

Las Mucinas Salivales y sus implicaciones en la reología de la saliva humana y los sustitutos salivales .

Título corto: Aspectos Reológicos de la Saliva.

*Recibido para arbitraje: 22/11/2007
Aceptado para publicación: 16/04/2008*

Gésime JM Od¹, Acevedo AM PhD², Lalaguna F PhD².

¹Odontólogo General egresado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo.

² Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vicentelli". Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela

Autor de Correspondencia: Od. José Manuel Gésime O. Urb. Parque Valencia, Sector 32, calle 78-C #71-61. Valencia. Edo. Carabobo. Correo electrónico: mgesime@cantv.net. Tlf: 0212-6053868.

RESUMEN

La literatura revisada para el presente artículo requirió el análisis de aspectos reológicos aplicables a la saliva humana y los sustitutos salivales. La saliva cuenta entre sus componentes glicoproteínas tipo mucina, las características bioquímicas de dichas glicoproteínas le confieren a la saliva sus propiedades reológicas, tales como viscosidad, lubricación y elasticidad. Las moléculas de mucina en solución presentan asociación y gelificación; la dinámica de estos procesos se ha estudiado por diversas técnicas e instrumentos. La hidratación de las mucinas es necesaria para que estas se gelifiquen, y le confieran a la saliva (o sus soluciones), viscosidad, lubricación y elasticidad, los mecanismos para que esto ocurra se apoyan en un Equilibrio de Donnan, sin embargo, en el fluido salival humano, la concentración fisiológica de mucina es tal que no permite la observación de gelificación. No obstante, a concentraciones mayores sí podría ser observada. Se han realizado estudios para el desarrollo de sustitutos salivales con compuestos de naturaleza glucídica y con mucinas extraídas de diversos tejidos animales, individualmente y en mezcla, con el objeto de aliviar la sintomatología de patologías que disminuyen el flujo salival, estos estudios han demostrado que la mucina extraída de glándulas submandibulares de bovino es la que mejor se adapta a los parámetros reológicamente deseables para un sustituto salival.

Palabras clave: saliva, mucina, reología, sustitutos salivales, viscosidad, elasticidad, lubricación.

ABSTRACT

In this review it is considered the rheological aspects of human saliva and salivary substitutes. Saliva has mucin like glycoproteins, which confer saliva its rheological properties, such as viscosity, lubrication and elasticity. Mucin molecules have gel forming properties; the dynamic of this process have been widely discussed. Mucin hydration is necessary for gelification and lubrication, mucin hydration confers saliva, viscosity, elasticity and lubrication properties, the hydration mechanism is based on a Donnan Equilibrium. The physiological concentration of mucins in human saliva is not sufficiently high to show gelification, however, this property can be displayed at higher concentrations. Sugar derivatives and animal mucins have been studied, either isolated or at mixtures for the development of salivary substitutes, these studies showed that mucin extracted from bovine submaxillary glands is best suited to accomplish the desirable parameters for a salivary substitute.

Key words: saliva, mucin, rheology, salivary substitutes, viscosity, elasticity, lubrication.

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

La producción de fluidos dentro del cuerpo humano es infinitamente compleja, ya que ellos están destinados a revestir una gran cantidad de órganos y tejidos y a ejercer además, una amplia gama de roles funcionales en las zonas corporales a los cuales son vertidos. Dentro de este contexto, la cavidad bucal no es la excepción, pues en ella se encuentra la saliva, fluido esencial para la vida humana. Es una mezcla de componentes que lubrica todas las superficies duras y blandas de la mucosa bucal; la lubricación salival conlleva a que la persona tenga la boca húmeda permanentemente.

