

Perfil proteico de la saliva total de pacientes edéntulos parcial y total

Protein profile of whole saliva of partial and complete edentulous patients

Rolando Pablo Juárez ^{1,a}, Claudia Patricia Serrano ^{2,b},
Gabriela Noemí Gómez ^{2,c}

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

² Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (Departamento de Bioquímica), Corrientes, Argentina.

^a Doctor en Odontología.

^b Especialista en Hematología.

^c Doctora en Química.

Correspondencia:

Rolando Pablo Juárez: ropablojuarez@gmail.com
FOUNNE. Av. Libertad 5470, W3402 Corrientes.
Argentina.
ORCID: 0000-0001-8950-3373

Coautores:

Claudia Patricia Serrano: claudiapatriciaserrano@hotmail.com
ORCID: 0000-0003-4988-6677
Gabriela Noemí Gómez: bioq_g@yahoo.com.ar
ORCID: 0000-0001-8918-8174

Editora:

Katía Luz Medina Calderón
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Secretaría General de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

Recibido: 25/01/22

Aceptado: 27/06/22

Publicado: 21/10/22

Resumen

Objetivo. El objetivo de este estudio fue caracterizar el perfil de proteínas de la saliva total en personas edéntulas parcial y total y determinar los cambios en la expresión de proteínas salivales de adultos con diversos grados de pérdida de dientes. **Métodos.** En este estudio observacional, se recogieron muestras de saliva no estimulada de 80 adultos (de 18 a 73 años), 20 dentados y 60 desdentados. Los pacientes edéntulos (PE) parcial y total se dividieron en tres grupos con diferente número de dientes perdidos. Se compararon la concentración y el perfil electroforético (membrana de acetato de celulosa y geles de poliacrilamida) de las proteínas salivales entre los grupos. **Resultados.** La concentración de proteína total y albúmina fue más alta en el grupo de pacientes dentados (PD) y significativamente diferente en los grupos de PE ($p < 0,0001$). Se observó una diferencia significativa ($p < 0,011$) en la fracción de gammaglobulina entre PD versus PE y en el perfil electroforético de las proteínas salivales entre los diferentes grupos. Un número elevado de bandas de 66 kDa se encontró en todos los grupos ($p = 0,049$). **Conclusiones.** Se observaron diferencias en la concentración y perfil electroforético de las proteínas salivales de PD y PE.

Palabras clave: Arcada edéntula; Proteínas y péptidos salivales; Adulto (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Objective. Aim of this study was to characterize the protein profile of whole saliva in partial and complete edentulous and determine the changes in salivary protein expression of adults with varying degrees of tooth loss. **Methods.** In this observational study, unstimulated saliva samples were collected from 80 adults (age 18-73 years), 20 dentulous and 60 edentulous. Partial and complete edentulous patients (EP) were divided into three groups with different number of teeth lost. Concentration and electrophoretic profile (cellulose acetate membrane and polyacrylamide gels) of the salivary proteins were compared between the groups. **Results.** Total protein and albumin concentration was highest in the group of dentulous patients (DP) and significantly different in PE groups ($p < 0.0001$). A significant difference ($p < 0.011$) was observed in the gamma globulin fraction between PD versus PE and in the electrophoretic profile of salivary proteins between the different groups. A high number of 66 kDa bands was founded in all groups ($p = 0.049$). **Conclusions.** The concentration and electrophoretic profile of the salivary proteins of DP and EP were different.

Keywords: Jaw edentulous; Salivary proteins and peptides; Adult (source: MeSH NLM).

Introducción

La saliva total (ST) es el medio líquido del ecosistema de la cavidad bucal, que proporciona hidratación a los dientes y las superficies de las membranas mucosas, lo que facilita la masticación y la deglución¹. Es una mezcla compleja derivada de la secreción de glándulas salivales, líquido crevicular gingival y trasudado de la mucosa oral, además de mucosa de la cavidad nasal y faringe, bacterias orales no adherentes, células sanguíneas, células epiteliales descamadas y restos de alimentos².

La saliva humana contiene numerosas proteínas y péptidos, con varias funciones biológicas. También sirven como biomarcadores de diversos procesos fisiológicos y patológicos, que pueden ser utilizados para desarrollar investigaciones o monitorear enfermedades^{3,4}. En este sentido, la saliva como fluido de diagnóstico tiene algunas ventajas en comparación con la sangre y la orina. La recolección es fácil y no invasiva, puede facilitar el diagnóstico precoz, anticipar el pronóstico y mejorar el manejo clínico⁵. Además, la saliva contiene una menor cantidad de proteínas en comparación con la sangre, lo que facilita la selección e investigación de proteínas poco abundantes, disminuye cualquier riesgo potencial de interferencias inespecíficas e interacciones hidrostáticas^{2,6}.

