



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROTEÓMICA SALIVAL COMO AUXILIAR  
DIAGNÓSTICO.

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**CIRUJANA DENTISTA**

P R E S E N T A:

KARINA PIÑA BONILLA

TUTORA: Esp. LILA ARELI DOMÍNGUEZ SANDOVAL

Cd. Mx.

2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS:

A mis padres: No hay nada que pueda hacer, que me parezca suficiente para agradecerles todo el apoyo que me han brindado durante éste largo camino, cada hora dedicada, cada letra y palabra escritas a continuación son el resultado de todo lo que me han enseñado en la vida, a no rendirme, que puedo lograr grandes cosas si me esfuerzo, que todo lo que hacemos, bueno y malo tiene consecuencias y sobre todo, que nunca estamos solos si tenemos a nuestros maravillosos padres a nuestro lado, hoy quiero que sepan que no solo gran parte de mis logros, si no todos ellos son por ustedes. En estos tiempos difíciles, verlos enfermar fue la prueba más grande que la vida me ha puesto, así que hoy solo quiero decirles GRACIAS y que la vida me permita vivir con ustedes muchos años más para poder demostrarles que sigo avanzando.

A mis hermanas Vero y Diana: Ustedes, de alguna forma han sido también como madres para mí, gracias por apoyarme, por haber sido mis conejillos de indias en la carrera, por darme a sobrinos maravillosos por quienes siempre me esfuerzo por impresionar, por estar a cada paso y alentarme para conseguir mis sueños, gracias por ser mi ejemplo y mi motivación día a día.

A mis amigos: Cada persona define la amistad de una forma distinta, cada quien aprecia y valora diversos aspectos de la compañía de una persona, yo personalmente valoro la sencillez del apoyo sincero y el genuino interés por ayudar al prójimo, gracias a cada uno de los verdaderos amigos que he podido hacer dentro y fuera de la facultad pero en especial muchas gracias a ustedes, Danna y Javo, por haber sido mi paracaídas en incontables ocasiones, por nunca dejarme caer, por estar cerca aun estando lejos, gracias por demostrarme que el valor de la amistad radica en sentir la presencia y el apoyo de alguien que puede encontrarse a km de distancia.

A mi <3, el amor como definición no tiene un concepto claro, para mí, en especial amor significa el ayudar a esa persona a crecer, a lograr sus metas, pero también a ser conscientes de que todo conlleva un gran esfuerzo.

Platón decía que el verdadero amor radica en la admiración, es por ello que siempre debemos elegir a una pareja cuyas cualidades te complementen, de ésta forma, el amor te ayudará a desarrollar tu máximo potencial en la vida, hoy quiero decirte que te admiro profundamente y que cada día me sorprendes con tu gran inteligencia y enorme corazón, gracias por apoyarme siempre y por ser mi impulso en los momentos difíciles, no hay alegría más grande que poder compartir ésta etapa y éste logro contigo.

A mi tutora: Esp. Lila Areli Domínguez, quizá no me recordara como alumna, porque nunca me consideré sobresaliente, pero, algunas de las clases que más recuerdo fueron las suyas, trabajé durante toda la carrera así que regularmente siempre tenía sueño, pero en sus clases siempre lograba captar mi atención y tenerme atenta y a la expectativa pensando que ejemplo tan real y gracioso nos pondría ésta vez, cuando ingresé al seminario, quería pedirle que fuera mi tutora pero por alguna razón no pude hacerlo, cuando recibí la lista y me di cuenta que era usted me dio mucho gusto, agradezco el reto de haberme ayudado a elegir un tema del cual conocía muy poco pero he aprendido tanto, gracias por su paciencia y porque siempre nos motivó a continuar esforzándonos.

Dra. Elvira Guedea: De todos los profesores que tuve el placer de conocer en la Facultad, la que más me sorprendió por su excelente calidad humana y académica fue usted, quien además fue, por mucho uno de los principales motivos por los cuales yo continué con la carrera, gracias por apoyarme siempre, por sus consejos y por su excelente disposición, sin duda es mi mayor ejemplo en muchos sentidos, gracias Dra. por alentarme a siempre dar más, a aprender más y por recordarme que todos los límites nos los ponemos nosotros mismos.

A todos mis profesores y comunidad UNAM: Uno no valora lo mucho que podía obtener de la UNAM hasta que ya no puede ir, no puede entrar a sus aulas, visitar sus bibliotecas, museos y lugares de esparcimiento, uno no entiende lo afortunado que es hasta que en su ambiente y entorno de trabajo a todos les parece grandioso el oír “estudié en la UNAM” así que hoy quiero agradecer a la máxima casa de estudios, a mis profesores, compañeros y toda la comunidad UNAM por hacer de ella la mejor y permitirme aprender tanto.

A los dos ángeles que ahora tengo: Por diversas circunstancias, no soy muy allegada a mi familia que no es nuclear, pero hubo dos personas en especial con las que me siento eternamente agradecida por haber tenido la oportunidad de convivir, mi abuelo y tío favoritos, no lo fueron por ser los más amorosos o los más consentidores, con ellos pude hablar de tantas cosas, reír por tantos motivos y aprender mucho, desafortunadamente debido a las circunstancias de salud actuales, tuvieron que partir del mundo material casi al mismo tiempo, dejándome con el sentimiento de “quizá debí...” nunca esperé nada de lo que sucedió, pero si es que ustedes aún pueden verme o estar presentes de alguna forma, muchas gracias, por ser mis miembros favoritos de la familia, por las fiestas, las risas y los regaños, nunca me llamaron por mi nombre, siempre tuve apodos, apodos que el día de hoy daría todo por volver a escuchar de sus bocas.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN A LA PROTEÓMICA .....	3
1.1. Definición de proteómica .....	4
1.2. Generalidades de la proteómica .....	5
1.3. Técnicas proteómicas.....	8
1.3.1. Proteómica cualitativa .....	8
1.3.2. Proteómica cuantitativa: .....	11
1.4. Proteoma humano .....	12
1.5. Proteómica salival.....	13
CAPÍTULO 2. LA SALIVA Y SUS PROPIEDADES .....	14
2.1. Generalidades de la saliva .....	15
2.2. Glándulas salivales .....	18
2.3. Componentes de la saliva .....	22
2.3.1. Componentes proteicos y glucoproteínas.....	23
2.3.2. Componentes orgánicos no proteicos .....	31
2.3.3. Componentes inorgánicos .....	33
2.4. Funciones.....	33
2.4.1. Funciones alimentarias .....	33
2.4.2. Funciones relacionadas con la salud bucal .....	35
2.4.3. Funciones relacionadas con la fonación.....	36

CAPÍTULO 3. LA PROTEÓMICA SALIVAL COMO AUXILIAR DIAGNÓSTICO.....	38
3.1. Cáncer oral.....	39
3.2. Enfermedades infecciosas .....	41
3.3. Enfermedades neurológicas.....	42
3.4. Enfermedades autoinmunes .....	43
3.5. Enfermedades de baja incidencia .....	44
CONCLUSIONES .....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47

## INTRODUCCIÓN

El diagnóstico probablemente es uno de los pilares más fuertes en las ciencias de la salud. Nos interesa conocer el nombre de lo que padecemos y ese nombre nos permite descansar o nos genera angustia. Por eso es tan importante el DIAGNÓSTICO y qué mejor que sea adecuado. Así es que diversas enfermedades a través del tiempo han tenido cambios, algunos de ellos han sido facilitados gracias a diversos métodos y auxiliares de diagnóstico que han permitido obtener una mejor visión y comprensión de cada una de las características del padecimiento y mejorar el estudio y tratamiento de cada entidad. Si bien la medicina como la odontología se han servido de todos los recientes avances tecnológicos para lograr cada día un mejor diagnóstico de las enfermedades y ofrecer un tratamiento adecuado y más certero y en ello tiene que ver la proteómica, como estudio especializado en la biología molecular y que permite establecer biomarcadores específicos.

En este trabajo se analiza la posibilidad y ventajas de utilizar la proteómica salival como auxiliar diagnóstico para diversos tipos de enfermedades, así como los materiales y métodos requeridos para ello.

Se debe considerar que la proteómica, en los últimos años ha tenido muy importantes avances y han permitido ampliar su campo de aplicación con la facilitación del diagnóstico de algunos padecimientos que describiremos a continuación.

Los principios de la proteómica se basan en entender las variedades, cantidades, roles y dinámicas de todas las proteínas en una célula, tejido u organismo y su repercusión directa en funciones y cambios celulares y de función, de ahí que el poder encontrar y definir ciertas moléculas que permiten identificar alguna enfermedad antes de que sea visible es determinante para la vida y bienestar del paciente.



Las proteínas son elementos estructurales o funcionales de las células, que comprenden secuencias de aminoácidos ensambladas de acuerdo con moldes de ADN y ARN. Sus secuencias determinan su estructura y, por tanto, sus funciones celulares.

En la mayoría de las proteínas se producen modificaciones postranscripcionales y su dinámica resulta de la síntesis y degradación lo cual es un mecanismo que está bien controlado en la fisiología normal.

También, las proteínas pueden trabajar en grupos, por lo que las expresiones concurrentes, la localización y las interacciones físicas pueden arrojar luz sobre sus roles celulares y dentro del espacio extracelular, su circulación a través del torrente sanguíneo y cómo funcionan lejos de donde se generaron. Esta es la razón por la que muchas proteínas séricas y urinarias sirven como biomarcadores clínicos. Muchos aspectos de relevancia clínica aún esperan ser descubiertos sin embargo la saliva puede ser un ambiente propicio para utilizarlo como parte del diagnóstico bucal de enfermedades que comprometen la vida e integridad del paciente y en esta premisa se la importancia de esta revisión.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos específicos son:

- Identificar el uso de la proteómica salival como un elemento útil en el diagnóstico oral.
- Considerar el método diagnóstico a través de biomarcadores salivales como un auxiliar innovador.
- Identificar sus implicaciones y beneficios en diversos padecimientos
- Ejemplificar aplicaciones de la proteómica salival como auxiliar diagnóstico en diversos padecimientos.

## **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN A LA PROTEÓMICA**

La proteómica es el análisis de todo el complemento proteico de una célula, tejido u organismo en un conjunto de condiciones específicas y definidas. En su estado actual, depende de décadas de desarrollo tecnológico e instrumental. Este desarrollo ha incluido avances de la tecnología de la espectrometría de masas (EM), técnicas de fraccionamiento de proteínas, bioinformática, etc. La proteómica se basa en tres pilares tecnológicos básicos que incluyen:

1. Un método para fraccionar mezclas complejas de proteínas o péptidos,
2. Espectrometría de masas (EM) para adquirir los datos necesarios para identificar proteínas individuales.
3. Bioinformática que se aplica para analizar y recopilar los datos de la EM.

Si bien la EM y los componentes bioinformáticos son algo similares en la mayoría de las aplicaciones, existen distintos métodos para separar muestras de proteínas complejas en proteómica. Esta tecnología de separación es la técnica más comúnmente utilizada en la proteómica actual y sus avances en esta tecnología han permitido que miles de proteínas en un solo gel queden disueltas y puedan ser identificadas. Ningún área de la proteómica ha evolucionado más rápido que la bioinformática. La proteómica depende fundamentalmente de la bioinformática para procesar los datos espectrales de masas sin procesar, en datos de proteínas. Si bien todos los laboratorios los utilizan de forma rutinaria, los programas de software más críticos son los que toman el mapeo de péptidos y / o los resultados de EM en tándem y determinan la secuencia de proteínas o péptidos que más se aproxima a los datos experimentales. <sup>13</sup>

## 1.1. Definición de proteómica

El término **proteoma** apareció en 1994 como un equivalente lingüístico del concepto de **genoma**, pero con referencia al conjunto de proteínas. Describe el conjunto completo de proteínas que se expresan, según el genoma (conjunto de genes), y los factores externos, durante la vida de una célula.

