

Fisiología y significación clínica de los complejos proteicos salivales

Physiology and clinical significance of salivary protein complexes

Rolando Pablo Juárez^{1,a}, Silvana Domínguez Machado^{1,b}, María Agustina Romero^{1,b}.

RESUMEN

La saliva juega un papel importante en la salud de la cavidad oral y del cuerpo. Las nuevas tecnologías con mayor sensibilidad de detección, han abierto un nuevo horizonte para cribar con éxito los componentes de la saliva, especialmente proteínas y sus metabolitos. Esta revisión se centra en el estado actual de las interacciones y los logros terapéuticos relacionados con las proteínas y péptidos salivales. La comprensión de los procesos que rigen la formación de complejos de proteínas salivales es un reto cada vez más importante en la biología y la medicina. El tratamiento de las enfermedades orales y sistémicas con combinación de compuestos que incluyen proteínas y péptidos salivales, está emergiendo y puede ofrecer una alternativa sólida, en el futuro cercano, para tomar decisiones clínicas.

PALABRAS CLAVE: Saliva, proteínas, péptidos, fisiología, uso terapéutico.

SUMMARY

Saliva plays an important role in oral cavity and body health. New technologies with higher detection sensitivity have opened a new horizon to successfully screen saliva components, especially proteins and their metabolites. This review focuses on the current state of interactions and therapeutic achievements related to salivary proteins and peptides. Understanding the processes which govern salivary protein complexes formation is an increasingly important challenge in biology and medicine. Oral and systemic diseases treatment with combination of compound, including salivary proteins and peptides, is emerging and may offer a robust alternative in near future to make clinical decisions.

KEYWORDS: *Saliva, proteins, peptides, physiology, therapeutic use.*

¹ Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina.

^a Doctor en Odontología. Profesor Titular de la Asignatura Fisiología Humana (Módulo Morfofunción II).

^b Odontóloga. Becaria de investigación (Post-Grado, Categoría Iniciación Tipo B).

INTRODUCCIÓN

La saliva contiene un gran número de proteínas y péptidos con diferentes funciones, cuya identificación como biomarcadores es importante en la investigación de enfermedades sistémicas (1).

Algunas proteínas son sintetizadas por las células secretoras de las glándulas salivales, otras son de origen plasmático. La saliva, cuenta con aproximadamente 2000 proteínas, 26% se encuentran también en la sangre (2), las cuales entran en la saliva, pasando a través de las células por vías transcelulares (difusión intracelular pasiva y transporte activo), o rutas paracelulares por ultrafiltración extracelular dentro de las glándulas salivales, o a través del surco gingival (3). Las principales proteínas son: α -amilasa, mucinas, albumina, IgA, IgG; los péptidos: proteínas ricas en prolina (PRPs), cistatinas, estaterinas, histatinas, defensinas (2).

Las proteínas/péptidos salivales son producidas diferencialmente entre las glándulas salivales. La saliva producida por las glándulas sublinguales, submandibulares y mucosas menores es muy rica en mucinas (MUC5B y MUC7). En contraste, la saliva de la glándula parótida es rica en amilasa, proteínas ricas en prolina y fosfoproteínas - estaterina (4).

La modificación en la composición proteica de la saliva es causada no sólo por los cambios patológicos, también es resultado de numerosos estados fisiológicos, tasa de flujo salival, actividad física, edad, género, dieta, los ritmos circadianos y circanular (1,5). Las proteínas salivales tienen un amplio espectro de actividad, habiendo un solapamiento considerable en la funcionalidad. Por ende, las enfermedades orales pueden no estar relacionadas con la concentración de una sola proteína (6).

Además de su estructura catalítica y funciones reguladoras diversas, las proteínas son también precursores de muchos compuestos biológicos esenciales para el funcionamiento normal de los seres humanos y que pueden ser utilizados como marcadores para la predicción, diagnóstico y monitoreo del tratamiento de patologías específicas. Un conocimiento amplio sobre el metabolismo de las proteínas salivales y los mecanismos de acción de sus metabolitos permitirán el desarrollo de tratamientos eficaces para muchos trastornos (7).

Las proteínas de la saliva tienen potencial diagnóstico, sin embargo, el estudio de la interacción de las mismas y la formación de complejos proteicos, brindará un mejor potencial de la saliva en la práctica clínica.