La saliva es formada por órganos que en su conjunto se conocen como glándulas salivales. A su vez, dichas glándulas se clasifican en mayores y menores. Las glándulas salivales mayores son aquellas que poseen conductos excretores bien definidos que en número de 3 se localizan bilateralmente en zonas definidas dentro de la cavidad bucal; la glándula Parótida, la Submaxilar o Submandibular y la Sublingual, estas tres en su conjunto son responsables del 93% de la secreción total. Así mismo, numerosas glándulas salivales menores repartidas a lo largo de toda la mucosa de la boca, secretan el 7% restante.⁽¹⁾

En realidad, lo que se conoce como fluido salival es un conjunto intrincado de elementos orgánicos e inorgánicos que coalescen de los cuales el agua es el constituyente mayoritario. Entre los componentes orgánicos e inorgánicos presentes en la saliva, las proteínas, el calcio y el fosfato se han encontrado en cantidades importantes. La saliva despliega un gran número de funciones dependientes de iones específicos y macromoléculas de naturaleza proteica que luego de un proceso de maduración adecuado, son transportadas mediante exocitosis desde la célula secretora hacia el lumen glandular para finalmente ser secretada hacia la cavidad bucal, coadyuvando a mantener la boca lubricada.⁽²⁾

En esta revisión, se destacarán las funciones del fluido salival vinculadas a la reología, entre las cuales cabe mencionar: la lubricación, la viscoelasticidad y la viscosidad, que son atribuidas a las glicoproteínas ricas en prolina y glicoproteínas de tipo mucinas. Por otra parte, se analizarán las implicaciones de estas propiedades en los sustitutos salivales.

LAS MUCINAS. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS.

Las *mucinas* son proteínas macromoleculares que constan de un núcleo central polipeptídico lineal (100 a 250 KDa) denominado apomucina y de una porción glicosilada, producto de glicosilación del polipéptido. El polipéptido lineal o apomucina se encuentra en la naturaleza altamente glicosilado⁽³⁾ y se caracteriza por la presencia de cadenas laterales de carbohidratos entre los que se pueden citar N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina (GalNAc), galactosa, fucosa, manosa y ácido N-acetilneuramínico unidos covalentemente, mediante enlaces O-glicosídicos a residuos de serina y treonina de la proteína que conforman más de un tercio del contenido de aminoácidos de la región glicosilada.⁽⁴⁾ Las regiones glicosiladas del polipéptido se disponen mediante repeticiones en tándem. Las regiones no glicosiladas de apomucina no se disponen mediante repeticiones en tándem, tienen escasos residuos de serina y treonina, y están enriquecidas en cisteína.⁽³⁾ Las moléculas de mucina se asocian en arreglos superiores a 100 unidades homólogas con una masa relativa (M_r) total de 10^6 KDa. (Fig. 1)

La función de las repeticiones en tándem en las regiones glicosiladas ha sido ampliamente estudiada en la mucina submaxilar de ovino, una glicoproteína que tiene disacáridos simples de ácido siálico y GalNAc en su región glicosilada.⁽³⁾ En algunos estudios de dispersión de luz y dicroísmo circular en mucina salival ovina nativa y tratada con glicosidasa se ha visto que los residuos GalNAc unidos a treonina sobre el núcleo peptídico son esenciales en el mantenimiento de una conformación altamente expandida aunque flexible en el interior de la macromolécula;⁽⁵⁾ la remoción de todos los disacáridos condujo a la desnaturalización de la mucina. Los oligosacáridos determinan un incremento de 20 a 25 veces del volumen en solución de una mucina glicosilada comparado al núcleo peptídico no glicosilado, lo que le confiere las propiedades viscoelásticas características de los geles mucosos.⁽⁶⁾

Se ha demostrado que las mucinas salivales humanas conforman 2 familias de glicoproteínas, MG1 y MG2 que se diferencian por sus masas moleculares. La familia MG1 tiene una masa molecular muy alta [$(2-40) \times 10^3$ kDa] y es el producto oligomérico del gen *MUC5B*. En contraste, la familia MG2 tiene una estructura