La proteómica implica el estudio a gran escala de proteínas, su estructura y papel o funciones fisiológicas. Si bien las proteínas son componentes celulares o biomoléculas por excelencia, que conforman estructural y funcionalmente a los organismos vivos, el término proteómica apareció por primera vez hasta 1997. La palabra **proteoma** es en realidad una combinación de proteína y genoma y fue acuñada por Mark Wilkins en 1994. Para ser precisos y específicos, **proteoma** es la expresión completa o base de datos y conjunto de proteínas producidas por un organismo vivo identificando su origen y tratando de cotejar su función.

El proteoma es un término amplio que también abarca las alteraciones o modificaciones producidas en la proteína nativa cuando los organismos están sujetos a gran cantidad de cambios.

Las técnicas proteómicas permiten:

- \* Separar y dilucidar la estructura del conjunto de proteínas (proteómica estructural) incluyendo su estructura tridimensional. Precisamente, dicha estructura es el talón de Aquiles para definir la región molecular en que la unión de una droga puede activar o desactivar a una proteína.
- \* Estudiar la función proteica y las relaciones entre su estructura y su función así como dilucidar el rol de las proteínas en el proceso patológico (proteómica funcional).
- \* Definir el perfil proteico y aplicar el conocimiento obtenido en la identificación de blancos de drogas (fármaco proteómica).
- \* Detectar marcadores proteicos que puedan ser usados para la detección temprana de la enfermedad, pronóstico y seguimiento del tratamiento (proteómica clínica).

## 1.2. Generalidades de la proteómica

El conjunto de técnicas que estudian cuantitativamente y los cambios cualitativos en las proteínas expresadas (proteoma) en un organismo o tejido es la proteómica. Su estudio se centra en el conocimiento del conjunto de las interacciones entre proteínas para constituir la red de interacciones, que caracteriza el funcionamiento de los organismos vivos..

Una de las diferencias fundamentales entre la proteómica y el estudio clásico de las proteínas es su carácter global e integral. No se centra en el estudio de una determinada proteína, sino que consiste en un estudio de aproximación al funcionamiento del conjunto de proteínas, lo que hacen de forma recíproca y en conjunto, cómo actúan en diferentes sustratos y qué modificaciones regulan..

La investigación del proteoma se centra, principalmente, en la puesta a punto de métodos exactos y relativamente rápidos para identificar y caracterizar el conjunto de proteínas.

Entre las tecnologías clásicas que se utilizan se encuentran la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas (fig. 1). Otra técnica más novedosa que ya ha proporcionado buenos resultados son los «chips de proteínas» que, al igual que los «chips de ADN», permiten el análisis simultáneo de miles de proteínas. Además, gracias a la bioinformática, existen programas capaces de determinar las reacciones metabólicas que tiene una determinada proteína con el resto del proteoma. Y también se puede modelar por computadora distintas formas mutantes de una proteína (fig. 2), e incluso determinar cómo interactúa una proteína con sus respectivos sustratos.

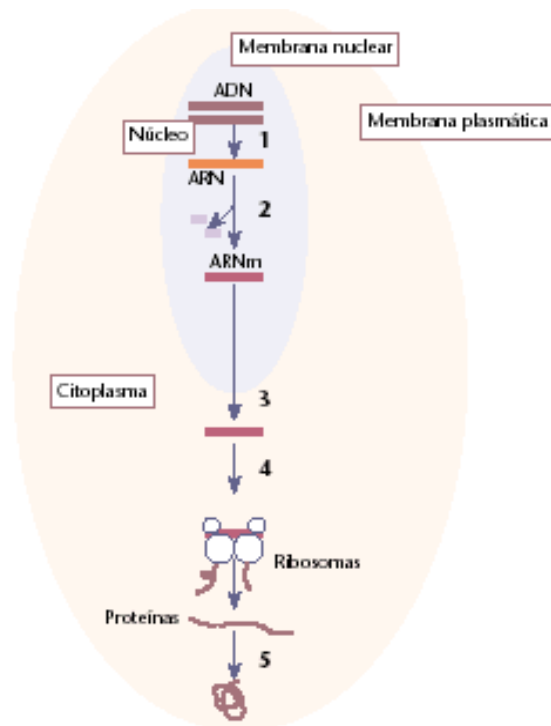


Fig. 1. Resumen del proceso de síntesis proteica: el ADN (1) se transcribe a un ARN (2) precursor; una vez eliminadas las secuencias intrónicas por el proceso de *splicing*, el ARN maduro o mensajero abandona el núcleo de la célula (3) y en el citoplasma es traducido por los ribosomas en una cadena polipeptídica (estructura primaria de la proteína) (4); a partir de aquí la proteína sufre varias modificaciones postraduccionales y acaba plegándose para adoptar la conformación biológica funcional (5).<sup>14</sup>

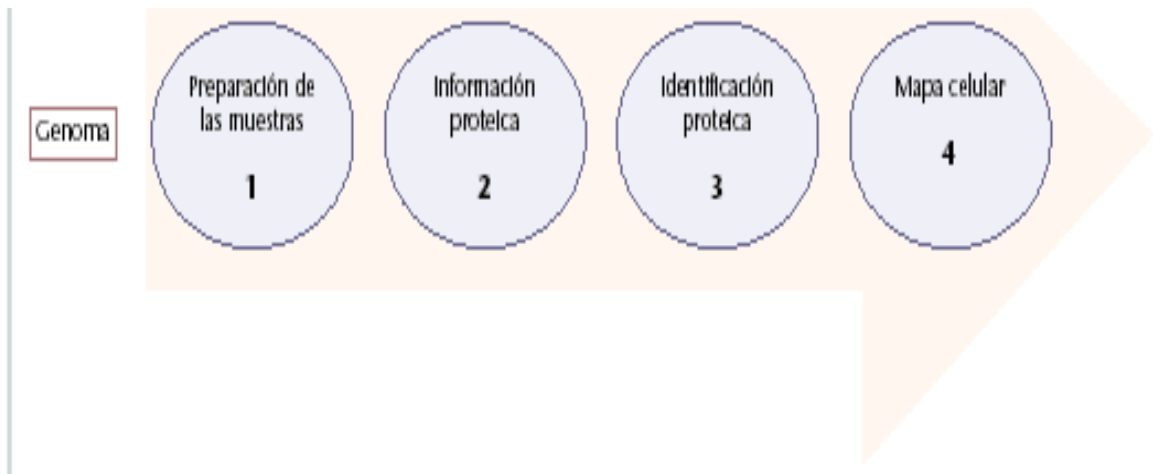


Fig. 2. Pasos estratégicos para el análisis del proteoma. La proteómica pretende crear un puente entre los genes y sus productos, las proteínas. Para lo cual se realiza el siguiente proceso: preparación de la muestra mediante técnicas de electroforesis en 2D, y cromatografía (1), determinación parcial de la secuencia de aminoácidos (2), identificación y cuantificación de las proteínas mediante técnicas biocomputación (3) y estudio de las interacciones proteicas, estructura, y localización celular (4).<sup>14</sup>

### 1.3. Técnicas proteómicas

Las técnicas proteómicas se dividen en cualitativas y cuantitativas. Las **cualitativas** informan acerca de la expresión o no de una determinada proteína o conjunto proteico (presencia/ausencia), mientras que la proteómica **cuantitativa** permite determinar y comparar la cantidad de proteína presente en la muestra. En los estudios en proteómica, la muestra es una mezcla compleja de cientos/miles de proteínas. Por este motivo es esencial la utilización de una técnica de separación. Estas técnicas se agrupan en: gel y gel-free. Las técnicas en **gel** son aquellas en las que se utiliza un entramado de polímeros para la separación. Las técnicas **gel-free** realizan la separación de la muestra proteica en solución mediante diferentes tipos de cromatografía líquida (intercambio iónico, afinidad, fase reversa) <sup>14</sup>

#### 1.3.1. Proteómica cualitativa

**Técnicas en gel.** La separación de las proteínas en gel es una herramienta que permite la separación de estas por propiedades como el tamaño (Mr), el punto isoeléctrico (pI) y/o la conformación (geles nativos). Esta separación se puede realizar por una sola propiedad (monodimensional) o por 2 propiedades consecutivas (bidimensional). Debido a la complejidad de los extractos proteicos totales, la separación de las muestras en electroforesis bidimensional (2DE) ofrece una mayor resolución. Mediante esta técnica las proteínas son separadas por pI y posteriormente por Mr, obteniendo un mapa global del proteoma de la muestra. La técnica 2DE únicamente puede ser aplicada satisfactoriamente si hay un mínimo de 10<sup>8</sup> células aisladas. Esta técnica permite separar entre 3.000-5.000 proteínas únicas, diferenciadas generalmente en un único spot. No obstante, una misma proteína puede identificarse en diferentes spots, indicando que esta proteína presenta varias isoformas que difieren en pI y/o Mr. Estas isoformas pueden informar acerca de las posibles PTM de una determinada proteína. <sup>14,24</sup>

Las PTM más frecuentes son fosforilaciones, glicosilaciones o proteólisis limitada. Otro fenómeno menos común es la identificación de dos proteínas en el mismo spot, debido a su igual pI y Mr.

La preparación de la muestra para la electroforesis bidimensional es crucial para la obtención de resultados óptimos, siendo necesarios procesos de solubilización, disgregación, desnaturalización y reducción de las proteínas. Una posibilidad que ofrecen los geles 2D es su combinación con técnicas de marcaje de proteínas permitiendo la comparación de proteomas en un mismo gel, evitando de esta manera las variaciones interensayo (entre geles/experimentos). Esta técnica es conocida como gel bidimensional diferencial (2D-DIGE). El marcaje mediante fluoróforos puede ser aplicado al estudio comparativo de 2 proteomas permitiendo una cuantificación relativa de las muestras. Este marcaje puede dirigirse a conjuntos específicos de proteínas; por ejemplo, el estudio de proteínas con regiones expuestas hacia el medio extracelular. La aplicabilidad de esta técnica ha permitido el estudio del surfoma (técnica para la detección de las proteínas expuestas en la superficie celular) evitando el fraccionamiento de proteínas de superficie, las cuales suelen ser largas y costosas. Los geles 2D-DIGE se pueden aplicar a la búsqueda de dianas terapéuticas analizando el proteoma in vitro frente al proteoma del patógeno en situación de infección, obteniendo en el mismo gel la comparativa del proteoma en ambas situaciones. Debido a la dificultad para obtener muestra suficiente de patógeno en situación de infección, se han realizado estudios en los que se compara el proteoma del microorganismo in vitro en diferentes fases de crecimiento. En el trabajo de Hayashi et al.<sup>28</sup> se estudiaron las proteínas expresadas por *Legionella pneumophila* en 2 fases de crecimiento: exponencial y postexponencial, observándose una elevada expresión de factores de virulencia en la fase postexponencial. Gracias a este estudio se puede establecer en futuros trabajos con *Legionella*, el proteoma en fase postexponencial como aproximación del proteoma en infección.