El objetivo de la presente investigación documental es actualizar la información sobre la formación de complejos proteicos y su significación clínica.

Una búsqueda bibliográfica, en Medline y Ebsco-Host, fue realizada utilizando los siguientes términos de búsqueda: “salivary protein”, “salivary protein complexes” y “salivary protein interactions”.

Criterios de inclusión: se tomaron en consideración los artículos disponibles sobre la interacción de las proteínas salivales y su aplicación clínica, mediante recolección de saliva total.

Criterio de exclusión: no fueron considerados en esta revisión estudios donde la muestra era tomada del fluido gingival crevicular.

Potencial para formar complejos

La formación de complejos proteicos implica fuerzas iónicas, enlaces de hidrógeno, y/o interacciones hidrofóbicas que puedan resultar en estructuras alteradas con nuevas actividades biológicas. En la saliva, sirven como un mecanismo de protección contra la proteólisis, y/o para entregar proteínas salivales en diferentes localizaciones en la cavidad oral (8).

Algunas interacciones, ocurren durante la síntesis de proteínas antes de la secreción de las glándulas; por ejemplo, oligomerización de MUC5B a través de enlaces disulfuro intermoleculares. Otras interacciones solo se producen en la saliva, como la formación de agregados de micelas, la unión de MUC7 a las bacterias y/o linfocitos y la fijación de proteínas y agregados de proteínas a la película dental (9).

Las proteínas salivales forman complejos homotípicos y heterotípicos. La mayoría de éstos implican la formación de complejos, entre las mucinas y otras proteínas salivales. Las mucinas, pueden actuar como moléculas portadoras de amilasas, inmunoglobulinas A, PRPs y estaterinas (6).

La película salival adherida, es esencial para la protección del esmalte y la mucosa en la cavidad oral.

Las proteínas salivares tienen la capacidad de unirse a múltiples tipos de superficies, cruciales para la formación de la película salival en todas las superficies (duras y blandas) dentro de la cavidad oral. La formación de los complejos proteicos varía mucho dependiendo del tipo de las superficies orales, con cambios en la composición y contenido de proteínas (10).

La capa de moco es esencial para la protección, el transporte molecular y la lubricación en los tejidos blandos bucales. En su desarrollo es importante la interacción mucina-mucina (MUC1, MUC5A, MUC5B, MUC7), responsables del depósito de IgA, que juega un papel importante en la respuesta inmunitaria. Otras proteínas del complejo son: anhidrasa carbónica (ACVI) y cistatina S (6,8).

En las superficies dentales, la formación de la película salival se inicia mediante complejos proteicos de esterinas, PRPs e histatinas, por entrecruzamiento químico por enzimas tales como la transglutaminasa (11). La aglutinina secretora o aglutinina salival es una glicoproteína que se ha considerado importante para el mantenimiento de la homeostasis inmune, previniendo la adhesión y agregación bacteriana, vía las células de Langerhans y dendríticas presentes en la mucosa oral. Además, muestra capacidad de unión a una variedad de moléculas endógenas que juegan un papel en la inmunidad innata, tales como la IgA secretora, colectinas, factor del complemento C1q y lectina de unión a la manosa (12).

La interacción entre las proteínas puede modular o alterar (aumentar o disminuir) sus funciones en la saliva. Por ejemplo, cuando la histatina 5 forma un complejo con la amilasa (antes de, o en presencia de *C. albicans*) su efecto antifúngico disminuye significativamente en comparación con la molécula de histatina 5 sola (13).

Potencial impacto en la práctica clínica

Los estudios sobre los complejos proteicos proporcionan una base para estudios sobre el mecanismo y el significado funcional de las interacciones de las proteínas salivales, que puede conducir al desarrollo de un sistema de suministro de proteínas.

Las proteínas/péptidos salivales, debido a su amplia gama de actividades antimicrobianas, juegan un pa-

pel importante en asegurar el buen funcionamiento del organismo humano. Son potencialmente adecuados para el diseño de una nueva generación de antibióticos, activos contra un amplio espectro de microorganismos, sin producir resistencia, en contraste con los antibióticos clásicos (1).