El fluido crevicular gingival (FCG) está compuesto por sustancias variables de origen local y plasmático. En pacientes edéntulos (PE) total, el FCG está ausente y la presencia de componentes plasmáticos en ST se limita al trasudado de la mucosa oral y al paso a través del tejido glandular salival⁷. Los estudios de la saliva de PE son imprescindibles debido a los trastornos de las glándulas salivales asociados con el edentulismo, que podrían alterar su composición y la satisfacción de los pacientes con sus prótesis⁸. Hasta el momento existe escasa literatura sobre la relación entre el perfil proteico de la saliva y la pérdida de dientes. Por lo tanto, este estudio fue diseñado para evaluar y comparar el perfil de proteína de ST no estimulada en PE sanos con diferente número de pérdida de dientes y pacientes dentados (PD) controles.

Métodos

En el marco de un diseño descriptivo transversal, se conformó una muestra de conveniencia de PE parciales y totales que solicitaron tratamiento en el Departamento de Rehabilitación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste. PD (grupo control) sin dientes faltantes, fueron seleccionados del mismo Departamento. Se informó a los pacientes sobre este estudio y se incluyeron aquellos que estuvieron de acuerdo. El protocolo de estudio fue aprobado (código 89-14) por el Comité de Bioética en Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste (Corrientes, Argentina). Se obtuvo el consentimiento informado escrito de todos los pacientes.

Los pacientes fueron estratificados según el número de dientes perdidos en cuatro grupos (n=20 por grupo): controles dentados (Grupo 1), PE parcial con diez o menos dientes faltantes (Grupo 2), PE con más de diez dientes faltantes (Grupo 3), PE total (Grupo 4). Todos los PE parcial y PD se sometieron a un examen clínico, dental y periodontal completo. En los PE total se examinó la mucosa oral. Los pacientes estaban libres de cualquier enfermedad sistémica u oral, eran no alcohólicos y no fumadores. Una semana antes de las tomas de muestras de saliva, se estableció un estricto protocolo de higiene bucal de estas personas y sus prótesis.

La muestra de ST no estimulada se recolectó mediante salivación pasiva, en recipiente plástico descartable con cierre hermético sin conservantes, entre las 9 y 12 am. Se recolectaron aproximadamente 5 mL de saliva. Al menos 1 hora antes de la recolección, se pidió a los pacientes que evitaran cepillarse los dientes y comer. Quince minutos antes de la maniobra, se les pidió que se enjuagara bien la boca con agua. El mismo día de la recolección, se refrigeraron las muestras hasta su transporte al Laboratorio de Investigación en Proteínas (IQUIBA NEA, UNNE-CONICET). Inmediatamente, se centrifugaron a 10 000 rpm durante 10 min para eliminar los materiales no disueltos y el sobrenadante se almacenó a -20 °C.

La concentración de proteína total en saliva (PTs) se determinó cuantitativamente por el método del rojo de Pyrogallol (Proti U/LCR, Wiener lab, Rosario, Argentina), utilizando los procedimientos recomendados por el fabricante (S. Standard: 100 mg/dl - 1,0 g/l - albúmina solución). Los valores se expresaron en miligramos por decilitro (mg/dl).

El perfil electroforético de proteínas salivales se analizó mediante electroforesis en membrana de acetato de celulosa (MAC) y geles de poli(acrilamida) (SDS-PAGE).

MAC (Cellogel, Electrophoresis Co. SRL, Milán, Italia) se colocaron en tampón fosfato 0,02 mol/l (pH 7,40). Después de la transferencia, se aplicaron 5 µl de muestra en la zona catódica hasta el extremo del ánodo. La electroforesis se llevó a cabo a 24 °C en el mismo tampón a 250 V durante 30-40 min. Las bandas de proteínas en tiras de celogel se visualizaron mediante tinción con Amido Schwartz, y la distribución electroforética y la concentración relativa de las principales proteínas salivales se compararon con las fracciones electroforéticas típicas del plasma: albúmina (Alb), α-globulinas, β(1)-globulinas, β(2)-globulinas (βG) y γ-globulinas (γG). La semicuantificación se realizó por la técnica de elución, utilizando ácido acético al 80% v/v (porcentaje volumen-volumen) y lectura de los valores de absorbancia con espectrofotómetro BOECO S22 Ultravioleta/Visible (UV/Vis).

La SDS-PAGE se realizó en condiciones reductoras, utilizando un gel concentrador al 4% y un gel separador de acrilamida al 12%. Después de determinar la concentración de proteína en cada muestra, se cargó una cantidad

estandarizada (20 µL) en cada pocillo de gel de poliacrilamida desnaturalizante con un marcador de peso molecular en el primer carril. El procedimiento se realizó en cámaras de electroforesis (ENDURO™ vertical gel electrophoresis systems, Labnet International, Inc.) a 200 V y 40 mA durante 90 min. Después de la electroforesis, los geles se tiñeron con Coomassie Blue R-250 o nitrato de plata. Las masas moleculares de las proteínas (expresadas en kiloDalton, kDa) se estimaron por comparación con el estándar comercial (Amersham BioSciences GE-Healthcare UK Ltd.) corrido en paralelo: fosforilasa b (97 kDa), albúmina (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa), anhidrasa carbónica (30 kDa), inhibidor de tripsina (20,1 kDa), α-lactoalbúmina (14,4 kDa).