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

monomérica con una masa molecular mucho menor (120–150kDa) la cual es producto del gen *MUC7*.⁽⁷⁾ No obstante, hallazgos genéticos recientes basados en técnicas de biología molecular y en la filogenia de esta familias de proteínas, han puesto en evidencia discrepancias relativas a la clasificación de las distintas glicoproteínas tipo mucinas, lo cual no ha permitido un consenso entre la comunidad científica mundial relativa a una terminología unánime para estas entidades.⁽⁸⁾

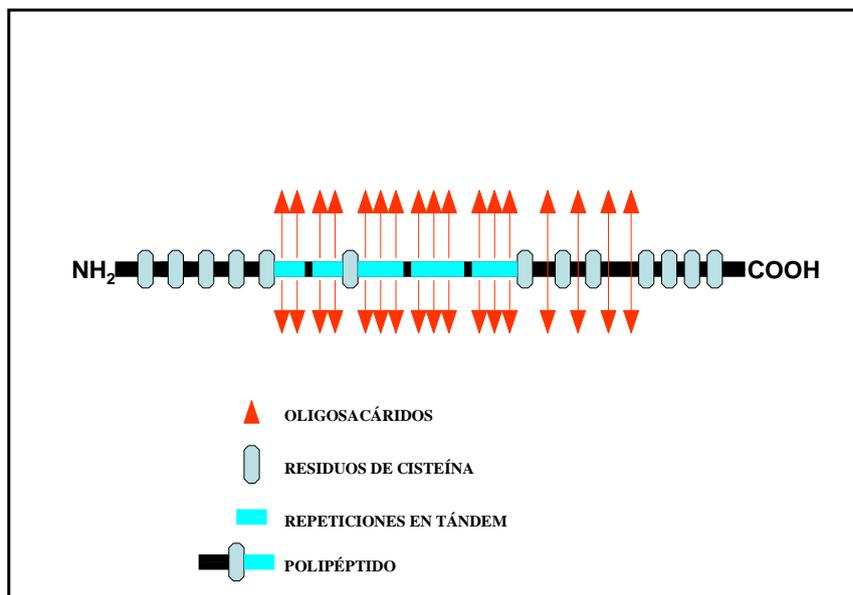


Figura 1: Dibujo esquemático de una molécula de mucina

Otro rasgo estructural importante de las glicoproteínas, es la presencia de regiones ricas en cisteína de la proteína involucradas en la polimerización, se ha sustanciado que la mucina queda disociada en sus unidades glicopeptídicas constituyentes (300–500 kDa denominadas dominios T), una vez que ha sido tratada con enzimas proteolíticas que atacan solamente las regiones ricas en cisteína del polipéptido, o agentes reductores, tales como el ditioneitol, que rompe los enlaces disulfuro inter-monoméricos e impide las interacciones moleculares no covalentes entre regiones glicosiladas adyacentes.⁽⁷⁾ Las moléculas de mucina disociadas, una vez tratadas como se describió anteriormente, no pueden agruparse para formar oligómeros, y pierden la capacidad de formar gel y de conferir viscosidad a la solución.⁽³⁾

MODELOS DE POLIMERIZACION Y GELIFICACION DE LA MUCINA

Las moléculas de mucina en solución pueden entrecruzarse para formar agregados vía puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, así como por fuerzas de Van der Waals. El incremento en el número de entrecruzamientos conduce a la formación de un gel, en el que un número suficiente de moléculas poliméricas estén conectados para formar una red extendida glicoproteica. La cantidad de moléculas poliméricas presentes en una solución viscosa, es el factor determinante para que la solución pase a un estado de transición que le permita gelificarse, o por el contrario, permanezca fluida. En la transición sol-gel, la solución de moléculas poliméricas ramificadas o lineales exhibe una transición que va desde un fluido con una viscosidad finita y elasticidad cero a un gel con viscosidad infinita y elasticidad finita.⁽³⁾

