fax: +(598) 2707 52 24
e-mail:comite.etica.investigacion@gmail.com

Prof. Dra. Gabriela Garrido
Coordinadora

Montevideo, 26 de agosto de 2021.

Comité de Ética

Facultad de Medicina

Por la presente se otorga el aval para la realización del *Proyecto “Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis”*.

Responsables: Dra. María Herrera (Docente de Odontología), Prof. Adj. Dra. Stephanie Viroga.

Saluda cordialmente.



Prof. Dr. Leonel Briozzo

Montevideo, 13 de julio 2021

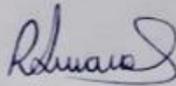
Dra. Alicia Picapedra, Coordinadora del Comité de Ética

Presente

Comunico a Usted que me encuentro en conocimiento del Proyecto "Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis."

El proyecto tiene como responsable a la Dra. María Bernadet Herrera Díaz y será realizado en el marco de la Maestría en Ciencias Odontológicas. Los análisis de laboratorio incluidos en el mismo se realizarán en el laboratorio de la Cátedra de Bioquímica-Biofísica utilizando los recursos (reactivos, equipamientos) de los que allí se dispone.

Sin otro particular, saluda atentamente



Dra. Rosana Amaral

Profesora Cátedra de Bioquímica-Biofísica FO-UDELAR

 <p>Ministerio de Salud Pública</p>	<p>Dirección General de la Salud División Evaluación Sanitaria</p> <p>Solicitud de registro/autorización de proyectos de investigación en seres humanos</p>
--	--

Montevideo, 26-07-2021.

Constancia de Solicitud de Registro de Proyecto

El presente documento hace constar que el proyecto: Estudio de la concentración de calcio salival y su eventual correlación con la densidad ósea en pacientes con riesgo de osteoporosis. fue ingresado el día 26-07-2021, bajo el Nro. 4519554 con los siguientes datos:

Datos del investigador coordinador del proyecto

Nombre: María Herrera Díaz
Documento de identidad: cedula : 38362220
Institución a la cual pertenece: Facultad de Odontología UDLAR
Función en el proyecto: investigador
Correo electrónico: bernahd@yahoo.com.ar
Teléfono de contacto: 098311196

“Esta constancia no implica la aprobación del protocolo registrado ni la autorización para su realización”