Las bandas se clasificaron según tamaño e intensidad de tinción sobre geles (azul de coomassie y nitrato de plata), siguiendo los criterios descritos por Banderas-Tarabay *et al.* ⁹, quienes puntuaron las proteínas salivales en tres tipos: ausentes, presentes y de alta intensidad y tamaño.

Se utilizó el programa estadístico SPSS (versión 19.0, SPSS, Chicago, IL, EE. UU.) para analizar los datos, mediante correlación de Pearson y ANOVA (prueba

post-hoc de Tukey) para correlacionar y comparar diferentes parámetros en grupos. Se consideraron significativos los valores de $p \leq 0,05$.

Resultados

Se incluyeron un total de 80 pacientes, 47 mujeres (58,8%) y 33 hombres (41,3%), con edades comprendidas entre los 18 y los 73 años. De los pacientes, el 50% eran parcialmente y el 25% totalmente edéntulos. El 72% de los PE usaban prótesis dental (Tabla 1). Se encontró que la caries fue la razón principal de la pérdida de dientes. En el momento de la toma de muestras, la puntuación del índice de higiene oral de Greene y Vermillion simplificado (IHOS) fue ≤ 1 .

El perfil de proteínas mostró grandes variaciones entre los diferentes grupos, con diferencias en el tamaño y la intensidad de tinción de las bandas. En todos los grupos, las bandas Alb y YG fueron prominentes, pero la intensidad de la tinción disminuyó en G3 y G4 (Figura 1, A). Las bandas βG, en el 50% de las muestras G4 (género femenino), fueron prominentes con alta intensidad (Figura 1, B), mientras que en G3 fueron pequeñas y de baja intensidad.

Tabla 1. Características de la muestra

| | G1 | G2 | G3 | G4 |
|--|---------|-----------|------------|----------|
| Mujeres % (n) | 55 (11) | 50 (10) | 65 (13) | 65 (13) |
| Hombres % (n) | 45 (9) | 50 (10) | 35 (7) | 35 (7) |
| Edad % (n) | | | | |
| Adultos jóvenes (18-35 años) | 75 (15) | 25 (5) | 10 (2) | 0 (0) |
| Adultos de mediana edad (36-55 años) | 25 (5) | 50 (10) | 40 (8) | 60 (12) |
| Adultos mayores (55 años) | 0 (0) | 25 (5) | 50 (10) | 40 (8) |
| Número medio de dientes perdidos: media (DE) | 0 (0) | 6,5 (0,8) | 16,8 (1,1) | 32 (0) |
| Desdentado % (n) | 0 (0) | 100 (20) | 100 (20) | 100 (20) |
| Usa prótesis % (n) | 0 (0) | 45 (9) | 70 (14) | 100 (20) |

G1: pacientes dentados; **G2:** pacientes edéntulos parciales con diez o menos dientes faltantes; **G3:** pacientes edéntulos parciales con más de diez dientes faltantes; **G4:** pacientes edéntulos totales

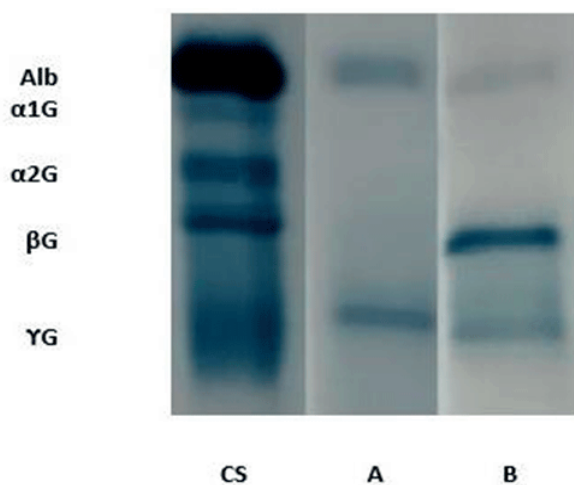


Figura 1. Patrones electroforéticos de saliva (acetato de celulosa). Las membranas de acetato de celulosa se tiñeron para las fracciones de proteínas usando Amido Schwartz. (CS) se refiere a bandas de electroforesis de control sérico estandarizado, (A) se refiere a bandas salivales Alb y YG de PD, (B) se refiere a bandas salivales βG (prominentes con alta intensidad) de PE totales (G4). Alb: albúmina, α-G: α-globulinas, βG: β-globulinas y YG: γ-globulinas

La concentración de proteínas totales y albúmina mostraron diferencias altamente significativas ($p=0,0001$) cuando se compararon pacientes dentados y pacientes edéntulos (Tabla 2). La concentración de proteínas totales fue menor en el Grupo 4 respecto a los otros tres grupos. Las concentraciones de β -globulinas no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($p=0,796$). Las concentraciones de gammaglobulinas mostraron cambios significativos entre los grupos ($p=0,011$); esta proteína fue significativamente mayor en pacientes dentados (Grupos 1, 2 y 3) que en pacientes edéntulos totales (Grupo 4).