Los péptidos antimicrobianos catiónicos (CAMPs) son pequeños péptidos cargados positivamente, activos contra una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos, virus y parásitos. Los estudios han propuesto diferentes mecanismos de acción: permeabilización/ruptura de la membrana de las células diana, despolarización de la membrana, pérdida de iones vitales y otros componentes celulares, lisis y muerte celular (14).

Durante la última década, los estudios sobre el uso de péptidos sintéticos en farmacéutica y aplicaciones biotecnológicas, han determinado que se podrían superar varios inconvenientes clínicos, tales como la estabilidad y la citotoxicidad, que limitan su utilidad clínica. Dado sus propiedades antimicrobianas y de unión a metal, las histatinas son muy adecuadas para aplicaciones de diversos productos farmacéuticos. Tienen capacidad para inhibir la acumulación de placa y la inflamación gingival en modelos animales. Enjuagues bucales y geles que contienen P113, un fragmento ácido 11-amino de histatina-3, se han formulado para la prevención de la candidiasis y enfermedad periodontal; en la fase I y II/IIb de los ensayos clínicos, fueron seguros y efectivos para la finalidad prevista (15).

Están emergiendo nuevas tecnologías, para la prevención de caries en pacientes con alto riesgo, mediante la utilización de péptidos antimicrobianos, con diferentes vehículos (gel, barnices, microcápsulas de liberación controlada), (16).

Otro campo de la biomedicina, en la que estos péptidos naturales podrían tener aplicación en el futuro es la implantología. El derivado de la histatina 5, JH8194, representa un prometedor sustrato de superficie en implantes dentales, para mejorar la oseointegración y para disminuir las infecciones, pues al ser inmovilizado sobre una superficie de titanio conservó su actividad antimicrobiana y aumentó la diferenciación de osteoblastos (17).

Las cistatinas son esenciales porque protegen los tejidos de la proteólisis inadecuada; pero la expresión elevada de cistatinas está asociada con la tumorigénesis. En particular, CST3 está involucrada en la invasión tumoral y la metástasis. La cistatina SN (CST1) es uno de las varias cistatinas salivales que forman complejos equimolares estrechos con cisteína proteasas, tales como las catepsinas. La cistatina SN neutraliza el efecto inhibitorio de la cistatina C (CST3) sobre la actividad de la catepsina B (CTSB). Se propone que CST1 puede contribuir a la disociación del complejo CST3-CTSB por unión competitiva heterodimérica CST1-CST3, y tendría un efecto beneficioso para los pacientes con cáncer colorrectal (18).

Nanopartículas poliméricas de cistatina, pueden inhibir eficazmente la actividad de la proteasa CTSB, y la inhibición de la actividad de la catepsina por un inhibidor de pan-catepsina, JPM-OEt, mejora los regímenes de quimioterapia al disminuir el crecimiento del tumor y la invasividad (18).

CONCLUSIONES

Cuando más se estudie acerca de las funciones biológicas de las proteínas de la saliva, será posible producir mejores sustitutos de saliva sintética que puedan imitar las funciones beneficiosas de la saliva de origen natural: lubricación, remineralización, cicatrización de heridas y actividades antimicrobianas (19).

En este sentido, el estudio de los complejos proteicos permite comprender la interacción biológica de las proteínas y péptidos con otros constituyentes de la saliva y estructuras morfofuncionales de la cavidad oral. Tiene profundas implicaciones para el desarrollo de nuevas terapéuticas, donde coexistan sustantividad de los vehículos y terapia de combinación de compuestos (concentrados de proteínas/péptidos/ fluoruros/minerales), imitando las interacciones que se producen en los complejos proteicos salivales.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de interés que declarar.

Correspondencia:

Rolando Pablo Juárez. Fisiología Humana.
Correo electrónico: ropablojuarez@gmail.com

