

Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Estomatología "Raúl González Sánchez"

Principales proteínas salivales: estructura, función y mecanismos de acción

Salivary proteins: structure, function and mechanisms of action

Bárbara E. García Triana^I, Olayo Delfín Soto^{II}, Aleida M. Lavandero Espina^{III}, Alberto Saldaña Bernabeu^{IV}

^IDoctor en Ciencias Médicas. Profesora Titular. Investigadora Auxiliar. Especialista Segundo Grado Bioquímica Clínica. barbara.garcia@infomed.sld.cu

^{II}MCs Profesor Auxiliar. Especialista Segundo Grado Fisiología Normal y Patológica. olayo@infomed.sld.cu

^{III}MCs Profesora Auxiliar. Especialista Segundo Grado Bioquímica Clínica. aleidajosefa@infomed.sld.cu

^{IV}Doctor en Ciencias Médicas. Profesor Titular. Especialista Segundo Grado Fisiología Normal y Patológica Universidad de Ciencias Médicas de las FAR. Municipio Marianao, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: las proteínas salivales son elementos fundamentales en las importantes funciones que desempeña la saliva en el mantenimiento de la salud bucal.

Objetivo: fundamentar las funciones de las principales proteínas salivales teniendo en cuenta la relación estructura-función de las macromoléculas.

Métodos: Se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema a través de la consulta de bases de datos (PubMed, Hinari, SeCimed, Scielo y EBSCO) y se seleccionaron 30 referencias relevantes.

Desarrollo: se describen las estructuras moleculares, funciones y mecanismos de acción de las principales proteínas salivales: mucinas, aglutinina, proteínas ricas en prolina, inmunoglobulinas, lisozima, peroxidasa humana salival, lactoferrina, estaterina, cistatinas e histatinas.

Conclusiones: los mecanismos de acción de las proteínas salivales evidencian la relación estructura-función que caracteriza a las macromoléculas y fundamentan su

papel dentro de las funciones de la saliva relacionadas con el mantenimiento de la salud bucal.

Palabras clave: saliva, proteínas salivales, salud bucal.

ABSTRACT

Introduction: salivary proteins are key elements in the important functions saliva plays in the maintenance of oral health.

Objective: to lay the foundations of the functions for the principal salivary proteins according to the structure-function relationship of macromolecules.

Methods: a review was performed about the subject through the consultation of data bases PubMed, Hinari, Secimed, Scielo and EBSCO.

Results: the molecular structures, functions and mechanisms were described for the salivary proteins: mucins, agglutinin, proline rich proteins, immunoglobulins, lysozyme, salivary peroxidase, lactoferrin, statherins, cystatins and histatins.

Conclusions: the mechanisms of salivary proteins make evident the structure-function relationship of macromolecules and fundament their role in saliva functions related to the maintenance of oral health.

Key words: saliva, salivary proteins, oral health.

INTRODUCCIÓN

La saliva es un fluido producido y vertido hacia la cavidad bucal por diferentes órganos denominados glándulas salivales. Es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores en 93 % de su volumen y las menores en 7 % restante. 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.^{1,2,3,4} En la composición de este fluido se encuentran diferentes moléculas, dentro de las cuales se destacan las proteínas, las que están involucradas en la mayoría de las funciones de la saliva.^{2,3}

Se han descrito numerosas proteínas salivales y se supone que muchas de ellas guardan relación con la salud bucal. Sin embargo, no en todos los casos su mecanismo de acción está claro o se encuentra adecuadamente fundamentado desde el punto de vista de la relación estructura-función de las proteínas. Esto motivó la realización de la presente revisión bibliográfica, con la cual se espera contribuir a la profundización del estudio de este tema tan relevante para la Estomatología, no suficientemente abordado con un enfoque integrador y desde la vinculación básico-clínica. El trabajo tiene como objetivo fundamentar las funciones de las principales proteínas salivales, teniendo en cuenta la relación estructura-función de las macromoléculas.