La concentración de proteínas totales y la de albúmina mostraron una correlación negativa significativa con la edad ($p=0,028$ y $p=0,0001$, respectivamente). En comparación con los pacientes mayores, los adultos jóvenes mostraron concentración de albúmina ($12,44 \pm 10,41$ mg/dl frente a $5,08 \pm 3,84$ mg/dl, $p=0,004$) y proteínas totales significativamente más altas ($40,65 \pm 11,32$ mg/dl frente a $29,85 \pm 13,61$ mg/dl, $p = 0,006$).

Los pacientes masculinos mostraron las mayores cantidades de concentración de PTs ($38,66 \pm 14,51$ mg/dl frente a $30,43 \pm 12,78$ mg/dl, $p=0,043$). En el G4, la concentración de β G fue mayor en el género femenino ($6,57 \pm 8,54$ mg/dl vs $5,89 \pm 5,84$, $p=0,027$).

En G2 y G3 no hubo correlación significativa entre el número de dientes residuales y la concentración de PTs ($p=0,315$).

En los geles SDS-PAGE se observaron un total de seis bandas proteicas de distinto peso molecular en todos los pacientes. Se identificaron bandas de proteínas de 97 kDa, 66 kDa, 45 kDa, 30 kDa, 20 kDa y 14 kDa en el 26,3%,

51,2%, 48,8%, 57,5%, 26,3% y 56,3% de los pacientes, respectivamente. Se observaron bandas de proteínas con alta intensidad en todos los pesos moleculares, 97 kDa (5%), 66 kDa (47,5%), 45 kDa (2,5%), 30 kDa (3,8%), 20 kDa (8,8%) y 14 kDa (11,3%). La Figura 2, muestra la electroforesis en gel unidimensional de proteínas separadas en saliva, teñidas con dos métodos de tinción diferentes. Como queda claro a partir de la electroforesis, tanto la tinción con azul de Coomassie como con nitrato de plata son adecuadas para la detección del peso molecular de la proteína, ya que dieron bandas claras y diferenciadas. Mientras tanto, se notó que cuando se usaba la tinción de nitrato de plata, la resolución de las bandas era mejor.

En todos los grupos se observaron bandas de proteínas con un peso molecular que oscilaba entre 14 y 97 kDa (Tabla 3). Algunas de las fracciones de proteínas con alta intensidad encontradas en pacientes con saliva, como las proteínas de 97 kDa, 45 kDa, 30 kDa, 20 kDa y 14 kDa, no fueron detectables en G1, y las proteínas de 45 kDa y 30 kDa no fueron visibles en G4. Se observaron bandas de proteína de 66 kDa en un total de 79 pacientes. Estas bandas se observaron en 20 pacientes (100%) en G1, G3 y G4, mientras que en G2 estas bandas se apreciaron en 19 pacientes (95%). Las bandas de proteínas con alta intensidad en G3 tenían un porcentaje mayor de bandas de proteínas de 66 kDa en comparación con el control en G1.

Asimismo, no se ha observado asociación entre las bandas y género, edad y número de dientes ($p>0,05$). Tampoco hubo asociación entre edentulismo (G2 y G3) y el uso de prótesis con PTs y bandas ($p>0,05$).

Tabla 2. Concentraciones de proteínas totales y clases de proteínas en los cuatro grupos

| | n | Media (mg/dl) | DE (mg/dl) | Valor p |
|--------------------------------------|----|---------------------|------------|---------|
| Proteína total | | | | |
| G1 | 20 | 41,69 ^a | 10,94 | 0,0001 |
| G2 | 20 | 38,91 ^{ab} | 16,38 | |
| G3 | 20 | 31,75 ^b | 14,85 | |
| G4 | 20 | 22,67 ^c | 7,36 | |
| Albúmina | | | | |
| G1 | 20 | 13,89 ^d | 9,86 | 0,0001 |
| G2 | 20 | 8,19 ^e | 7,36 | |
| G3 | 20 | 6,33 ^e | 5,22 | |
| G4 | 20 | 2,52 ^f | 1,46 | |
| β-globulina | | | | |
| G1 | 20 | 5,83 | 9,65 | 0,79 |
| G2 | 20 | 4,33 | 9,42 | |
| G3 | 20 | 3,99 | 8,90 | |
| G4 | 20 | 6,34 | 7,55 | |
| γ-globulina | | | | |
| G1 | 20 | 21,81 ^c | 13,65 | 0,011 |
| G2 | 20 | 26,44 ^c | 13,49 | |
| G3 | 20 | 21,59 ^c | 11,32 | |
| G4 | 20 | 6,34 ^d | 7,55 | |

n: número de pacientes; **DE:** desviación estándar; **G1:** pacientes dentados; **G2:** pacientes edéntulos parciales con diez o menos dientes faltantes; **G3:** pacientes edéntulos parciales con más de diez dientes faltantes; **G4:** pacientes edéntulos totales. **Valor p:** ANOVA con prueba post-hoc de Tukey. Las medias con la misma letra no difieren significativamente entre sí.