Es decir, que en los pacientes que se sospecha la enfermedad por este microorganismo se puede estudiar su suero y determinar la producción de la proteína. Una desventaja importante de la técnica 2DE es la limitación en la capacidad de enfoque de proteínas de media a baja abundancia debido a la gran gama de niveles de expresión de proteínas. Las proteínas más afectadas por dicha limitación son las proteínas de membrana y proteínas de bajo peso molecular, que se encuentran sub-representadas en proteomas totales. Estas proteínas pueden ser mejor detectadas mediante otras técnicas proteómicas.<sup>4</sup>

**Técnicas gel-free.** La técnica gel-free requiere una primera separación de las proteínas presentes en la muestra mediante cromatografía líquida por diferentes propiedades, definidas según la columna utilizada. Existen en el mercado diferentes tipos de columnas, siendo las más utilizadas las de fase reversa, intercambio iónico, afinidad y exclusión molecular. Posteriormente se realiza un análisis mediante MS para la identificación de las proteínas (LCMS/MS). Las técnicas de separación gel-free son aconsejables cuando la cantidad de muestra es escasa, como es el caso de experimentos en infección en los que se obtiene una baja cantidad de microorganismos. En estos casos, las técnicas gel-free MS son adecuadas por ofrecer una mejor sensibilidad, ya que permite monitorizar 500- 600 proteínas desde únicamente 10<sup>6</sup> células<sup>14</sup>(una cantidad 100 veces menor que en los geles 2D). Esta técnica permite la detección de proteínas difícilmente separables en 2DE, como proteínas muy hidrofóbicas, proteínas de membrana y proteínas con pI o Mr extremos, como son las proteínas ribosomales con un pI básico 30-32. Un claro ejemplo en el que se demuestra esta mayor sensibilidad, es el trabajo realizado en *Mycoplasma genitalium*, modelo de genoma y proteoma mínimo, en el que se estudió la fracción rica en proteínas de membrana mediante fraccionamiento por tritón<sup>14</sup>. El análisis de esta fracción se realizó tanto por 2DE como por LC-MS, obteniéndose una clara diferencia en cuanto a número de proteínas identificadas. Mediante 2DE se identificaron 49 proteínas, mientras que por LC-MS se identificaron 242 proteínas.<sup>4,14,24</sup>

### **1.3.2. Proteómica cuantitativa:**

La proteómica cuantitativa es una herramienta útil para los análisis proteómicos mediante LC-MS/MS<sup>34</sup>. Los métodos de cuantificación se pueden clasificar en cuantificación relativa/absoluta o con/sin marcaje. Los métodos de cuantificación relativa (ICAT, iTRAQ, IPTL o SILAC) son utilizados para la comparación de abundancias de proteínas o péptidos entre muestras. Por otro lado, mediante el uso de péptidos sintéticos marcados isotópicamente se obtiene una cuantificación absoluta de los péptidos diana.<sup>4,16</sup>

### **Proteómica cuantitativa mediante marcaje:**

Las técnicas cuantitativas mediante marcaje utilizan compuestos isotópicos para un posterior análisis mediante MS, obteniendo una cuantificación relativa. El marcaje de las proteínas puede efectuarse durante el crecimiento celular o una vez realizada la extracción de estas. Las muestras a comparar son diferenciadas mediante marcaje isotópico. Según la técnica de marcaje diferenciamos: ICAT (isotope code affinity tagging: marcaje por afinidad con codificación isotópica), iTRAQ (multiplexed isobaric tagging chemistry: etiquetado isobárico multiplexado químico) e IPTL (isobaric peptide termini labeling: unión terminal isobárica del péptido). La cuantificación relativa mediante marcaje permite la comparativa de 2 poblaciones según su crecimiento celular mediante SILAC (stable isotope labeling by/with amino acids in cell culture: marcaje isotópico estable de aminoácidos en cultivo celular). En esta técnica, los marcadores isotópicos no radiactivos son incorporados durante el crecimiento celular a las proteínas sintetizadas de novo. Las técnicas de cuantificación mediante marcaje tienen ciertas limitaciones, como es el incremento de la complejidad en la preparación de la muestra (por el tratamiento independiente de la muestra), la necesidad de una gran concentración de esta, los costes elevados de los reactivos, marcajes incompletos que distorsionan el resultado y la necesidad de software específico para la cuantificación.<sup>4,18,26</sup>

### **Proteómica cuantitativa libre de marcaje:**

Las estrategias libres de marcaje pueden ser utilizadas para cuantificación tanto relativa como absoluta. Estas técnicas alcanzan una mayor rapidez, resultados más limpios y un análisis simple de los resultados. Por este motivo son prometedoras en la cuantificación de proteínas poco abundantes debido a su alta sensibilidad, aunque para ser aplicadas se deben tener en cuenta ciertos criterios: a) es necesario disponer de espectrómetros de masas con gran precisión e instrumentos HPLC con un tiempo seguro de retención; b) debe ser aplicado suficiente material para determinar la concentración proteica antes de la medición por MS con la finalidad de aplicar cantidades equivalentes de péptidos, y c) el número de péptidos de la célula hospedadora debe ser reducido al mínimo para evitar falsos positivos. La cuantificación de proteínas por este método se basa generalmente en 2 categorías: a) medición de los cambios de intensidad de los iones, ya sea por área de los picos o por la altura de estos en espectrometría, y b) recuento de espectros de las proteínas identificadas después del análisis MS/MS<sup>42-53</sup>. Una mejora de la proteómica cuantitativa sin marcaje es la incorporación de péptidos sintéticos marcados isotópicamente como estándares internos. Estos péptidos permiten una cuantificación absoluta (AQUA: absolute quantification) de los péptidos de interés.<sup>4,6,17</sup>

### **1.4. Proteoma humano**

El proyecto del proteoma humano (PPH) es un plan internacional que permite identificar todas las proteínas que producen los genes; en total, cerca de 20.300 proteínas. Cada país participante estudia uno de los 23 cromosomas.

Su objetivo principal es conocer el funcionamiento y acción de cada proteína en las funciones celulares y todo el ambiente en que se desarrolla.

Además, el PPH permite conocer los mecanismos de modificación postraduccionales de las proteínas, en su funcionalidad. Además de detectar las influencias que puedan tener en su función.

El Proyecto del Proteoma Humano informa anualmente sobre el progreso en todo el campo en la identificación y caracterización de la lista de partes de proteínas humanas haciendo de la proteómica una parte integral de los estudios de multiómica (conjunto de datos de genoma, proteoma, transcriptoma, epigenoma y microbioma) en medicina y ciencias de la vida. Por último, se ha avanzado en el uso del enfoque proteómico cuantitativo multiplexado de proteínas populares dirigidas a órganos específicos en diversas categorías de enfermedades.<sup>12</sup>

### **1.5. Proteómica salival**

Su aplicación en el área de la salud ha sido validada por su especificidad clínica.

A nivel odontológico, se reportan diferentes áreas en las que contribuye la proteómica, especialmente la salival.

Es importante saber cómo contribuye la expresión de proteínas a nivel ultraestructural en la mejora de las condiciones del diagnóstico odontológico aplicado clínicamente. Una importante área es su aplicación en las diferentes lesiones de la patología oral y dental con su implicación y enfermedades relacionadas.<sup>7,19</sup>

La cavidad oral comprende cientos de proteínas con una amplia gama de funciones biológicas como la defensa inmune y la homeostasis de la biopelícula, la descomposición de nutrientes y la remineralización de los tejidos duros dentales. Estas proteínas se caracterizan por cualidades moleculares, que se expresan de manera abstracta mediante puntuaciones como índice alifático, índice de inestabilidad, carga neta y punto isoeléctrico. Del mismo modo, las proteínas tienen secuencias de aminoácidos únicas que afectan su estructura, función, capacidad de unión, funcionalidad mediante glicosilación y fosforilación, así como la interacción con otras proteínas, ligandos o bacterias.

Por lo tanto, para comprender la organización y la función de un proteoma e identificar posibles objetivos para el diagnóstico o la terapia médica, es necesario explorar las propiedades individuales y la relevancia resultante de una proteína en un entorno específico.

Las proteínas presentes en la saliva humana ofrecen un inmenso potencial para aplicaciones clínicas. Sin embargo, la exploración del proteoma salival se ve técnicamente desafiada debido a la presencia de amilasa y albúmina normalmente abundantes.

La comprensión más profunda de todas las proteínas en un proteoma permite identificar posibles patrones fisicoquímicos, estructurales o funcionales, lo que puede facilitar el conocimiento específico de la biología de la proteína local y ayudar a la traducción de los resultados obtenidos a otros proteomas.<sup>34</sup>

## **CAPÍTULO 2. LA SALIVA Y SUS PROPIEDADES**

La saliva tiene la característica de ser el fluido del cuerpo humano más disponible, ya que se puede obtener de forma no invasiva, y que lubrica permanentemente la cavidad oral, enfrentando una gran diversidad de cambios dentro de ella. La saliva puede participar en controvertidos procesos dentro de la cavidad bucal, por un lado, interviene en la formación de la película adquirida, sin embargo, también ayuda a la formación de defensas físico-químicas de los dientes.

La saliva es un fluido que se extiende por todas las regiones mucosas de la boca y ha cobrado especial interés debido a la accesibilidad de recolección para muestras y su análisis. La producción de saliva está sujeta a diferentes circunstancias de la vida cotidiana y cambios como, por ejemplo: la ingesta de alimentos, medicamentos, edad, género, cambios en el peso corporal, enfermedades sistémicas e incluso, la masticación.

Las investigaciones relacionadas con el análisis de la saliva son un campo emergente que ha progresado en las últimas décadas, ya que ésta ofrece ciertas ventajas para las investigaciones porque se pueden trabajar con muestras pequeñas, su proceso de recolección es sencillo y no exige demasiada cooperación por parte de los pacientes (ya que no es invasiva), así como también, la posibilidad de recolectar las muestras en prácticamente cualquier lugar.<sup>3,6,14</sup>

## **2.1. Generalidades de la saliva**

La saliva es una secreción compleja que proviene de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y de las menores en el 7% restante, las cuales se encuentran dispersas por todas las regiones de la boca, excepto en la encía y en la porción anterior del paladar duro. El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante se encuentra constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas. Es estéril cuando sale de las glándulas salivales, pero deja de serlo inmediatamente cuando se mezcla con el fluido crevicular, restos de alimentos, microorganismos, células descamadas de la mucosa oral, etc.

Desempeña funciones muy importantes en el mantenimiento de la salud bucal y general del individuo, entre ellas: lubricación, acción antimicrobiana, capacidad amortiguadora del pH de la cavidad bucal y la placa dental, remineralización y protección contra la desmineralización, masticación, formación del bolo alimenticio, deglución, digestión, gusto y lenguaje.<sup>12,13,24</sup> En la composición de este fluido se encuentran diferentes moléculas, dentro de las cuales se destacan las proteínas, que están involucradas en la mayoría de las funciones de la saliva.

Las glándulas salivales están formadas por una unidad funcional denominada acino (células acinares) y con un sistema de conductos a través de los que excreta su contenido (células ductales); las células acinares de la parótida producen una secreción predominantemente serosa y en ella se sintetiza mayoritariamente la **alfa amilasa**, esta glándula produce menos calcio que la submandibular, las mucinas proceden sobre todo de las glándulas submandibular y sublingual y las proteínas ricas en prolina e histatina provienen de la parótida y de la submandibular. Las glándulas salivales menores son esencialmente mucosas. <sup>14,18,25</sup>

La secreción diaria oscila entre 500 y 700 ml, con un volumen medio en la boca de 1,1 ml. Su producción está controlada por el sistema nervioso autónomo. En reposo, la secreción oscila entre 0,25 y 0,35 ml/mn y procede sobre todo de las glándulas submandibulares y sublinguales. Ante estímulos sensitivos, eléctricos o mecánicos, el volumen puede llegar hasta 1,5 litros al día. El mayor volumen salival se produce antes, durante y después de las comidas, alcanza su pico máximo alrededor de las 12 del mediodía y disminuye de forma muy considerable por la noche, durante el sueño.

El 99% de la saliva es agua mientras que el 1% restante está constituido por moléculas orgánicas e inorgánicas. La saliva es un buen indicador de los niveles plasmáticos de diversas sustancias tales como hormonas y drogas, por lo que puede utilizarse como método no invasivo para monitorizar las concentraciones plasmáticas de medicamentos u otras sustancias.

Dependiendo de la glándula excretora la saliva tiene una composición que la hace diferente de acuerdo con la glándula de donde procede, ya sea saliva serosa, mucosa y seromucosa –mixta <sup>7</sup>, donde cada una posee diferentes proteínas o elementos. <sup>8,21,32</sup>

Saliva serosa: Las glándulas salivales mayores, como la parótida, producen este tipo de saliva -secretoras de proteínas-, es una secreción fina y acuosa, rica en amilasa salival y su volumen es menos de la mitad del volumen total secretado.

Saliva mucosa: La secreción mucosa es más viscosa y rica en mucina, predominantemente la glándula sublingual es la encargada de producir este tipo de saliva, aunque esta glándula también produce saliva serosa y las glándulas menores son en general mucosas.