Por otra parte, la idea de que la gelificación de la mucina es consecuencia de sus propiedades de entramado ha sido ampliamente discutida.^(9,10) Las soluciones poliméricas de alto peso molecular son consideradas diluidas si las cadenas individuales no se solapan y semi-diluidas cuando las cadenas individuales están por debajo de un punto de solapamiento (abreviado c^*), que según Leiva y col.⁽¹¹⁾ es la concentración limitante entre los regímenes diluido y semi-diluido, a partir de la cual las cadenas comienzan a solaparse.⁽¹¹⁾ A concentraciones mayores que c^* la solución exhibe además, comportamiento viscoelástico debido a la presencia de entramados transitorios. Sin embargo, estos polímeros fluirán

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

eventualmente cuando sean sometidos a fuerzas externas de suficiente intensidad. Si el polímero puede formar interacciones no covalentes, las soluciones concentradas y semi-diluidas desplegarán además comportamiento reológico característico de agregados y eventualmente de gelificación reversible. Debido a que la mucina tiene un peso molecular muy elevado, su punto de solapamiento es muy bajo, y las soluciones de mucina gástrica porcina, a concentraciones de 2-4 mg/ml ya están en el régimen semi-diluido, en el cual las cadenas de polímeros están solapadas. Así por ejemplo, a concentraciones mucho más altas que son las que típicamente se encuentran *in vivo* en la secreción gástrica porcina (>20 mg/ml) los monómeros extensamente entramados se comportarán en forma similar a un gel transitorio. Un contacto cercano entre las moléculas vecinas aumenta enormemente la formación de interacciones no covalentes que estabilizan la red entramada y le dan a ésta las características reológicas de un gel débil, reversible.⁽³⁾

La estructura y dinámica de las mucinas en solución y geles ha sido investigada por dispersión de luz, sedimentación de equilibrio, y cromatografía de exclusión molecular para determinar su tamaño y peso molecular; por microscopía electrónica para estudiar la forma, tamaño y morfología; y por mediciones dinámicas y de viscosidad (técnicas reológicas) para determinar las propiedades viscoelásticas de la mucina y geles mucosos.⁽³⁾ La microscopía confocal de recuperación de fluorescencia después de fotoblanqueamiento (confocal-FRAP), constituye una herramienta poderosa para investigar las interacciones moleculares, entramados y formaciones de geles en soluciones concentradas y diluidas de mucina MUC5B purificada marcada con fluorocromos (isotiocianato de fluoresceína FITC) y sus fragmentos derivados.⁽⁷⁾ Es importante reconocer, al comparar las mediciones obtenidas a través de los distintos métodos, que los resultados dependen fuertemente de cómo fue purificado el material.⁽³⁾ Adicionalmente, cabe destacar la introducción de un nuevo instrumento, el Neva Meter, con el cual se han hecho mediciones de la relajación de hilado (spinnbarkeit) del fluido salival.⁽¹²⁾

GELES MUCOSOS

Las secreciones que cubren las superficies de los tractos respiratorio, gastrointestinal y urogenital, tienen una concentración de mucina que les permite a éstas, encontrarse en forma de geles mucosos altamente hidratados en condiciones naturales. El comportamiento de hidratación de las secreciones que tienen mucina como parte de sus componentes, es relevante a sus funciones fisiológicas.⁽¹³⁾ En la saliva humana, la concentración fisiológica de mucina es tal que no permite la formación de un gel mucoso *in vivo*; sin embargo, a concentraciones mayores sí podría formarse dicho gel.

Los geles cuyas moléculas son capaces de realizar interacciones electrostáticas se pueden expandir en más de mil veces su volumen original en presencia del agua. El comportamiento de expansión varía desde ninguna expansión a expandirse enormemente dependiendo de la fuente de la secreción mucosa, el tiempo de aislamiento, y el método de preparación de la mucina. Dado que las mucinas son polianiones, sus expansiones están gobernadas por el equilibrio de Donnan, en el cual, los movimientos de iones (incluyendo H⁺), proteínas solubles y agua a lo largo del tejido mucoso, así como la cantidad de proteínas solubles e iones dentro de la secreción mucosa secretada determinan la hidratación de la mucina, y en consecuencia, sus propiedades reológicas. Tal equilibrio surge a partir de los efectos competitivos de repulsiones electrostáticas de cargas negativas sobre el polianión e interacciones atractivas de cationes libres con cargas negativas. Este fenómeno explica la dependencia del grado y tasa de variación del pH y la fuerza iónica.⁽¹⁴⁾