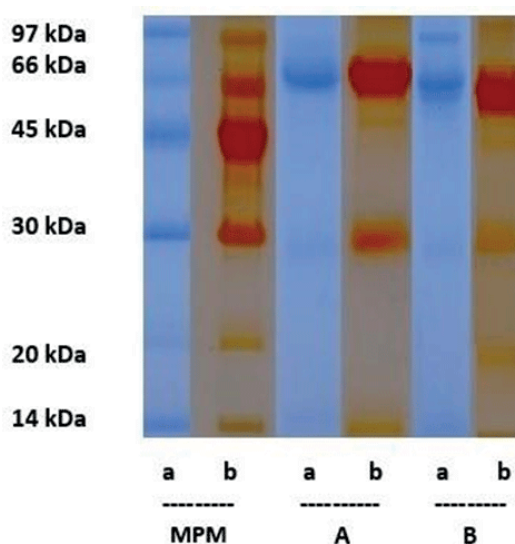


Figura 2. Patrones electroforéticos de saliva (SDS-PAGE). Los gels se tiñeron con azul de coomassie (a) o nitrato de plata (b). (MPM) se refiere al marcador de peso molecular, (A) se refiere a las bandas salivales de PD, (B) se refiere a las bandas salivales de PE totales. Los pesos moleculares (PM) están en kDa

Tabla 3. Comparación entre grupos de bandas de proteínas

| Bandas | | % | | | |
|--------|-------|----|----|----|----|
| kDa | Tipos | G1 | G2 | G3 | G4 |
| 97 | 1 | 95 | 75 | 50 | 55 |
| | 2 | 5 | 15 | 45 | 40 |
| | 3 | - | 10 | 5 | 5 |
| 66 | 1 | - | 5 | - | - |
| | 2 | 75 | 40 | 30 | 60 |
| | 3 | 25 | 55 | 70 | 40 |
| 45 | 1 | 80 | 30 | 30 | 55 |
| | 2 | 20 | 65 | 65 | 45 |
| | 3 | - | 5 | 5 | - |
| 30 | 1 | 55 | 25 | 45 | 30 |
| | 2 | 45 | 65 | 50 | 70 |
| | 3 | - | - | 5 | - |
| 20 | 1 | 95 | 55 | 50 | 60 |
| | 2 | 5 | 30 | 40 | 30 |
| | 3 | - | 15 | 10 | 10 |
| 14 | 1 | 40 | 30 | 45 | 15 |
| | 2 | 60 | 50 | 45 | 70 |
| | 3 | - | 20 | 10 | 15 |

kDa: kilodalton; tipos de bandas: ausente(1), presente(2), alta intensidad y tamaño(3); **G1:** pacientes dentados; **G2:** pacientes edéntulos parciales con diez o menos dientes faltantes; **G3:** pacientes edéntulos parciales con más de diez dientes faltantes; **G4:** pacientes edéntulos totales

Discusión

El principal hallazgo de este estudio fue que los pacientes edéntulos presentaron niveles de proteínas totales más bajos en comparación con los pacientes dentados. El problema fue descrito por pocos estudios con resultados no concluyentes, algunos informaron un cambio en la concentración de proteínas totales entre individuos con diferentes pérdidas de dientes, pero las metodologías

utilizadas son heterogéneas, por lo que sería imposible una comparación significativa con nuestros resultados¹⁰⁻¹². Por otra parte, la saliva de los pacientes edéntulos totales contenía menos albúmina que la saliva de los controles, confirmando los datos reportados por otros autores^{10,11} y ratificando el origen sulcular de albúmina, sugiriendo que la albúmina en pacientes edéntulos se origina únicamente en las glándulas salivales¹³.

En este estudio, encontramos que la edad estaba asociada con los niveles de proteínas totales y albúmina en la saliva, particularmente después de los 55 años y los 48 años, respectivamente. Asimismo, detectamos un efecto significativo del género en los niveles de proteínas totales. Sin embargo, en la literatura internacional, los resultados son diferentes y contradictorios^{9-11,13-16}. En realidad, los principales factores que afectan la concentración de las proteínas totales son la tasa de flujo salival, las contribuciones proteicas de la saliva glandular y las proteínas del fluido crevicular gingival (FCG). En este estudio, se utilizó saliva no estimulada y la ausencia de FCG en los pacientes edéntulos, provocaron disminución de albúmina, que según Terrapon *et al.*¹³ puede ser de cinco a seis veces menos que la saliva de los pacientes dentados. Además, las variaciones de la Albúmina salival también juegan un papel en las concentraciones de las proteínas totales¹⁵.