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kościelniak D, Jurczak A, Zygmunt A, Krzyściak W. Salivary proteins in health and disease. *Acta Biochim Pol.* 2012;59(4):451-457.
2. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* 2011;57(5): 675-687. doi: 10.1373/clinchem.2010.153767.
3. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis.* 2011; 17(4): 345-354. doi:10.1111/j.1601-0825.2010.01773.x.
4. Bosch JA, Veerman ECI, de Geus EJ, Proctor GB. Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: Don't start salivating just yet! *Psychoneuroendocrinology.* 2011; 36:449-453.
5. Rosa L, Teixeira A, Lira F, Tufik S, Mello M, Santos, R. Moderate acute exercise (70% VO₂ peak) induces TGF- β , α -amylase and IgA in saliva during recovery. *Oral Dis.* 2014;20(2):186-190. doi: 10.1111/odi.12088.
6. Gibbins HL, Proctor GB, Yakubov GE, Wilson S, Carpenter GH. SIgA Binding to Mucosal Surfaces Is Mediated by Mucin-Mucin Interactions. *PLoS One.* 2015;10(3):e0119677. doi: 10.1371/journal.pone.0119677.
7. Koneru S, Tanikonda R. Salivaomics: A promising future in early diagnosis of dental diseases. *Dent Res J (Isfahan).* 2014;11(1):11-15.
8. Gibbins HL, Yakubov GE, Proctor GB, Wilson S, Carpenter GH. What interactions drive the salivary mucosal pellicle formation? *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2014;120(100):184-92. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.05.020.
9. Schulz BL, Cooper-White J, Punyadeera CK. Saliva proteome research: current status and future outlook. *Crit Rev Biotechnol.* 2013;33(3):246-59. doi: 10.3109/07388551.2012.687361.
10. Gibbins HL, Proctor GB, Yakubov GE, Wilson S, Carpenter GH. Concentration of salivary protective proteins within the bound oral mucosal pellicle. *Oral Dis.* 2014;20(7):707-13. doi: 10.1111/odi.12194.
11. Hannig C, Spitzmüller B, Hoth-Hannig W, Hannig M. Targeted immobilisation of lysozyme in the enamel pellicle from different solutions. *Clin Oral Invest.* (2011); 15(1): 65-73. doi:10.1007/s00784-009-0357-2.
12. Boks MA, Gunput STG, Kosten I, Gibbs S, van Vliet SJ, Ligtenberg AJM et al. The Human Glycoprotein Salivary Agglutinin Inhibits the Interaction of DC-SIGN and Langerin with Oral Micro-Organisms. *J Innate Immun.* 2016;8:350-361. doi:10.1159/000443016.
13. Moffa EB, Machado MAAM, Mussi MCM, Xiao Y, Garrido SS, Giampaolo ET, et al. In Vitro Identification of Histatin 5 Salivary Complexes. *PLoS*

- ONE. 2015;10(11): e0142517. doi:10.1371/journal.pone.0142517.
14. Lis M, Bhatt S, Schoenly NE, Lee AY, Nislow C, Bobek LA. Chemical genomic screening of a *Saccharomyces cerevisiae* genomewide mutant collection reveals genes required for defense against four antimicrobial peptides derived from proteins found in human saliva. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(2):840-7. doi: 10.1128/AAC.01439-12.
 15. Melino S, Santone C, Di Nardo P, Sarkar B. Histatins: salivary peptides with copper(II)- and zinc(II)-binding motifs. Perspectives for biomedical applications. *FEBS J*. 2014;281(3):657-72. doi: 10.1111/febs.12612.
 16. Bretz WA, Rosa OPS. Emerging technologies for the prevention of dental caries. Are current methods of prevention sufficient for the high risk patient? *Int Dent J*. 2011; 61(S1):29–33. doi:10.1111/j.1875-595X.2011.00027.x.
 17. Makihira S, Nikawa H, Shuto T, Nishimura M, Mine Y, Tsuji K, Okamoto K, et al. Evaluation of trabecular bone formation in a canine model surrounding a dental implant fixture immobilized with an antimicrobial peptide derived from histatin. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22(12):2765-72. doi:10.1007/s10856-011-4440-2.
 18. Kim J-T, Lee S-J, Kang MA, Park JE, Kim B-Y, Yoon D-Y, et al. Cystatin SN neutralizes the inhibitory effect of cystatin C on cathepsin B activity. *Cell Death Dis*. 2013;4(12):e974-. doi:10.1038/cddis.2013.485.
 19. Ruhl S. The scientific exploration of saliva in the post-proteomic era: from database back to basic function. *Expert Rev Proteomics*. 2012; 9(1): 85–96. PMID: PMC3289089.

Recibido : 19/12/2015 Aceptado: 21/06/2016