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE LAS SOLUCIONES DE MUCINA

Las propiedades reológicas de una solución polimérica tienen como parámetros característicos a la viscosidad y la elasticidad. La viscosidad de las soluciones de mucina está relacionada a las propiedades funcionales y cambios con la variación de su peso molecular y su estado de agregación.⁽³⁾ El fenómeno de agregación entre mucinas y otras glicoproteínas salivales repercute en importantes funciones biológicas, tales como la defensa contra microorganismos cariogénicos.⁽¹⁵⁾ La secreción mucosa de individuos resistentes a caries tiene una viscosidad 1,4 veces más baja, capacidad de difusión de glucosa 1,3 veces

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

menor y el contenido de lípidos unidos es inferior que en la secreción de individuos susceptibles a caries; lo que obedece a variaciones en el tamaño molecular de las mucinas en individuos resistentes a caries.⁽¹⁶⁾

La viscosidad es el parámetro básico usado para caracterizar a los fluidos, en este contexto, la mucina le confiere a la saliva características de un fluido no-Newtoniano, o sea, su viscosidad es fuertemente dependiente de la tasa de desplazamiento, como lo han revelado varios autores usando diversos viscosímetros a tasas de desplazamiento bien definidas. Por otro lado, en el caso de los geles viscoelásticos, las propiedades mecánicas de un gel viscoelástico débil, a diferencia de un fluido, están caracterizadas por 2 parámetros, el módulo elástico (G') que refleja el comportamiento similar al de un sólido del gel y el módulo viscoso (G'') que refleja el comportamiento similar al de un líquido del gel.⁽¹⁷⁾ Ambos parámetros miden igualmente características de sólido y de líquido que coexisten simultáneamente en los fluidos viscoelásticos.

GLICOPROTEÍNAS RICAS EN PROLINA

Las glicoproteínas ricas en prolina, tienen una masa relativa de 89.000 daltons en la saliva parotídea de algunos individuos. Las glicoproteínas ricas en prolina presentan una región proteica y una región glicosilada. La región proteica desnuda, a nivel del extremo amino terminal contiene secuencias repetidas de prolina, glicina y ácido glutámico/glutamina, lo cual es un rasgo característico de estas proteínas. La región glicosilada presenta azúcares, de los cuales la fucosa, es el que se encuentra en mayor proporción. Las glicoproteínas ricas en prolina interactúan con la superficie dentaria por su extremo amino terminal, y dejan expuesto su extremo carboxilo terminal; de esta manera, interactúan con las bacterias, como por ejemplo, la bacteria periodontopatígena *Fusobacterium nucleatum*, modulando la adhesión bacteriana así como también la deposición de cristales de calcio y fosfato en la matriz del esmalte.⁽¹⁸⁾

LA SALIVA Y SUS PROPIEDADES REOLÓGICAS.

La saliva humana posee diversas propiedades reológicas (físico-químicas), entre las que se encuentran alta viscosidad, elasticidad y adhesividad, debidas a las características únicas químicas y estructurales de las mucinas⁽¹⁹⁾. La acción lubricante de la saliva es fundamental para la salud bucal. Facilita los movimientos de la lengua y de los labios al tragar y comer y es importante para articular las palabras con claridad. La eficacia de la saliva como lubricante dependerá de su viscosidad⁽²⁰⁾.