Yan *et al.*¹⁷ informaron que existe una alta correlación entre la concentración de Υ G en saliva y plasma. Nuestros datos indicaron una disminución significativa en la concentración de Υ G en PE. La concentración media de Υ G fue de 6,34 mg/dl, aproximadamente el 27% de los PD. Esta disminución en la concentración de Υ G probablemente se deba a la ausencia de FCG que proporciona proteínas plasmáticas. Además, la ausencia de dientes disminuye las posibilidades de la presencia de *biofilm* que provoca inflamación local. Se ha informado que tales proteínas aumentan en caso de inflamación intraoral¹⁸. En nuestro estudio, el aumento de la concentración de Υ G en el G2, podría deberse a la historia reciente de caries de los pacientes que formaban parte de ese grupo.

En los perfiles electroforéticos se observaron de 1 a 6 bandas proteicas, con variabilidad individual en número, intensidad y tamaño de las bandas, similar a lo reportado por otros estudios^{9,19}. En este estudio, la variabilidad observada entre los grupos fue evidente particularmente en las proteínas con peso molecular de 97 kDa, 66 kDa, 45 kDa y 20 kDa. Estas variaciones pueden corresponder a polimorfismos debido a posibles alteraciones en la composición peptídica de cada proteína. Las proteínas salivales son producto de múltiples genes y múltiples alelos, que producen una amplia gama de fenotipos, lo que explica la variabilidad biológica entre individuos^{20,21}. En realidad, son diversos los factores (estado de salud general y dental, medicaciones, nutrición, estilo de vida) que ocasionan una variabilidad alta en los porcentajes de PTs, Alb, bandas con falta de homogeneidad en las propiedades de la saliva²²⁻²⁴.

En este trabajo, se observó un 15-21% de proteínas de bajo peso molecular (<20 kDa), en línea con lo informado por Yan *et al.*¹⁷ y Loo *et al.*²⁵ quienes observaron niveles de 20,5% y 14,5% respectivamente. Las proteínas salivales de bajo peso molecular incluyen Cofilin (18 kDa), Lisozima C (14,7 kDa), Cistatina (13-16 kDa),

proteína inducida por prolactina (13-16 kDa), Histatina (3 kDa). La mayoría de estas proteínas contribuyen a la homeostasis de la cavidad oral^{20,26}. Tal como, las Cistatinas que regulan el calcio salival, tienen actividad antimicrobiana y es un supuesto biomarcador de estrés agudo. Asimismo, la Histatina exhibe actividades antibacterianas y antifúngicas²⁷.

En nuestro estudio, se encontraron en mayor proporción proteínas entre 20 y 40 kDa (20-47,5%). Loo *et al.*²⁵ reportaron resultados similares, pero la proporción fue del orden del 26%.

La proteína rica en prolina (27 kDa), mantiene constantes los niveles de calcio en la saliva, mejorando así la remineralización.²⁸

En este estudio, el 35-65% de las proteínas de la saliva tienen un peso molecular inferior a 60 kDa en comparación con el 65-68% informado por Yan *et al.*¹⁷ y Loo *et al.*²⁵. Las proteínas salivales correspondientes a este peso molecular incluyen Amilasa (55-57 kDa), Catalasa (54 kDa), Transferrina (52 kDa), Enolasa 1 (47 kDa)^{20,26}. La alfa-amilasa es la banda más prominente que se observa en los geles, ya que comprende aproximadamente el 60% de las proteínas en la saliva, con funciones digestivas y biomarcador del estrés²⁷.

En nuestro estudio, se observaron proteínas de alto peso molecular (66-97 kDa) en el 26%-37%. Las proteínas salivales con masas moleculares mayores o iguales a 60 kDa incluyen inmunoglobulina A (94 kDa), receptor polimérico de inmunoglobulina (81 kDa) y albúmina (66 kDa)^{20,27}. La IgA-s es la principal molécula de inmunoglobulina de la saliva que actúa como un sistema de defensa antimicrobiano²⁸.

En las personas de edad avanzada, con trastornos sistémicos y que usan prótesis removibles, se puede producir un desequilibrio de la microbiota oral, proliferación de biopelículas y posibles infecciones oportunistas²⁹. Sin embargo, Montenegro *et al.*³⁰ analizaron la saliva de ancianos institucionalizados y no observaron asociación entre el tipo de edentulismo y el uso de prótesis con parámetros bioquímicos y microbiológicos de la saliva. Hallazgo similar al nuestro, donde los pacientes sanos portadores de prótesis parciales (G3 y G4) no presentaron cambios en la cantidad de PTs, Alb y bandas electroforéticas, con respecto a los pacientes no usuarios de prótesis. Probablemente, el estricto control de infección durante la confección de las prótesis nuevas, permitió la conservación de la homeostasia oral.