Saliva seromucosa (mixta): La glándula submandibular se dedica a la producción de saliva seromucosa o secreción de tipo mixta. Este tipo de saliva posee las cualidades y propiedades tanto del tipo seroso como del mucoso. Diversos autores mencionan que existen solo 2 tipos de secreción, serosa y seromucosa o solamente serosa y mucosa, pero esto se debe a las glándulas, que por su conformación en acinos, producen saliva mucosa y seromucosa o serosa y seromucosa.

Además de la anterior clasificación, podemos diferenciar también la saliva en dos tipos, de acuerdo a la forma en que se secreta, a continuación se describen:

1.- Saliva en reposo (no estimulada). Es la secreción basal de saliva en ausencia de estímulos gustatorios, mecánicos o masticatorios. El flujo salival no estimulado o basal se produce en condiciones de ausencia de estímulo externo, y aproximadamente el 65% proviene de las glándulas submaxilares, el 25% de las parótidas y el 5% de las glándulas sublinguales. Menos del 10% proviene de las glándulas salivales menores.

2.- Saliva estimulada. Es la saliva secretada previa estimulación mecánica, gustatoria o farmacológica; aunque proviene del aumento de secreción de todas las glándulas salivales, predomina la secreción de la glándula parótida y, por lo tanto, se produce saliva más acuosa. En este caso, los factores más importantes son la naturaleza y la duración del estímulo.



El estímulo gustativo es el que provoca incrementos del flujo salival de hasta 10 veces más, siendo el sabor ácido el más intenso, seguido de dulce, salado y amargo. Mediante la masticación, se provoca por efecto mecánico, que llega a incrementar el flujo salival hasta 3 veces.<sup>22</sup>

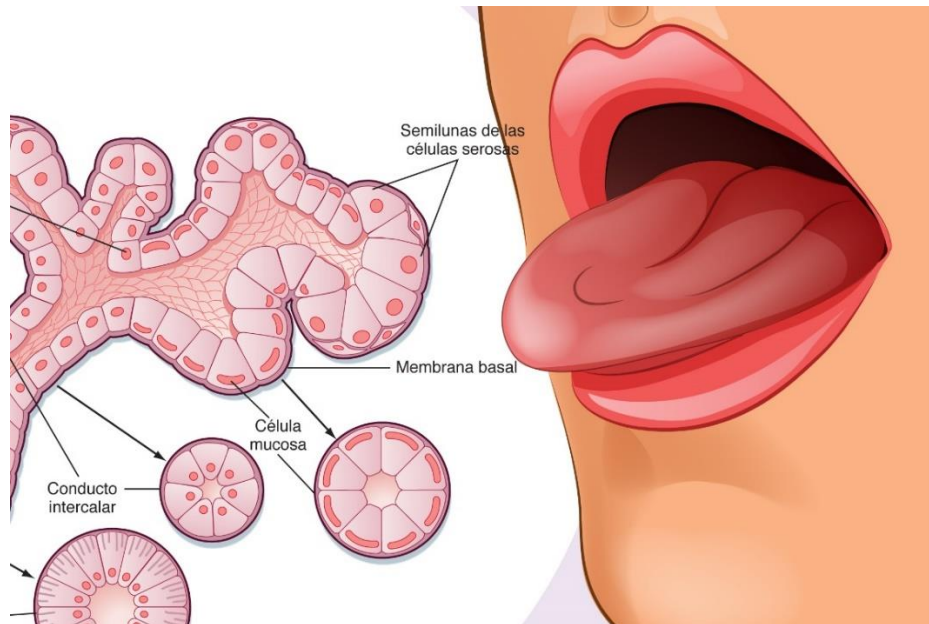


Fig 3. Estructura general de las glándulas secretoras tuboalveolares asociadas con el tubo digestivo.<sup>37</sup>

## 2.2. Glándulas salivales

Las glándulas salivales son glándulas exocrinas (glándulas con un conducto excretor por el que sale la sustancia que elaboran) y son parte del complejo digestivo superior. Estas segregan saliva. Los sistemas de glándulas salivales se diferencian o clasifican por su tamaño y por la función que realizan dentro del cuerpo humano, dividiéndose en tres grupos.<sup>34</sup>

Los tipos principales de glándulas salivales son; las sublinguales, submandibulares y la parótida. La sublingual es la de menor tamaño y se caracteriza principalmente por la presencia de glándulas mucosas.

La glándula submandibular es más lobulada, con una estructura glandular mixta con estructuras mucosas y semilunas serosas. La glándula parótida se caracteriza por sus acinos serosos. Todas las glándulas poseen un sistema ductal, nervios, vasos, tejido conectivo y nódulos linfoides intraparenquimatosos, especialmente en la parótida. El número de nódulos linfoides es de 30-50 en la parótida. Hay varios cientos de glándulas salivales pequeñas alrededor de toda la superficie de la mucosa oral.<sup>31</sup>

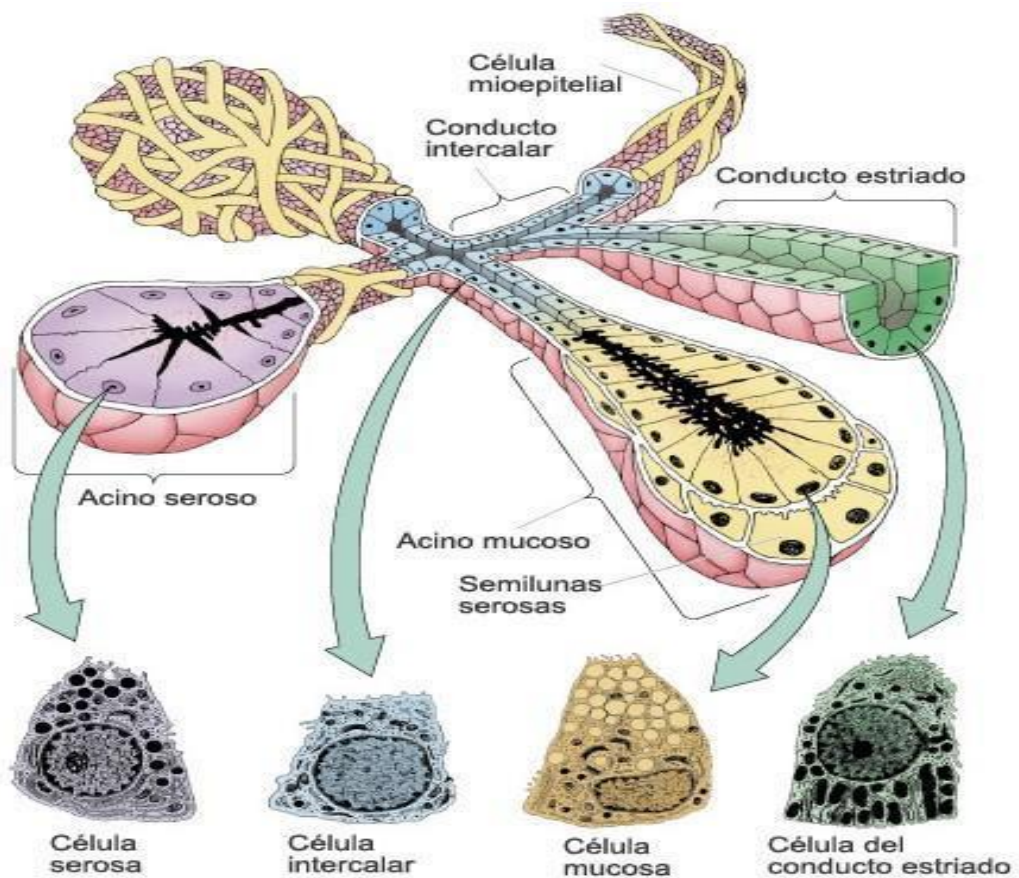


Fig. 4. Esquema del acino, conductos y tipos de glándula salival.<sup>9</sup>

	<b>Glándula parótida</b>	<b>Glándula submaxilar o submandibular</b>	<b>Glándulas sublinguales</b>
<b>Localización</b>	Detrás del conducto auditivo externo (fosa parotídea).	Triángulo submandibular, cerca del ángulo de la mandíbula.	Región anterior del piso de la boca.
<b>Tamaño</b>	Grande	Intermedio	Pequeño
<b>Peso</b>	25 a 30 gramos	8 a 15 gramos	3 gramos
<b>Secreción</b>	Serosa pura	Mixta (seromucosa)	Mixta (seromucosa)
<b>Acinos</b>	Serosos	Serosos y mixtos con predominio seroso	Mucosos y mixtos con predominio mucoso
<b>Conductos intercalares</b>	Largos y delgados	Cortos	Muy poco desarrollados
<b>Conductos estriados</b>	Bien desarrollados	Más largos que en la parótida	Muy cortos, con pocas estriaciones
<b>Conducto principal</b>	Stenon	Wharton	Bartholin (y varios conductos menores)
<b>Cápsula</b>	Bien definida	Bien definida	Muy delgada, poco definida
<b>Otras características</b>	Abundantes adipocitos	Numerosos adipocitos (menos que en la parótida)	Ausencia de adipocitos

Cuadro 1. Principales características anatomohistológicas y funcionales de las glándulas salivales mayores. (Fuente propia)

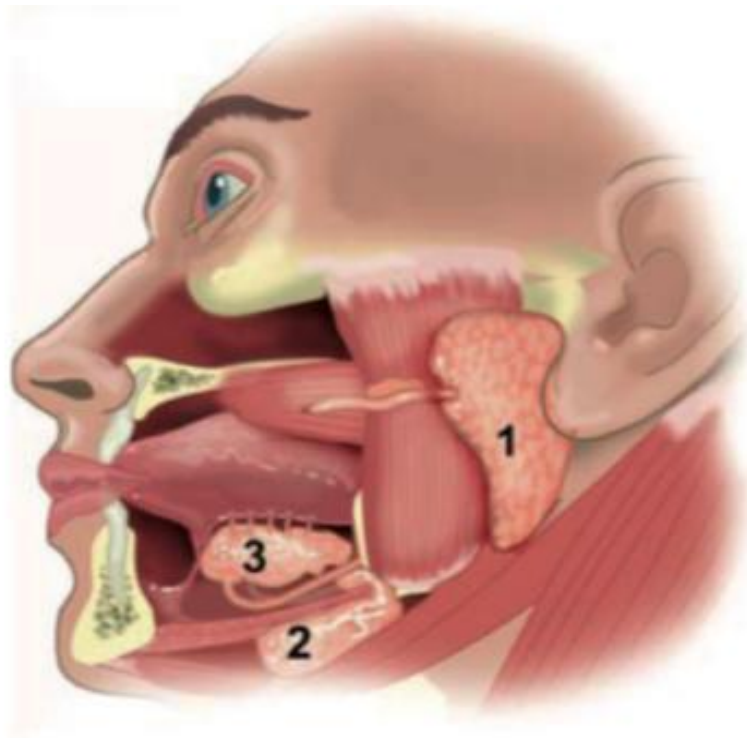


Fig. 5. Localización anatómica de las tres pares de glándulas salivales mayores: Glándulas parótidas (1) Glándulas submadibulares (2) y glándula sublingual (3) <sup>9</sup>



Fig. 6. Localización anatómica de los tres pares de glándulas salivales menores: Glándula labial (1), glándula Palatina (2) y glándula faríngea (3) <sup>9</sup>

### **2.3. Componentes de la saliva**

Tomando en cuenta que las glándulas salivales mayores y menores aportan diferentes tipos de saliva y que estos a su vez contienen diferentes componentes que se mezclan con otros de la misma cavidad bucal, esta mezcla es llamada saliva total o mixta. Esta saliva bucal es viscosa y contiene 99% de agua. <sup>37</sup>

A continuación, describiremos los diferentes componentes de la saliva, así como sus usos y características.