Numerosos investigadores han evaluado las propiedades reológicas de la saliva humana. Van der Reijden y col.⁽²¹⁾ estudiaron las propiedades reológicas de la saliva total humana no estimulada y la saliva glandular humana (parotídea, submandibular, sublingual y palatina), en individuos sanos, encontrándose una mayor viscosidad y elasticidad en la saliva de origen sublingual, valores intermedios de viscosidad y elasticidad en la saliva humana total y submaxilar y finalmente la saliva parotídea resultó ser menos viscosa y elástica. La eficacia de la saliva como lubricante depende de su viscosidad y el cambio de la viscosidad con la tasa de desplazamiento. Abundando en lo expuesto, Gans y col.⁽²²⁾ recalcan que la viscosidad de la saliva submandibular y sublingual es 50-100% mayor que la de las secreciones parotídeas. Estos autores señalan que cuando el fluido salival es continuo (por ejemplo ante la estimulación gustativa y masticatoria), hay que tener en cuenta la vida media de la saliva en la boca, y que la lubricación tiene poca relación con la viscosidad. Por otra parte, autores como Waterman y col.⁽²⁰⁾ han demostrado *in vitro* que la elasticidad en la interfase saliva-aire aumenta con el tiempo, sin embargo, aún no se sabe si el tiempo mínimo requerido para este efecto (5-10 min) es relevante *in vivo*, donde se produce una constante renovación de los componentes salivales. Todas estas consideraciones demuestran que el estado actual de los conocimientos en relación con la viscosidad salival dista mucho de ser completo.

Resulta muy interesante el hecho de que la viscosidad de la saliva no estimulada varía significativamente en muestras de saliva recolectadas a partir de una misma persona en diferentes horas del día y bajo condiciones estandarizadas. La posible explicación a esta variación, más allá de la influencia de la tasa de flujo salival, sería la fluctuación de la composición salival en las diferentes muestras. Se ha asumido que la viscosidad como propiedad reológica de la saliva humana está determinada por las glicoproteínas salivales, principalmente las glicoproteínas tipo mucinas de alto peso molecular (MG1), las cuales son secretadas por las glándulas sublinguales, submaxilares y palatinas. Las diferencias de viscoelasticidad entre

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

la saliva sublingual y submandibular, obedecen a las especies de mucina presentes en cada secreción y no a las diferencias en su concentración. Pareciera que las mucinas sublinguales poseen mayor elasticidad que las submaxilares y palatinas. La variación observada en la viscosidad de la saliva no estimulada en el referido trabajo, podría ser un indicador de cambios en la secreción de glicoproteínas salivales. Por el contrario, fue muy llamativo que la saliva estimulada permaneciese viscosimétricamente estable a lo largo de todo un día. La explicación para esto podría ser el incremento de la secreción parotídea durante la estimulación masticatoria. Por otra parte, las mucinas salivales, que se piensa poseen propiedades de lubricación, son secretadas principalmente por las glándulas palatinas, submaxilares y sublinguales. Esto le da mayor apoyo a la teoría que asocia las glicoproteínas salivales a la viscosidad salival.⁽²³⁾

Dado que MUC5B es el componente de alto peso molecular encontrado en mayor proporción en la saliva, cabría esperar que ella por sí sola reproduzca las características de la red encontrada en un gel mucoso. Sin embargo, las evidencias muestran que las propiedades físicas de la saliva no son reproducidas en una solución de MUC5B purificada. En la saliva fresca, los iones, lípidos, mucina MUC7 y otras proteínas pueden formar entrecruzamientos dentro de la red de MUC5B y/o pueden participar en la formación de ensamblados de mayor extensión que aquellos que se forman después de la purificación de MUC5B. Sin embargo, se requieren más estudios para dilucidar estas interacciones⁽⁷⁾.

Además de las propiedades reológicas, la saliva exhibe propiedades tribológicas. La tribología está asociada a la fricción, humectación y lubricación de superficies interactuantes en movimiento relativo.⁽²⁴⁾ Una función importante de la saliva es servir como lubricante entre los tejidos blandos (mucosos) y duros (esmalte dental).⁽²⁵⁾ La presencia de la saliva puede ayudar a disminuir el desgaste dentario, reduciendo la fricción de la mucosa oral y las superficies linguales contra las estructuras dentales.⁽²⁶⁾ Berg y col.⁽²⁵⁾ midieron por primera vez fuerzas normales y laterales entre películas salivales adsorbidas mediante microscopía de fuerza atómica de sondas coloidales. La presencia de películas salivales entre dos superficies duras, a través de su propiedad lubricante, reduce el coeficiente de fricción por un factor de 20. Esta reducción en la fricción fue consistente con la naturaleza repulsiva de las fuerzas normales que actúan entre las películas salivales.