Conviene señalar las limitaciones de esta investigación. Primero, el 75% de los PD del G1, son adultos jóvenes, dada la ausencia en este estudio de pacientes totalmente dentados en el grupo etario de adultos de mediana edad y mayores. Sin embargo, Terrapon *et al.*¹³ encontraron que

la Alb salival baja de personas mayores desdentadas era similar a la de un grupo de individuos más jóvenes con un periodonto sano. Por su parte, Meurman *et al.*²² sostienen que la vejez no afecta la composición de la saliva. En realidad, el factor determinante del presente estudio fue la ausencia de piezas dentarias y FCG. Por lo tanto, podemos afirmar que los pacientes seleccionados representaron correctamente a la población, lo que nos permitió, de acuerdo con nuestro objetivo principal, estudiar a los pacientes edéntulos en comparación con los pacientes dentados. Segundo, los resultados deben interpretarse con cautela debido al diseño transversal empleado. Futuros estudios deberían considerar un modelo longitudinal que considere los parámetros bioquímicos de la saliva durante varios días. Tercero, aunque la electroforesis es un análisis básico, su estudio en conjunto con la concentración de PTs confirma la hipótesis de que hay diferencias en el contenido de proteínas en la saliva de PE en comparación con los PD y estimula la realización de un estudio más detallado del componente proteico de la saliva.

En conclusión, en el presente estudio se observaron diferencias en la concentración y perfil electroforético de las proteínas salivales de pacientes dentados y pacientes edéntulos. La concentración de proteínas totales, albúmina y gammaglobulinas en la saliva total fue mayor en pacientes dentados. El perfil electroforético mostró una variación considerable en el número, intensidad y tamaño de las bandas observadas. Las diferencias interindividuales en la concentración de PTs y fracciones de proteínas pueden explicarse por la variabilidad biológica. Estos hallazgos sugieren que la ausencia de espacio crevicular está asociada con cambios cualitativos y cuantitativos del perfil proteico de la ST.

Referencias bibliográficas

- Dawes C, Pedersen AM, Villa A, Ekström J, Proctor GB, Vissink A, et al. The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol.* 2015;60(6):863-74. DOI:10.1016/j.archoralbio.2015.03.004.
- Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* 2011;57(5):675-87. DOI: 10.1373/clinchem.2010.153767.
- Saibaba G, Rajesh D, Muthukumar S, Sathiyarayanan G, Padmanabhan P, Akbarsha MA, et al. Proteomic analysis of human saliva: An approach to find the marker protein for ovulation. *Reprod Biol.* 2016;16(4):287-294. DOI:10.1016/j.repbio.2016.10.005.
- Jia SY, Zhang YL, Sun XY, Yuan C, Zheng SG. Impact of the Glycemic Level on the Salivary Proteome of Middle-Aged and Elderly People With Type 2 Diabetes Mellitus: An Observational Study. *Front Mol Biosci.* 2021;8:790091. DOI:10.3389/fmolb.2021.790091.
- Campanati A, Martina E, Diotallevi F, Radi G, Marani A, Sartini D, et al. Saliva Proteomics as Fluid Signature of Inflammatory and Immune-Mediated Skin Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):7018. DOI:10.3390/ijms22137018.
- Lee Y-H, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009; 22(4):241-248.
- Border MB, Schwartz S, Carlson J, Dibble CF, Kohlfarber H, Offenbacher S, et al. Exploring salivary proteomes in edentulous patients with type 2 diabetes. *Mol Biosyst.* 2012;8(4):1304-10. DOI:10.1039/c2mb05079j.
- Chang CH, Lee CY, Feng SW, Miao NF, Lin PH, Lin CT, et al. Effects of Salivary Oxidative Markers on Edentulous Patients' Satisfaction with Prosthetic Denture Treatments: A Pilot Study. *PLoS One.* 2016;11(3):e0151605. DOI: 10.1371/journal.pone.0151605.eCollection2016.
- Bandaras-Tarabay JA, Zacarías-D'Oleire IG, Garduño-Estrada R, Aceves-Luna E, González-Begné M. Electrophoretic analysis of whole saliva and prevalence of dental caries. A study in Mexican dental students. *Arch Med Res.* 2002;33(5):499-505. DOI: 10.1016/S0188-4409(02)00395-8.
- Takahashi Y, Shiina Y, Shiba A, Tsukazaki H, Kimura E, Marutani Y, et al. Total Protein Concentrations and Protein Fractions in Whole Saliva from Healthy Subjects and Edentulous Subjects, Measured by Cellulose Acetate Membrane Electrophoresis and High Sensitivity Silver Staining. *HEP.* 2003;30(4):476-481. DOI: https://doi.org/10.7143/jhep.30.476.
- Takahashi Y, Shiba A, Shiba K. Differences in whole salivary total protein concentration and protein fractions among the groups of dentulous subjects, edentulous subjects and periodontitis patients. *Nihon HotetsuShika Gakkai Zasshi.* 2004;48(5):723-32. DOI: https://doi.org/10.2186/jjps.48.723.
- Manconi B, Liori B, Cabras T, Iavarone F, Manni A, Messana I, et al. Top-down HPLC-ESI-MS proteomic analysis of saliva of edentulous subjects evidenced high levels of cystatin A, cystatin B and SPRR3. *Arch Oral Biol.* 2017;77:68-74. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2017.01.021.
- Terrapon B, Mojon PH, Mensi N, Cimasoni G. Salivary albumin of edentulous patients. *Arch Oral Biol.* 1996;41(12):1183-5.
- Fleissig Y, Reichenberg E, Redlich M, Zaks B, Deutsch O, Aframian DJ, et al. Comparative proteomic analysis of human oral fluids according to gender and age. *Oral Dis.* 2010;16(8):831-8. DOI: 10.1111/j.1601-0825.2010.01696.x.
- Shaila M, Pai GP, Shetty P. Salivary protein concentration, flow rate, buffer capacity and pH estimation: A comparative study among young and elderly subjects, both normal and with gingivitis and periodontitis. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17(1):42-6. DOI: 10.4103/0972-124X.107473.
- Murr A, Pink C, Hammer E, Michalik S, Dhople VM, Holtfreter B, et al. Cross-Sectional Association of Salivary Proteins with Age, Sex, Body Mass Index, Smoking, and Education. *J Proteome Res.* 2017;16(6):2273-2281. DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00133.
- Yan W, Apweiler R, Balgley BM, Boontheung P, Bundy JL, Cargile BJ, et al. Systematic comparison