### **2.3.1. Componentes proteicos y glucoproteínas**

Gran parte de las funciones de la saliva se llevan a cabo mediante proteínas. Los investigadores han identificado 309 proteínas en la saliva total. Más de 95% corresponde a las principales familias de proteínas que son: proteínas ricas en prolina, alfa-amilasa salival, mucinas, aglutininas, cistatinas, histatinas y estaterinas.<sup>26</sup>

Todos éstos componentes son muy importantes y se describen, así como los aspectos conocidos sobre su función y mecanismo de acción<sup>3</sup>, incluyendo otras proteínas salivales como: inmunoglobulinas, lisozima, peroxidasa salival y lactoferrina, ya que son determinantes en la salud bucal.<sup>29</sup>

**Mucinas:** Son glicoproteínas. La saliva contiene dos tipos de mucinas: MG1 y MG2, moléculas diferentes desde el punto de vista estructural y funcional.

MG1 existe, al menos, en tres formas diferentes que difieren en su contenido de ácido siálico y sulfato en dependencia de la glándula salival de origen. Está compuesta por monómeros, unidos por puentes disulfuro, que contienen dominios altamente glicosilados alternados con otros menos glicosilados. Por su alto contenido de glúcidos (>80%), gran tamaño (>1µm) y estructura extendida en forma de hebra, incluso a bajas concentraciones, forman geles viscosos y elásticos hidrofílicos, que funcionan como barreras protectoras del epitelio subyacente al daño mecánico y previenen la entrada de agentes nocivos como virus y bacterias. También se considera componente de la película adquirida salival.<sup>4,6</sup>

MG2 se presenta en dos formas: MG2a y MG2b. Es una proteína monomérica relativamente pequeña (Mr= 125kDa), con escasas propiedades viscoelásticas y contenido glucídico menos heterogéneo (di y trisacáridos unidos a ácido siálico).

Se une a receptores bacterianos por reconocimiento molecular determinado por su estructura tridimensional, y así causa la aglutinación de gran variedad de microorganismos, mecanismo encargado de barrerlos y evitar su excesiva acumulación. También se ha descubierto que el dominio peptídico N-terminal rico en histidina, posee por sí mismo efecto bactericida, pues es capaz de unirse a las membranas bacterianas y desorganizarlas.<sup>4</sup>

Hoy se sabe que la barrera mucosa formada por las mucinas no solo tiene un papel protector; el alto grado de diversidad de sus cadenas oligosacáridas con potenciales sitios de unión y sustratos metabólicos, también puede ser un determinante importante en la colonización sitio-específica de algunas bacterias.<sup>7</sup>

**Aglutinina:** Proteína altamente glicosilada con una masa molecular de aproximadamente 340 kDa, que porta antígenos activos de grupos sanguíneos. Comparte similitudes con MG2, al ser además monomérica, con propiedades altamente adhesivas y porque se une a gran variedad de microorganismos incluyendo *S. mutans* y *S. sanguis*. También media la unión de estos dos microorganismos entre sí. Se ha identificado además en la película adquirida.<sup>8</sup>

**Proteínas ricas en prolina (PRP):** Son proteínas constitutivas con un porcentaje relativamente alto del aminoácido prolina, el cual promueve una conformación de cadena extendida. Se encuentran entre los primeros constituyentes de la película de proteínas salivales, que se deposita sobre la superficie del diente denominada película adquirida. Pueden ser ácidas o básicas. Las PRP ácidas constituyen el 25-30% de todas las proteínas de la saliva. Poseen un dominio N-terminal de 30 aminoácidos que se adhiere fuertemente al esmalte dentario, lo cual transmite un cambio conformacional que expone un sitio de unión para las bacterias dentro del dominio C-terminal. Así, promueven la colonización bacteriana de la superficie del diente, durante la formación de la placa dental.

Sus grupos ácidos se cargan negativamente a pH fisiológico y unen iones  $\text{Ca}^{2+}$  libres lo que promueve la remineralización del tejido dentario. Algunos polimorfismos de PRP básicos se han asociado con resistencia a caries dental en niños, por inactivación de los ácidos bacterianos en la placa dental.<sup>2,3,8,9</sup>

**Anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig):** Son glicoproteínas que se producen y segregan por parte de células inmunitarias (células plasmáticas), de manera específica ante la presencia de determinadas sustancias denominadas antígenos. Presentan una región variable por donde se efectúa la unión con el antígeno, a través del reconocimiento molecular. La Ig más abundante en la saliva, es la IgA secretoria (sIgA), proteína dimérica, producida por células plasmáticas localizadas en las glándulas salivales. Las Ig salivales pueden unirse a la película salival y formar parte del biofilm dental. Pueden neutralizar varios factores de virulencia bacterianos, limitar la adherencia y aglutinación de las bacterias y prevenir la penetración de agentes extraños a través de las mucosas. También pueden facilitar la acción de las células defensivas sobre los microorganismos, al interactuar por sus regiones constantes, con receptores localizados en la superficie de dichas células.<sup>10</sup>

Además, se pueden cuantificar ciertas cantidades de Inmunoglobulinas G y M (IgG e IgM) a través del surco crevicular que provienen de los vasos sanguíneos propios del periodonto.

**Lisozima:** Es una proteína catiónica de bajo peso molecular con actividad catalítica. Está ampliamente distribuida en los fluidos corporales. Su acción antimicrobiana se asocia a la modulación de la hidrólisis de los polisacáridos de la pared celular bacteriana. Sin embargo, también se le ha descubierto actividad bactericida no enzimática por activación de autolisinas bacterianas.<sup>4,11</sup>



**Peroxidasa humana salival:** Presenta un peso molecular de 73-78 kDa. Es una enzima que cataliza la formación de compuestos bactericidas como el hipotiocianato ( $\text{OSCN}^-$ ) y el ácido hipotiocianoso ( $\text{HOSCN}^-$ ), a partir del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y el tiocianato ( $\text{SCN}^-$ ). Estos compuestos oxidantes pueden reaccionar rápidamente con los grupos sulfhidrilos de las enzimas bacterianas involucradas en la obtención de energía a partir de la glucosa; así inhiben su función y la concomitante producción de ácidos. Se han comercializado diversos productos como pastas dentales y enjuagues, dirigidos a incrementar la actividad endógena de esta enzima. Sin embargo, se cree que su principal función es eliminar al peróxido de hidrógeno generado localmente por las bacterias, sustancia altamente tóxica para las células de los mamíferos. Otra función no asociada a la generación de agentes oxidantes que se le ha atribuido a esta enzima, es la inhibición de la producción de polisacáridos extracelulares que fortalece la unión de las bacterias a la superficie dentaria en el biofilm.<sup>4,22</sup>

**Alfa-amilasa salival:** Es una enzima cuya función consiste en la digestión bucal del almidón proveniente de la dieta. Cataliza la ruptura de los enlaces polimerizantes  $\alpha(1-4)$ , acción determinada por la estructura de su centro activo. Así, desempeña un importante papel en la nutrición. Sin embargo, también se ha detectado que su expresión genética se relaciona con el funcionamiento del sistema nervioso autónomo, por lo que se ha propuesto que su monitoreo pudiera ser útil en la evaluación del estrés físico y psicológico. Esto, a su vez, puede tener implicaciones en el estudio del dolor (principal motivo de consulta estomatológica) o en la evaluación del estado de salud bucal.<sup>13,14</sup>

**Lactoferrina:** Es una metaloproteína con la propiedad de unir al hierro. Además de hallarse en la saliva, se encuentra presente en las lágrimas y la leche. Se creía que su actividad bacteriostática dependía únicamente de su capacidad de eliminar del medio el hierro necesario para el metabolismo de los microorganismos.

Sin embargo, se ha descubierto que posee un dominio antimicrobiano escondido, que se libera de la molécula por la acción de enzimas proteolíticas digestivas. Por ello, se cree que este dominio bactericida se libera durante la digestión de la lactoferrina en el tracto gastrointestinal, lo que puede relacionarse con el papel protector de las proteínas salivales más allá de la cavidad bucal.<sup>4,12</sup>

Se sabe que la lactoferrina es una proteína multifuncional con actividad bactericida, bacteriostática, fungicida y virucida, además de su función moduladora de la respuesta inflamatoria. Esto ha promovido la evaluación de composiciones que la contienen con el fin de mantener la salud bucal.<sup>10,12</sup>

**Estaterina:** También se encuentra entre los primeros constituyentes de la película adquirida. Es una pequeña proteína de 43 aminoácidos con un segmento N-terminal fuertemente cargado negativamente. Este segmento es el principal responsable de la actividad inhibidora de la precipitación espontánea de sales de  $\text{Ca}^{2+}$  sobre la superficie del diente y así, regula la estructura de las moléculas que la constituyen. De esta forma, participa en la función de remineralización que presenta la saliva. Al igual que las PRP tienen la capacidad de unirse a la superficie del diente y a las bacterias por lo que participan en la formación de la película adquirida y la colonización bacteriana.<sup>10,15</sup>

**Cistatinas:** Son parte de una familia de fosfoproteínas que contienen cisteína. En la saliva hay al menos 9 isoformas: SN (cistatina neutral), tres isoformas moderadamente aniónicas de cistatina SA (cistatina ácida), tres isoformas de cistatina S (más aniónica), una isoforma de cistanina C (catiónica) y una cistatina D. Todas presentan un plegamiento típico con 5 hojas beta antiparalelas, que envuelven una hélice alfa de 5 vueltas.<sup>4,16</sup>

Se cree que participan en el control de la actividad de enzimas proteolíticas del tipo cisteinilproteinasas, ya sean liberadas por el hospedero o por las bacterias.

La mayor actividad inhibidora de cisteinilproteinasas la muestra la cistatina C. Por un mecanismo independiente de su actividad inhibidora de proteasas, se considera que pueden modular la respuesta del hospedero ante el ataque bacteriano de los tejidos bucales e inhibir el crecimiento de microorganismos con potencialidad de producir daño. También se piensa que pueden tener algún papel menor en la regulación del calcio en la saliva.<sup>8,16</sup>

**Histatinas:** Las histatinas son una familia de péptidos antimicrobianos estructuralmente relacionados, ricos en residuos de arginina, histidina y lisina. Por lo tanto, en el pH fisiológico presentan carga positiva (catiónicos). Se han identificado al menos 12 histatinas diferentes en la saliva, la mayoría de las cuales se origina por la degradación de dos moléculas originarias: la histatina 1 y la histatina 3.<sup>4</sup> La histatina 5 deriva de la 3 y participa en la formación de la película adquirida, la neutralización de sustancias potencialmente nocivas, la quelación de iones metálicos, la inhibición de la inducción de citocinas inflamatorias y la inhibición de enzimas proteolíticas del hospedero y bacterianas. Tiene una estructura flexible: en el agua presenta una estructura enrollada azarosamente, pero en medio apolar puede adoptar una estructura en hélice alfa. Esto causa probablemente las características de unión a sustancias tan diferentes químicamente. Se cree que el mecanismo bactericida de los péptidos catiónicos se debe a la formación de poros en la membrana de las bacterias, aunque se sospecha que pueden ser múltiples los mecanismos.<sup>4,17</sup>

<b>Proteína: porcentaje</b>	<b>Origen</b>	<b>Función</b>
Péptidos ricos en proteína PRP (37%)	Parótida y submandibular	Homeostasis mineral, neutralización de sustancias tóxicas, protección de tejidos frente a ataques proteolíticos de microorganismos.
$\alpha$ -Amilasa (20%)	Parótida (60-120 mg/dL) Submandibular(=25 mg/dL)	Iniciar digestión, función antibacteriana en la boca, involucrada en la lubricación de tejidos.
Mucinas (20%)	Submandibular, sublingual y glándulas menores	Protección de tejidos frente a ataques proteolíticos de microorganismos; citoprotección; lubricación; protección frente a la deshidratación; mantenimiento de viscoelasticidad de la saliva.
Cistatinas (8%)	Parótida, submandibular y sublingual	Función antibacteriana y antivírica; regula metabolismo proteico; ayuda en la protección de tejidos frente a ataques proteolíticos de microorganismos; ayuda en la mineralización.