METODOLOGÍA

Se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema a través de la consulta de bases de datos (PubMed, Hinari, SeCimed, Scielo y EBSCO), para acceder a artículos fundamentalmente de los últimos 5 años, que respondieran a las palabras clave: saliva, proteínas salivales, estructura, función. Se seleccionaron 30 referencias relevantes que abordan aspectos estructurales y funcionales de las proteínas salivales.

DESARROLLO

Dentro de las funciones de la saliva se invoca la participación de diferentes proteínas salivales. La función que realizan está estrictamente relacionada con su estructura, la cual determina su mecanismo de acción.

Relación estructura-función en las proteínas

Las proteínas son biomacromoléculas, cuyos precursores son los aminoácidos que se unen entre sí a través de enlaces covalentes denominados enlaces peptídicos, lo que da lugar a la cadena peptídica. A la secuencia de aminoácidos en la cadena, se le denomina estructura primaria y esta información se encuentra codificada en los genes presentes en el ácido desoxirribonucleico. La estructura primaria covalente (información secuencial) de la proteína, determina la estructura tridimensional (información conformacional) y, a su vez, esta determina la función, que ejerce mediante el reconocimiento molecular. Esta característica general de las biomacromoléculas recibe el nombre de relación estructura-función.⁵

Proteínas de la saliva

Los investigadores han identificado 309 proteínas en la saliva total. Más de 95% corresponde a las principales familias de proteínas que incluyen: proteínas ricas en prolina, alfa-amilasa salival, mucinas, aglutininas, cistatinas, histatinas y estaterinas. A continuación, se describe la estructura de estas y otras proteínas salivales (inmunoglobulinas, lisozima, peroxidasa salival y lactoferrina) por su importancia para la salud bucal, así como los aspectos conocidos sobre su función y mecanismo de acción.³

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.^{4,6}

MG2 existe en dos formas: MG2a y MG2b. Es una proteína monomérica relativamente pequeña ($M_r = 125\text{kDa}$), 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.⁴

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, puede ser un determinante importante en la colonización sitio-específica de algunas bacterias.⁷

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.⁴

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 de 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 Ca^{2+} libres lo que promueve la remineralización del tejido dentario. Algunos polimorfismos de PRP básicas se han asociado con resistencia a caries dental en niños, por inactivación de los ácidos bacterianos en la placa dental.^{2,3,8,9}

Anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig): Son glicoproteínas que se producen y segregan por parte de células defensivas (células plasmáticas), de manera específica ante la presencia de determinadas sustancias denominadas antígenos. 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.¹⁰ 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.¹⁰

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 que cataliza 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.^{4,11}

Peroxidasa humana salival: Presenta un peso molecular de 73-78 kDa. Es una enzima que cataliza la formación de compuestos bactericidas como el hipotiocianato

(OSCN⁻) y el ácido hipotiocianoso (HOSCN⁻), a partir del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el tiocianato (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 enjuagatorios, 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.^{4,12}

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 α(1-4), acción determinada por la estructura de su centro activo. Así, desempeña un importante papel en la nutrición. Si 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.^{13,14}

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.^{4,12} 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.^{4,12}

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 Ca²⁺ 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.^{10,15}

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 cistatina C (catiónica) y una cistatina D. Todas presentan un plegamiento típico con 5 hojas beta antiparalelas, que envuelven una hélice alfa de 5 vueltas.^{4,16}

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.^{4,16}

Histatinas: Las histatinas son una familia de péptidos antimicrobianos estructuralmente relacionados, ricos en residuos de arginina, histidina y lisina. Por lo tanto, a 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 3.⁴ 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.^{4,17}

Hasta aquí, se ha podido destacar la relación estructura-función que existe en las proteínas salivales, como ocurre con el resto de las proteínas del organismo. También se ha evidenciado que estas proteínas son multifuncionales, determinado, también, por su secuencia de aminoácidos, que delimita las diversas posibilidades de su conformación y función.