La reducción en el coeficiente de fricción también fue investigada⁽²⁵⁾ durante la oclusión mandibular clínica donde se generan fuerzas normales (Fig. 2) y se concluyó que en estas condiciones, también se mantienen las propiedades lubricantes. Dado que las glicoproteínas salivales juegan un papel en la lubricación, es factible postular que estas entidades glicoproteicas funcionan en las superficies masticatorias manteniendo capas estables de moléculas de agua que separan a las superficies dentales en movimiento. La caracterización *in vitro* de la lubricación de la saliva humana por medio de la comparación estadística de los valores promedio de viscosidad de saliva submandibular-sublingual y saliva parotídea demostraron una viscosidad estadísticamente mayor de la saliva submandibular-sublingual.⁽²⁴⁾ Por otra parte, Gohara y col.⁽¹²⁾ demostraron una correlación significativa entre la viscosidad y la capacidad de la saliva humana de formar hilos (spinnbarkeit).

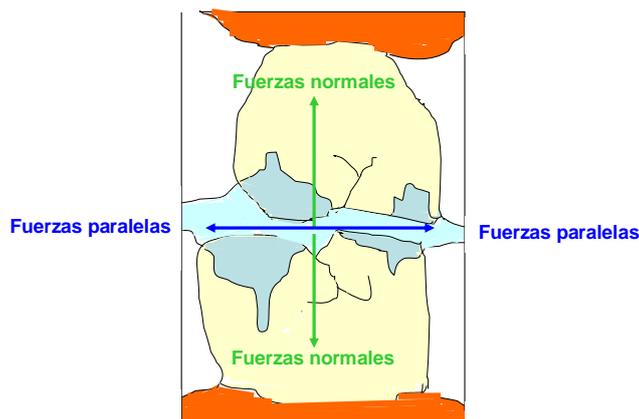


Fig. 2: Fuerzas que se generan durante la oclusión mandibular clínica

DISFUNCIONES EN CAVIDAD BUCAL Y SU INFLUENCIA EN EL CONTENIDO DE MUCINA

Los pacientes afectados por cáncer de cabeza y cuello; al ser sometidos a ciclos de quimioterapia y radioterapia presentan como efecto secundario al tratamiento, el empobrecimiento de la secreción salival a consecuencia de la hipofunción de las glándulas salivales, por cuanto uno de los efectos de las radiaciones que se emplean para combatir neoplasias malignas es la muerte de células de las glándulas salivales, lo que trae como consecuencia, hipofunción salival, con la consecuente hiposecreción, disminución del contenido de mucina salival y sensación de boca seca⁽²⁷⁾. Cuando la secreción salival no puede ser estimulada, es considerado el uso de agentes humectantes o sustitutos salivales⁽²⁸⁾.

Por el contrario, mientras más viscosa sea la saliva de un sujeto, es más probable que éste sufra de halitosis, lo cual se explica por la presencia de mayor cantidad de mucina en la saliva. Las diferencias en las propiedades reológicas de la saliva son causadas principalmente por las propiedades estructurales intrínsecas de la mucina y no por su concentración, sin embargo, un aumento de la concentración de mucina favorece el acúmulo de materia orgánica y de microorganismos de la boca y la orofaringe, predisponiendo a la formación de una biopelícula más densa y de placa dental. La anaerobiosis puede ocurrir en una biopelícula de tan solo 0.2 mm de espesor, razón por la cual, una viscosidad aumentada puede favorecer la producción de compuestos sulfurados volátiles por parte de bacterias anaerobias proteolíticas.⁽²⁹⁾