Albúmina (6%)	Parótida, submandibular y sublingual	Transporte de proteínas, buffer de pH.
IgA secretora (3%)	Parótida y submandibular	Primera línea de respuesta inmunitaria innata.
IgG (2%)	Parótida y submandibular. Penetra en saliva vía fluido gingival crevicular.	Respuesta inmune secundaria; asociada a múltiples patógenos, previene al organismo contra ellos.
Estaterinas (7%)	Presente en la saliva parótida.	Inhibe el crecimiento de cristales de hidroxiapatita; ayuda a la protección de los tejidos frente a ataques proteolíticos de microorganismos; citoprotección; lubricación, mantenimiento de la viscoelasticidad de la saliva.
Histatinas	Presente en todos los tipos de glándulas.	Función antimicrobiana y anticandida, formación de película de protección, participación en la mineralización dinámica de los fluidos orales, inhibición de la liberación de histamina desde los mastocitos,

		sugiriendo un papel de regulador de la inflamación oral.
Catelicidinas	Expresadas por neutrófilos y células epiteliales de la cavidad oral.	Función antimicrobiana, modula la respuesta inmune por sus propiedades quimiotácticas para monocitos, células T, neutrófilos, estimula la liberación de histamina desde los mastocitos.

Cuadro 2. Principales proteínas salivales, origen y función. (Fuente propia)

### **2.3.2. Componentes orgánicos no proteicos**

La saliva, contiene también componentes orgánicos que no están directamente relacionados con las proteínas, los cuales serán descritos a continuación.

**Urea:** La urea es el principal producto terminal del metabolismo de las proteínas, llega a la cavidad oral a través de la secreción salival y del fluido crevicular y su concentración oscila entre 1 y 10 ml en individuos sanos. La concentración elevada persistente es un indicador de daño renal.<sup>14</sup>

**Ácido úrico:** Es una molécula que colabora a depurar el organismo de productos nitrogenados, aunque no todos. El 75% del ácido úrico formado se elimina por el riñón y, el 25% restante, a través del aparato digestivo.

**Colesterol:** Es esencial para la formación de todas las membranas celulares y de los esteroides irremplazables en el funcionamiento del organismo.

AMP cíclico: Juega un papel crucial en la regulación de numerosos procesos y funciones en las células

endoteliales en condiciones fisiológicas y patológicas. Entre dichas funciones cabe destacar su participación en la regulación del tono vascular.

10,21

**Glucosa:** La concentración de la glucosa en la saliva humana suele ser alrededor de 100 veces inferior a la de la sangre. En relación con la cavidad bucal, la Diabetes Mellitus puede producir síntomas tales como reducción del flujo salival y aumento de los niveles de glucosa en la saliva serosa de la glándula parótida e inflamación indolora de la misma.<sup>25</sup>

**Citrato:** Componente no proteico que une una considerable porción del total de calcio en la saliva, ayudando a mantener una proporción correcta de calcio-fosfato iónico.<sup>6,13</sup>

**Lactato deshidrogenasa:** Enzima que normalmente se asocia al citoplasma de las células y sus valores se incrementan cuando existe daño en la membrana de las células durante la respuesta inflamatoria.<sup>14,18</sup>

**Amoniaco:** En los riñones, el amoniaco juega un papel en el equilibrio ácido-básico, pero por lo demás es un residuo metabólico. El amoniaco de la saliva, o el que se libera de la urea salival por la actividad bacteriana, puede neutralizar el ácido producido localmente por la placa.

**Creatinina:** La creatinina es un producto de la descomposición de la creatina, que es una parte importante del músculo. Se produce de forma endógena como resultado de los procesos metabólicos musculares, en la saliva es un elemento transitorio.<sup>12,21</sup>

### **2.3.3. Componentes inorgánicos**

Se encuentran en forma iónica y no iónica. Se comportan como electrolitos, los más importantes son: sodio, potasio, cloruro y bicarbonato; estos contribuyen con la osmolaridad de la saliva, la cual es la mitad de la del plasma, por lo tanto, la saliva es hipotónica con respecto al plasma. <sup>9,12</sup>

La concentración de los componentes orgánicos e inorgánicos disueltos presenta variaciones en cada individuo según las circunstancias como el flujo salival, el aporte de cada glándula salival, el ritmo circadiano, la dieta, la duración y naturaleza del estímulo, las cuales generan diferentes funciones dentro de nuestra cavidad oral, se mantiene una flora bacteriana controlada y un pH estable. <sup>12</sup>

## **2.4. Funciones**

De acuerdo a la producción de los diferentes tipos de saliva que realizan las glándulas salivales tanto las mayores como las menores, sabiendo que estas contienen diversos componentes y que éstos brindan particulares propiedades a la cavidad bucal, todo esto en conjunto otorga a la saliva funciones tales como son:

- a) Alimentarias
- b) Relacionadas con la salud bucal
- c) Relacionadas con la fonación.

### **2.4.1. Funciones alimentarias**

La participación de la saliva en la función alimentaria, comienza con la estimulación que provocan los sentidos, por medio de la vista, el olfato y el gusto preparando a la cavidad bucal para poder recibir el alimento. <sup>17, 37</sup>



Preparación del bolo alimenticio: La saliva al estar compuesta mayoritariamente por agua y esto ayuda a la mecánica de la masticación, facilitando la formación del bolo alimenticio gracias a la mucina, debido a su viscosidad, lo recubre para poder así deglutirlo sin ninguna dificultad.

Digestión a nivel bucal: Ya se ha mencionado la participación de la mucina, pero también en este proceso participan la amilasa salival (ptialina), lipasa salival y proteasas que degradan los constituyentes de los alimentos a estructuras más simples y que se digieran con mayor facilidad. La amilasa salival actúa principalmente en la degradación del almidón que lo transforma en hidratos de carbono solubles, sin embargo, su acción se detiene al llegar al estómago por el pH ácido. <sup>27</sup>

La lipasa salival puede seguir actuando en el estómago, donde inicia la digestión de los triglicéridos - son un tipo de glicerol que pertenecen a la familia de los lípidos. <sup>14, 21</sup>

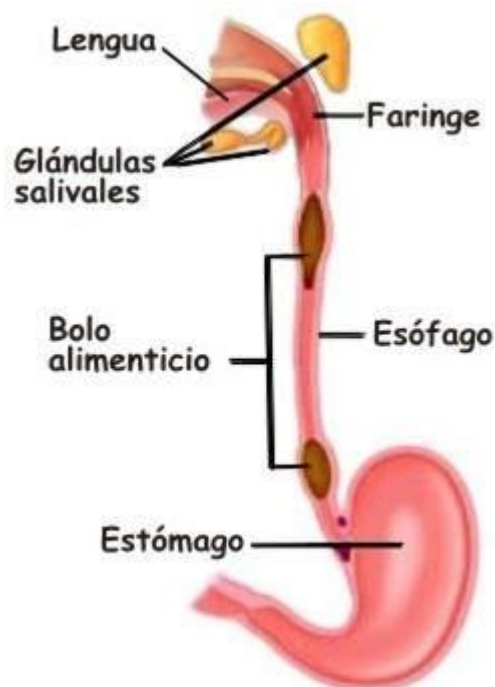


Fig. 7. Ruta del bolo alimenticio durante el proceso digestivo. <sup>19</sup>

## **2.4.2. Funciones relacionadas con la salud bucal**

Estas funciones van dirigidas al mantenimiento y protección de las estructuras de la cavidad bucal, donde se pueden destacar las siguientes:

**Antibacteriana:** La función antibacteriana está dada por enzimas y proteínas salivales, que actúan de diferente manera sobre los microorganismos, algunas pueden llegar a funcionar como bactericidas.

Algunas enzimas y proteínas que posee la saliva:

- Histatina: antimicrobiana de amplio espectro. Inhiben la participación de sales de calcio.
- Estaterina: participan en la formación de la película adquirida y la colonización bacteriana.
- Lisozima: hidroliza los polisacáridos de la pared celular de bacterias grampositivas.
- Lactoferrina: es un bactericida, se comporta como análogo para los receptores bacterianos. También funciona como antiadherente, interfiere con el desarrollo de la biopelícula.
- Peroxidasa: con capacidad enzimática.
- Lactoperoxidasa: produce peróxido de hidrógeno, que tiene una acción oxidante frente a los microorganismos.
- Defensinas: se encuentran en el líquido crevicular y se relacionan con la mucina.
- Aglutininas: permiten la agregación interbacteriana.
- Cistatinas: se combinan con las mucinas. Inhiben las proteasas.
- Catelicinas: son antimicrobianas de amplio espectro. Al relacionarse con PRP, pueden comportarse como un antibiótico natural. <sup>4,18,23</sup>

**Antifúngica:** Esta función es brindada principalmente por la Histatina y proteínas ricas en histidina.

**Antiviral:** Función que es otorgada esencialmente por las IgA secretora, IgM e IgG, que, a excepción de la IgA, las inmunoglobulinas M y G provienen del surco gingival y están presentes en menor cantidad.

**Protección para la integridad de la mucosa:** Esta protección se relaciona con el flujo salival, que, en conjunto con la actividad muscular de la lengua, labios y los carrillos mantiene la higiene en áreas accesibles de la cavidad bucal, lubricando con mucina los tejidos bucales de abrasiones. Además de contener factores de crecimiento nervioso y epidérmico, también incluye factores de la coagulación, que aceleran este proceso tras posibles heridas y erosiones, evitando que se produzca una penetración bacteriana.

**Mantenimiento del pH:** La acción amortiguadora, tampón o buffer, permite que el pH bucal se mantenga constante, para que así todas las enzimas y proteínas salivales puedan ejercer sus funciones de manera óptima en diferentes situaciones, como por ejemplo en la alimentación. Esta propiedad ayuda a proteger los tejidos bucales contra la acción de los ácidos provenientes de la comida y la placa dental, por lo tanto, puede reducir el potencial cariogénico del ambiente.

**Integridad dental:** Esta capacidad está vinculada a los componentes de la saliva tales como el calcio y el fósforo que promueven la remineralización del esmalte. Este proceso está regulado por proteínas como PRP, estaterinas, histatinas y cistatinas. <sup>6,16,21</sup>

### **2.4.3. Funciones relacionadas con la fonación**

La saliva al entrar en contacto con las estructuras de la cavidad bucal y esparcirse en ella gracias a los movimientos musculares, facilita el desplazamiento de estos mismos al momento de lubricarlos y poder así realizar la articulación de las palabras con mayor claridad. <sup>18</sup>

<b>Funciones</b>	<b>Componentes</b>
Lubricación	Mucinas, glicoproteínas ricas en prolina, agua.
Antimicrobiana	Lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasas, mucinas, cistinas, histatinas, inmunoglobulinas, proteínas ricas en prolina, IgA.
Mantenimiento de la integridad de la mucosa	Mucinas, electrolitos, agua
Limpieza	Agua
Capacidad de remineralización	Bicarbonato, fosfato, calcio, estaterina, proteínas aniónicas ricas en prolina, flúor
Preparación de los alimentos para la deglución	Agua, mucinas
Digestión	Amilasa, lipasa, ribonucleasa, proteasas, agua, mucinas
Sabor	Agua,
Fonación	Agua, mucina

Cuadro 3. Componentes de la saliva y sus funciones. (fuente propia)

### **CAPÍTULO 3. LA PROTEÓMICA SALIVAL COMO AUXILIAR DIAGNÓSTICO**

La detección temprana de enfermedades no solo es vital para reducir la gravedad de la enfermedad y prevenir complicaciones, sino que también es fundamental para aumentar la tasa de éxito de la terapia. La saliva se ha estudiado ampliamente como una herramienta de diagnóstico potencial durante la última década debido a su facilidad y accesibilidad no invasiva junto con su abundancia de biomarcadores, como material genético y proteínico. Los avances recientes en biomarcadores salivales para diagnosticar enfermedades autoinmunes (síndrome de Sjogren, fibrosis quística), enfermedades cardiovasculares, diabetes, VIH, cáncer oral, caries y enfermedades periodontales está documentado. Teniendo en cuenta su precisión, eficacia, facilidad de uso y rentabilidad, las pruebas de diagnóstico de saliva se considera que estarán disponibles en los consultorios dentales de manera habitual en poco tiempo. Se espera que el advenimiento de herramientas de diagnóstico de saliva sensibles y específicas y el establecimiento de pautas y resultados definidos después de pruebas rigurosas permitan que los diagnósticos de saliva se utilicen como pruebas en el consultorio para varias enfermedades orales y sistémicas en un futuro próximo.<sup>28</sup>