CONCLUSIONES

Los mecanismos de acción de las proteínas salivales evidencian la relación estructura-función que caracteriza a las macromoléculas y fundamentan su papel dentro de las funciones de la saliva relacionadas con el mantenimiento de la salud bucal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Viera NT, Morales TT, Morón AI, Navas RM, Pedrañez AB. Parámetros inflamatorios en saliva y sangre en niños y adolescentes sanos. *Rev Cubana Estomatol* [revista en la Internet]. 2011 Sep [citado 2012 Mar 31]; 48(3): 299-307. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072011000300002&lng=es
2. Scarano E, Fiorita A, Picciotti PM, Passali GC, Calò L, Cabras T, *et al.* Proteomics of saliva: personal experience. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2010 June; 30(3): 125-30.
3. Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *JADA.* 2008; 139(5 suppl): 18S-24S.

4. Amerongen AVN. Salivary glands and saliva. Number 2. Saliva- the defender of the oral cavity. *Oral Dis.* 2002;8:12-22.
5. Cardellá L, Hernández R, Upman C, Vicedo A, Pérez A, Sierra S. *Bioquímica Médica.* La Habana: Ecimed; 1999, p. 137, 211, t.I.
6. Cárdenas M, Elofsson U, Lindh L. Salivary mucin MUC5B could be an important component of in vitro pellicles of human saliva: an in situ ellipsometry and atomic force microscopy study. *Biomacromolecules.* 2007;8:1149-56.
7. Derrien M, Van Passel M, Van de Bovenkamp J, Schipper RG, De Vos WM, Dekker J. Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut Microbes.* 2010 Jul-Aug; 1(4): 254-68.
8. Inzitari R, Vento G, Capoluongo E, Boccacci S, Fanali C, Cabras T, *et al.* Proteomic analysis of salivary acidic proline-rich proteins in human preterm and at-term newborns. *J Proteome Res.* 2007;6:1371-7.
9. Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins. *Int J Dent.* 2011.
10. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res.* 2000 Dec; 14: 40-7.
11. Hannig C, Hoch J, Becker K, Hannig M, Attin T. Lysozyme activity in the initially formed in situ pellicle. *Arch Oral Biol.* 2005; 50:821-8.
12. Shin K, Yaegaki K, Murata T, Ii H, Tanaka T, Aoyama I, *et al.* Effects of a composition containing lactoferrin and lactoperoxidase on oral malodor and salivary bacteria: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2011 Aug; 15(4):485-93.
13. Campos MJ, Raposo NR, Ferreira AP, Vitral RW. Salivary alpha-amylase activity: a possible indicator of pain-induced stress in orthodontic patients. *Pain Med.* 2011 Aug; 12(8):1162-6.
14. Sánchez GA, Miozza V, Delgado A, Busch L. Determination of salivary levels of mucin and amylase in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2011 Apr; 46(2):221-7.
15. Harvey NM, Carpenter GH, Proctor GB, Klein J. Normal and frictional interactions of purified human statherin adsorbed on molecularly-smooth solid substrata. *Biofouling.* 2011 Sep; 27(8):823-35.
16. Cabras T, Manconi B, Iavarone F, Fanali C, Nemolato S, Fiorita A, *et al.* RP-HPLC-ESI-MS evidenced that salivary cystatin B is detectable in adult human whole saliva mostly as S-modified derivatives: S-Glutathionyl, S-cysteinyl and S-S 2-mer. *J Proteomics.* 2012 Jan 4; 75(3):908-13.
17. McDonald EE, Goldberg HA, Tabbara N, Mendes FM, Siqueira WL. Histatin 1 resists proteolytic degradation when adsorbed to hydroxyapatite. *J Dent Res.* 2011 Feb; 90(2):268-72.

Recibido: 15 de febrero de 2012.

Aprobado: 19 de julio de 2012.