- of the human saliva and plasma proteomes. *Proteomics Clin Appl*. 2009;3(1):116-134. DOI:10.1002/prca.200800140.
18. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunollett*. 2014;162(2):22-38. DOI:10.1016/j.imlet.2014.08.017.
 19. Bhalla S, Tandon S, Satyamoorthy K. Salivary proteins and early childhood caries: A gel electrophoretic analysis. *Contemp Clin Dent*. 2010;1(1):17-22. DOI:10.4103/0976-237X.62515.
 20. Castro RJ, Herrera R, Giacaman RA. Salivary protein characteristics from saliva of carious lesion-free and high caries adults. *Acta Odontol Latinoam*. 2016;29(2):178-185.
 21. Lips A, Antunes LS, Antunes LA, Pintor AVB, Santos DABD, Bachinski R, et al. Salivary protein polymorphisms and risk of dental caries: a systematic review. *Braz Oral Res*. 2017;31:e41. DOI: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0041.
 22. Meurman JH, Rantonen P, Pajukoski H, Sulkava R. Salivary albumin and other constituents and their relation to oral and general health in the elderly. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(4):432-8. DOI:10.1067/moe.2002.122345.
 23. Jasim H, Olausson P, Hedenberg-Magnusson B, Ernerberg M, Ghafouri B. The proteomic profile of whole and glandular saliva in healthy pain-free subjects. *Sci Rep*. 2016;6:39073. DOI:10.1038/srep39073.
 24. Pushpass RG, Daly B, Kelly C, Proctor G, Carpenter GH. Altered Salivary Flow, Protein Composition, and Rheology Following Taste and TRP Stimulation in Older Adults. *Front Physiol*. 2019;10:652. DOI:10.3389/fphys.2019.00652.
 25. Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative Human Salivary and Plasma Proteomes. *J Dent Res*. 2010;89(10):1016-1023. DOI:10.1177/0022034510380414.
 26. Huang CM. Comparative proteomic analysis of human whole saliva. *Arch Oral Biol*. 2004;49(12):951-62. DOI:10.1016/j.archoralbio.2004.06.003.
 27. Marvin RK, Saepoo MB, Ye S, White DB, Liu R, Hensley K, et al. Salivary protein changes in response to acute stress in medical residents performing advanced clinical simulations: a pilot proteomics study. *Biomarkers*. 2017;22(3-4):372-382. DOI: 10.1080/1354750X.2017.1279215.
 28. Bachtiar EW, Gusliana DS, Bachtiar BM. Correlation between the extent of smoking, salivary protein profiles, and dental caries in young adult smokers. *Saudi Dent J*. 2021;33(7):533-537. DOI:10.1016/j.sdentj.2020.09.002.
 29. Baba Y, Sato Y, Owada G, Minakuchi S. Effectiveness of a combination denture-cleaning method versus a mechanical method: comparison of denture cleanliness, patient satisfaction, and oral health-related quality of life. *J Prosthodont Res*. 2018;62(3):353-358. DOI:10.1016/j.jpor.2018.01.005.
 30. Montenegro LAS, Silva E Farias IP, de Araújo EC, de Pontes JC, Raymundo ML, de Sousa SA, et al. Biochemical and microbiological analysis of the saliva of institutionalized elderly: With edentulism, use of dentures and presence of biofilm. *J Clin Exp Dent*. 2020;12(7):e632-e637. DOI:10.4317/jced.56842