El uso de la proteómica salival como auxiliar para el diagnóstico o como elemento para monitorizar la evolución de determinadas enfermedades o la dosificación de determinados medicamentos es una vía prometedora, incrementándose su atractivo para el diagnóstico mediante la comercialización de tests de uso sencillo, por otro lado la accesibilidad y la ausencia de métodos cruentos para obtener la muestra son otras de las ventajas que ofrece la saliva como instrumento diagnóstico.<sup>8,18</sup>

### 3.1. Cáncer oral

El carcinoma oral de células escamosas (COCE) es un tipo de cáncer que por su frecuencia e invasividad se investiga en todo el mundo. Los hábitos culturales, como el consumo de tabaco y alcohol, son factores de riesgo ya que el sinergismo con infecciones virales no siempre es evidente pero se ha logrado establecer.<sup>30</sup>

El diagnóstico se basa principalmente en el examen oral de rutina y se comprueba utilizando técnicas de diagnóstico por imágenes combinadas con biopsia de análisis histológico, pero con frecuencia no se diagnostica de forma precoz y puede avanzar hasta diseminarse a los tejidos adyacentes y cuando es diagnosticado ya se encuentra en etapas avanzadas y con frecuencia, poco tratables para el paciente. El COCE, como la mayoría de los tipos de cáncer en sus fases iniciales es asintomático y es muy importante que los odontólogos sean los primeros en identificarlo. Los métodos de detección temprana pueden apoyar el tratamiento preventivo. Un estudio específico de proteómica reveló una serie de biomarcadores predictivos relacionados con el riesgo de desarrollo de COCE, al complementar proteínas como; CFB, C3, C4B, Proteína Alfa-1-antitripsina SERPINA1, y LRG1, una proteína identificada antes en el suero y tumores de pacientes con cáncer, todos encontrados con expresión en COCE. SERPINA1 junto con el factor complementario H (CFH), la cadena alfa fibrinógeno (FGA), también se seleccionaron como biomarcadores salivales potenciales para COCE en el diagnóstico dentro de un estudio cuantitativo con poblaciones diferentes.

Curiosamente, el mismo grupo de investigación en un estudio independiente (con un panel independiente de pacientes y el uso de un péptido diferente enfoque) descubrió entre otros niveles elevados de nidogen-1 (NID1) y serpin H1 (SERPINH1) con proteínas de la vía de biosíntesis de aminoacilo-tRNA (IARS, KARS, WARS y YARS) cuando examinaron los tumores intersticiales (TIF) en comparación con las de los tejidos no cancerosos adyacentes (NIF).<sup>15</sup>

NID1, una proteína que media el conjunto de matriz extracelular, fue validado además en saliva como un potencial biomarcador COCE, utilizando dos inmunoensayos, pero no SERPINH1. Otros estudios dirigidos al descubrimiento de firmas para mejorar la efectividad del tratamiento. Una molécula diagnóstica prometedora parece ser el inhibidor secreto de la proteasa de leucocitos (SLPI), un inhibidor de la proteasa serina con funciones modulatorias sobre las respuestas inmunológicas y proliferación celular. A diferencia de otros tipos de cáncer, en el que los niveles de expresión SLPI más altos se correlacionan con peor resultado clínico, SLPI se encontró en la disminución niveles tanto en el tejido de lesiones premalignas orales como en el COCE tejidos de lesiones en comparación con el tejido normal sano.

Un estudio independiente de proteómica cuantitativa identificó otros tres biomarcadores potenciales entre 246 proteínas expresadas diferencialmente entre individuos sanos y pacientes con COCE.<sup>35</sup>

La proteína antagonista del receptor A2 (S100A2) e interleucina-1 (IL1RN) podría ser validada en un estudio independiente con alta especificidad. Además, varios estudios mostraron el proteoma salival y el secretome (factores secretados por la célula) del COCE y sujetos sanos con el fin de funcionar como referencia para el descubrimiento de biomarcador. En estos estudios, ciertas proteínas destacan como posibles biomarcadores, como IL8, IL1beta y el marcador de adipoquina resisten, pero no fue validado consistentemente por todos los grupos de investigación, señalando variaciones entre las poblaciones de diferentes orígenes o hábitos étnicos y destacando la necesidad de desarrollo de la estandarización.<sup>8,30</sup>

### 3.2. Enfermedades infecciosas

La proteómica también es una herramienta útil en el estudio de las enfermedades infecciosas, porque proporciona una visión global. Los análisis proteómicos permiten realizar un estudio básico de la enfermedad, facilitando la búsqueda de marcadores de infección o virulencia.

La toma de muestras de sangre impone desafíos culturales, higiénicos y logísticos en los países en desarrollo, que son los más afectados por enfermedades infecciosas. El uso de saliva en lugar de sangre podría eludir estos problemas de muestreo. Especialmente, los virus requieren muestreos más frecuentes porque pueden permanecer en estado latente durante años, por tanto, el seguimiento de los virus en la saliva podría ser más relevante.<sup>34</sup>

Un ejemplo es el caso reciente del virus del Zika, un flavivirus transmitido por mosquitos, asociado con complicaciones en el embarazo, malformaciones en recién nacidos, y neuropatía y mielitis en adultos. Un estudio sobre una madre sobreviviente y sus dos hijos recién nacidos ha demostrado que la saliva puede ser un depósito de Zika.

El virus del dengue es el caso de otro doloroso y debilitante virus transmitido por mosquitos. Se detectaron anticuerpos anti-dengue con sensibilidad comparable en plasma y saliva, por lo tanto, la prueba de anticuerpos anti-proteína viral NS1 también podría utilizarse en casos en los que la toma de muestras de sangre sea difícil.<sup>3</sup>

Las infecciones por los virus de la hepatitis B y C (VHB y VHC) son causas importantes de cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC) en pacientes de todo el mundo. En una fase latente prolongada, las personas infectadas pueden permanecer sin diagnosticar, lo que lleva a la propagación continua de estas infecciones, especialmente entre los consumidores de drogas. Un número reducido de Espectros MS / MS para complemento C3, alfa (1) - ácido y alfa (2) -glicoproteínas ácidas, haptoglobina, serotransferrina y ceruloplasmina, se observó en un estudio que diferenciaba a los infectados (VHC o VHB) de los sanos grupos.<sup>3,35</sup>



En el mismo estudio, para el carcinoma hepático, también se detectó la posibilidad de monitorear la saliva en lugar de las muestras de sangre. <sup>16</sup> Finalmente, varios estudios tuvieron como objetivo identificar patrones discriminatorios entre grupos de pacientes e investigar su papel potencial en el descubrimiento de biomarcadores de carcinoma hepático y cirrosis, que se dirigieron a las glicoproteínas del suero de estos pacientes y la saliva. <sup>3</sup>

### **3.3. Enfermedades neurológicas**

La proteómica de la saliva también podría ser beneficiosa en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades neurológicas. Los trastornos del espectro autista (TEA) incluyen un rango de condiciones similares que afectan la comunicación y el comportamiento de una persona. Aunque los datos en la literatura siguen siendo escasos, hay estudios que muestran que la proteómica de la saliva podría complementar las evaluaciones para el diagnóstico e intervención precoces, y así podrían mejorar en gran medida el funcionamiento de los pacientes con TEA. Estos estudios identificaron una disminución en las proteínas que regulan la secreción de saliva (estaterina, histatina 1 y proteínas ricas en prolina) y un aumento de factores que se encuentran elevados durante la inflamación, como proteína inducible por prolactina, lactotransferrina, cadena C kappa de Ig, región C de la cadena Ig gamma-1, cadena C de Ig lambda-2, elastasa de neutrófilos, inmunoglobulina polimérica receptor y DMBT1. <sup>24</sup>

Las modificaciones y el plegamiento incorrecto de las proteínas también parecen jugar un papel fundamental en el resultado de los trastornos del espectro autista y otras enfermedades neurológicas o ser influenciado por mecanismos secundarios.

La oxidación, el plegamiento incorrecto y la agregación de proteínas, parecen tener un papel causal también importante en el desarrollo de la enfermedad de Parkinson.

En conjunto, el análisis de las proteínas que se encuentran en la saliva en los casos de enfermedades neurológicas anteriores, apuntan a alteraciones de proteínas que actúan como sensores del estrés oxidativo.<sup>8, 28</sup>

### **3.4. Enfermedades autoinmunes**

La mucosa oral es el segundo tejido después de la piel que puede deteriorarse en pacientes con enfermedad de injerto contra huésped crónica (cGVHD), una condición inmunológica fatal que afecta múltiples tejidos de receptores de trasplantes. El daño de glándulas salivales causa xerostomía, que junto con la disminución de la producción de inmunoglobulina salival aumenta la susceptibilidad del paciente a las infecciones bucales. Los biomarcadores que pudieran distinguir la cGVHD de otras enfermedades autoinmunes o inflamatorias sería de gran utilidad como herramientas de diagnóstico, ya que los síntomas clínicos en estas condiciones pueden ser difíciles de establecer y diagnosticar de forma temprana. Entre las proteínas identificadas se encuentran: niveles reducidos de dos proteínas antimicrobianas, lactotransferrina salival y lactoperoxidasa, ya que se encontraron en más de un estudio. Más significativamente, IL-1ra (interleucina-1 antagonista del receptor) que bloquea la señalización de IL-1 y la cistatina B, una molécula reguladora e inhibidora de proteasa, había alterado significativamente la expresión en asociación con cGVHD oral. Ambas proteínas se han asociado con inflamación crónica y presentado con buen poder discriminatorio especialmente para pacientes diagnosticados precozmente, lo cual sugiere que pueden ser utilizados como herramientas de diagnóstico.<sup>3,16,24</sup>

El síndrome de Sjögren (SS) es una exocrinopatía autoinmune que ataca las glándulas salivales y lagrimales. Su manifestación oral más común es la xerostomía pero en combinación con el desarrollo de neoplasias, como el linfoma no Hodgkin, común en enfermedades autoinmunes y que produce síntomas más graves.

En pacientes con la enfermedad se ha observado que las proteínas humectantes de la mucosa oral, mucinas MUC5B y MUC7, aparecen en niveles similares entre pacientes y sujetos sanos, pero muestran una glicosilación y sulfatación reducida, estas dos modificaciones se correlacionan bien con xerostomía en pacientes con SS.<sup>30</sup>

Otras categorías de proteínas que aumentan considerablemente en pacientes con SS en comparación con los sujetos sanos, son las proteínas de unión a calcio, las proteínas de respuesta de defensa, las proteínas involucradas en regulación apoptótica, las proteínas de respuesta al estrés y las proteínas relacionadas con el movimiento.

La biopsia de glándulas salivales menores podría potencialmente usarse para el diagnóstico y la clasificación del SS primario, mientras que en otro estudio se podría diferenciar a los pacientes con artritis reumatoide de los pacientes con SS. Un panel de autoanticuerpos que se regulan de acuerdo a su aumento progresivo podría ser potencialmente utilizado como biomarcador predictivo para la progresión del SS primaria al tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) mientras que las proteínas de unión al calcio en niveles de S100A8 / A9 en la saliva parotídea (y no en la saliva completa) resultaron ser discriminatorios para los pacientes con SS con linfoma o con mayor riesgo de linfoma.<sup>36</sup>

### **3.5. Enfermedades de baja incidencia**

La proteómica de la saliva podría contribuir al diagnóstico y seguimiento de enfermedades raras o poco comunes, que a menudo carecen de una prueba. SAPHO (sinovitis, acné, pustulosis, hiperostosis y osteítis) es una enfermedad rara en la categoría de enfermedades autoinflamatorias, como el reumatismo, que plantea un desafío diagnóstico para los médicos.

En estudios recientes se encontró que los pacientes tenían niveles altos de proteína proinflamatoria S100A12, lo que justifica una evaluación adicional de esta proteína como biomarcador [80]. S100A12, histatinas, Cistatinas tipo S, estaterina, proteínas ácidas ricas en prolina, entre otras, también se detectaron en la saliva de los pacientes con la enfermedad de Wilson, un trastorno hereditario poco común del metabolismo hepático, neurológico y psiquiátrico, cuyos síntomas pueden ser fatales si no se tratan. El proteoma salival de los pacientes con enfermedad de Wilson mostró patrones de inflamación y estrés oxidativo que reflejan la patogenia de la enfermedad. Específicamente, ciertos residuos en una serie de proteínas, como las proteínas que se unen al calcio, S100A9 y S100A8, se encontraron oxidadas y su identificación se podría usar para monitorear la enfermedad.<sup>36</sup>

La enfermedad celíaca es una enfermedad metabólica que interfiere con la vida cotidiana de los individuos. y se ha observado que estos pacientes desarrollan intolerancia a las proteínas del trigo o gluten por lo que se estableció un estudio proteómico donde se encontró que no existe diferencia en los niveles de proteínas ricas en prolina en pacientes celíacos e individuos sanos, a pesar de su similitud estructural con el gluten, dejando preguntas abiertas para los diferentes mecanismos de tolerancia contra inmunogenicidad de proteínas ricas en prolina y gluten, respectivamente, dentro de esta enfermedad.<sup>28</sup>

## CONCLUSIONES

Gracias a la facilidad de su obtención las muestras de saliva son ideales para el diagnóstico y la realización de estudios tales como los biomarcadores salivales para poder ser utilizados como auxiliares de diagnóstico.

En el diagnóstico utilizando la saliva, la baja concentración de sus componentes ya no es un problema y, por lo tanto, la saliva no sólo puede ser una herramienta diagnóstica, sino que puede ser una forma fácil de monitorear la evolución de diversos padecimientos

La proteómica es una herramienta verdaderamente útil en el estudio de las enfermedades, proporcionando una visión global. Los análisis proteómicos permiten la realización de un estudio básico de la enfermedad, facilitando la búsqueda de marcadores de infección o virulencia. Los resultados obtenidos tienen una aplicabilidad dirigida al diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, además de permitir el desarrollo de nuevas terapias.

Las técnicas proteómicas no solo permiten la identificación de nuevos marcadores, sino que pueden ser implantadas como técnicas de diagnóstico rápido, pudiendo dirigir el tratamiento con mayor celeridad evitando los cultivos in vitro, que requieren largos tiempos de incubación, retrasando el diagnóstico, además de generar falsos negativos en aquellos microorganismos viables pero no cultivables. Esta revisión muestra como la proteómica es una herramienta potente en investigación.

Tomados colectivamente, en los datos más recientes de la literatura se sugiere que la proteómica salival puede ofrecer muchas perspectivas nuevas en el seguimiento de un número sustancial de enfermedades y afecciones, especialmente a las que requieren monitoreo frecuente y a largo plazo como las enfermedades infecciosas, además de permitir el diagnóstico precoz, logrando así tener un mejor pronóstico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Norrby SR, Nord CE, Finch R, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Lack of development of new antimicrobial drugs: A potential serious threat to public health. *Lancet Infect Dis*. 2005;5:115–9.
2. Lee YH, Wong DT. Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent* 2009; 22 (4): 241-248.
3. Fleischmann RD, Adams MD, White O, Clayton RA, Kirkness EF, Kerlavage AR, et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*. 1995;269:496–512.
4. Lewis JG. Steroid analysis in saliva: an overview. *Clin Biochem Rev*. 2006;27:139–46. Miller C,
5. Foley JD, Bailey AL et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med* 2010; 4 (1): 171-189.
6. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P et al. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications *Clin Chem* 2011; 57 (5): 675-687.
7. Pink R, Simek J, Vondrakova J, et al. Saliva as a diagnostic medium. *Biomed Pap Med Fac*
8. Cardoso AA, Lopes LM, Rodrigues LP, Teixeira JJ, Steiner-Oliveira C, Nobre-Dos-Santos M. Influence of salivary parameters in the caries development in orthodontic patients-an observational clinical study. *Int J Paediatr Dent* 2017;27(6):540-50.

9. Khurshid Z, Zohaib S, Najeeb S, Zafar MS, Slowey PD, Almas K. Human saliva collection devices for proteomics: an update. *Int J Mol Sci*. 2016. <https://doi.org/10.3390/ijms17060846>.
- 10 . Sun X, Huang X, Tan X, Si Y, Wang X, Chen F, et al. Salivary peptidome profiling for diagnosis of severe early childhood caries. *J Transl Med* 2016;14(1):240.
11. Singh S, Sharma A, Sood PB, Sood A, Zaidi I, Sinha A. Saliva as a prediction tool for dental caries: An in vivo study. *J Oral Biol Craniofac Res* 2015;5(2):59-64
12. Gilbert S. Omenn, Lydie Lane, Christopher M. Overall, Ileana M. Cristea, Fernando J. Corrales, Cecilia Lindskog, Young-Ki Paik, Jennifer E. Van Eyk, Siqi Liu, Stephen R. Pennington, Michael P. Snyder, Mark S. Baker, Nuno Bandeira, Ruedi Aebersold, Robert L. Moritz, Eric W. Deutsch. Research on the Human Proteome Reaches a Major Milestone: >90% of Predicted Human Proteins Now Credibly Detected, According to the HUPO Human Proteome Project. *Journal of Proteome Research* **2020**, 19 (12) , 4735-4746. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00485>
13. Yuanliang Z, Keren Z, Fanyu B, Piliang H, Huanming Y, Siqi L, Yan R. D283 Med, a Cell Line Derived from Peritoneal Metastatic Medulloblastoma: A Good Choice for Missing Protein Discovery. *Journal of Proteome Research* **2020**, 19 (12) , 4857-4866. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.0c00743>
14. Yuanliang Zhang, Zhilong Lin, Yifan Tan, Fanyu Bu, Piliang Hao, Keren Zhang, Huanming Yang, Siqi Liu, Yan Ren. Exploration of Missing Proteins

by a Combination Approach to Enrich the Low-Abundance Hydrophobic Proteins from Four Cancer Cell Lines. *Journal of Proteome Research* **2020**, 19 (1)401

408. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00590>

15. Tortora G., Derrickson B., Principios de anatomía y fisiología, editorial Medica

Panamericana, México D.F. 2006, pp. 908-913.

16. Avery J., Chiego D., Principios de histología y embriología bucal con orientación

clínica, Elsevier, Madrid España 2007, pp. 195-203.

17. Thilbodeau G., Patton K., Anatomía y fisiología, editorial Harcourt, Madrid España 2000, pp. 737-738, 771,773-774.

18. Lamby C, Gómez O, Jaramillo L, La a-amilasa salival: relación con la caries dental y

la salud en general, *Univ Odontol.* 2013 Jun-Jul; 32(69): 93-101. Disponible en:

<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/SICI%3A%202027->

[3444\(201307\)32%3A69%3C93%3AASCD%3E2.0.CO%3B2-X](http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/article/view/SICI%3A%202027-3444(201307)32%3A69%3C93%3AASCD%3E2.0.CO%3B2-X)

19. García B, Delfín O, Lavandero A, Saldaña A, Principales proteínas salivales: estructura,

función y mecanismos de acción, *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2012;11(4)450-

456. Disponible en:<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180425056004>

20. Carrillo W, Lisozima: Actividad antibacteriana y alergenicidad, *Actualización en nutrición* vol 14 - nº 4 - diciembre 2013. Disponible en:



[http://www.revistasan.org.ar/pdf\\_files/trabajos/vol\\_14/num\\_4/RSAN\\_14\\_4\\_314.pdf](http://www.revistasan.org.ar/pdf_files/trabajos/vol_14/num_4/RSAN_14_4_314.pdf)

21. Álvarez N., 2011. Inmunoglobulina A secretora humana, como elemento capaz de modificar la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (Tesis de posgrado), Instituto FINLAY, LaHabana-Cuba.

22. Saliva y fluido gingival- aspectos bioquímicos. Disponible en: <http://www.odon.uba.ar/uacad/eap/unidades%20tematicas/unidad%20tematica%201/saliva%20y%20fluido%20gingival%20aspectos%20bioquimicos.pdf>

23. Venado EA. Insuficiencia renal crónica, Unidad de proyectos especiales, UNAM. 2006 Disponible en [http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/02\\_feb\\_2k9.pdf](http://www.facmed.unam.mx/sms/temas/2009/02_feb_2k9.pdf)

24. Fabre B., et al., La saliva y su utilidad en la evaluación de la función endocrinológica, Revista SAEGRE - Volumen XVI - Nº 3 - noviembre de 2009. Disponible en: [http://ttvps.com/saegre/revista/numeros/2009/n3/la\\_saliva\\_utilidad\\_endocrinologica\\_n3.pdf](http://ttvps.com/saegre/revista/numeros/2009/n3/la_saliva_utilidad_endocrinologica_n3.pdf)

25. Díaz A., La estructura de las catalasas, REB 22 (2): 76-84, 2003. Disponible en: [http://www.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB\\_DOC/2003/06/20032\\_LA%20ESTRUC\\_.pdf](http://www.uacj.mx/ICB/redcib/Documents/REB_DOC/2003/06/20032_LA%20ESTRUC_.pdf)

26. Rubio M., et al., Oxidative stress assessed in saliva from patients with acute myocardial infarction. A preliminary study, Acta Odontol. Latinoam. Vol. 26 Nº 2 / 2013/116-120. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24303736>

26. Aps JK, Martens LC. Review: the physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Sci Int.* 2005;150:119–31.

27. Jasim H, Olausson P, Hedenberg-Magnusson B, Ernberg M, Ghafouri B. The proteomic profile of whole and glandular saliva in healthy pain-free subjects. *Sci Rep.* 2016;6:39073.
28. Amado FM, Ferreira RP, Vitorino R. One decade of salivary proteomics: current approaches and outstanding challenges. *Clin Biochem.* 2013;46(6):506–17.
29. Kozin SV, Maimon N, Wang R, Gupta N, Munn L, Jain RK, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) as a potential target for inhibiting metastasis of triple-negative breast cancers. *Oncotarget.* 2017;8(65):108292–302.
30. Gallo C, Ciavarella D, Santarelli A, Ranieri E, Colella G, Lo Muzio L, et al. Potential salivary proteomic markers of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Genomics Proteomics.* 2016;13(1):55–61.
31. Lin YH, Eiguez RV, Torralba MG, Singh H, Golusinski P, Golusinski W, et al. Self-assembled STrap for global proteomics and salivary biomarker discovery. *J Proteome Res.* 2019;18(4):1907–15.
32. Uzozie AC, Aebersold R. Advancing translational research and precision medicine with targeted proteomics. *J Proteomics.* 2018;189:1–10.
33. Hu A, Noble WS, Wolf-Yadlin A. Technical advances in proteomics: new developments in data-independent acquisition. *F1000Res.* 2016;5:198–211.
34. Picotti P, Bodenmiller B, Aebersold R. Proteomics meets the scientific method. *Nat Methods.* 2013;10(1):24–7.

35. Kaczor-Urbanowicz KE, Martín Carreras-Presas C, Kaczor T, Tu M, Wei F, Garcia-Godoy F, et al. Emerging technologies for salivaomics in cancer detection. *J Cell Mol Med.* 2017;21(4):640–7.

36. Han Y, Jia L, Zheng Y, Li W. Salivary exosomes: emerging roles in systemic disease. *Int J Biol Sci.* 2018;14(6):633–43.

37. Koeppen M, Stanton N. Berne y Levi: Fisiología Médica, Elsevier. 2018 (84-102)