SUSTITUTOS SALIVALES

Un sustituto salival reológicamente adecuado debe ajustarse a una viscosidad promedio entre 1,5 y 3,0 mPa.s, una elasticidad entre 0,1 y 1,0 mPa.s y una frecuencia de $1,5 \text{ s}^{-1}$; ⁽³⁰⁾ tales valores están dentro del rango de viscoelasticidad de la saliva humana total. Van der Reijden y col. evaluaron, que polisacáridos tales como hidroxietilcelulosa, ácido alginico, entre otros, utilizados para el desarrollo de sustitutos salivales, no cumplieron con los criterios antes descritos ya que no desplegaron comportamiento elástico a una baja viscosidad; sin embargo, la carboximetilcelulosa (CMC) exhibió un comportamiento reológico intermedio. Por otra parte, la mucina gástrica porcina no demostró elasticidad en ninguna de las concentraciones evaluadas para un sustituto salival. Es deseable que las propiedades viscoelásticas de un sustituto salival sean independientes de cambios en el pH; idealmente, los nuevos sustitutos salivales deberían poseer además de excelentes propiedades reológicas, buena adhesividad a los tejidos blandos bucales, la cual podría optimizarse mediante la adición de polímeros de naturaleza glucídica que garantizarían su retención al medio bucal, tal unión es esencial en el mejoramiento de la lubricación y protección de la mucosa bucal. De todos los polisacáridos estudiados el escleroglucano puede adecuarse a las exigencias requeridas en un sustituto salival.⁽³⁰⁾

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

Por otra parte, el análisis de soluciones de mucina gástrica porcina, mucina submaxilar bovina, albúmina sérica bovina, combinaciones de ellas, así como su comparación con sustitutos salivales, llevó a concluir que de todos los sustitutos salivales comerciales y soluciones glicoproteicas estudiadas, las soluciones basadas en una combinación de albúmina sérica bovina y mucina submaxilar de bovino comparten propiedades similares a la saliva humana desde el punto de vista reológico.⁽³¹⁾

A pesar de que los sustitutos salivales a base de mucina son los que han aliviado en mayor grado las complicaciones derivadas del tratamiento de neoplasias malignas comparados con sustitutos salivales a base de carboximetilcelulosa (CMC), estos productos no son aceptados por algunos pacientes debido a la presencia de mucina proveniente de tejidos animales en su composición.⁽³²⁾ Cabe destacar, que al tratar estas patologías, no solo están implicados factores relativos a la eficacia de los sustitutos salivales, pues también existen factores emotivos inherentes al paciente que pueden complicar el tratamiento.

Kelly y col.⁽³³⁾ encontraron que la incorporación óptima de aceite vegetal en la formulación de un sustituto salival podría causar una disminución deseable en la fricción observada del producto. Li y Zhou⁽³⁴⁾ realizaron un estudio de desgaste dentario *in vitro* en el que demostraron que la saliva artificial puede tener efectos lubricantes y de enfriamiento durante el proceso de desgaste dental y que el riesgo de quemadura de los tejidos duros puede ser ampliamente reducido en presencia de saliva artificial en comparación con una condición de sequedad.

La búsqueda de sustitutos salivales ha conducido a otros autores, como Hatton y col.⁽³⁵⁾, a establecer aseveraciones algo distintas, más orientadas a la protección de tejidos dentarios: a) La capacidad de lubricación de la saliva se ha correlacionado intuitivamente con la viscosidad de la secreción salival. b) Bajo este supuesto, un sustituto salival debería ser clínicamente eficaz para prevenir el desgaste, si reproduce fielmente los parámetros reológicos de la saliva. c) Aun cuando este concepto podría ser teleológicamente satisfactorio, pocas investigaciones se han encaminado a la cuantificación de la lubricación salival: si la superficie del diente estuviera lubricada solamente por mecanismos hidrodinámicos, la fricción en el sistema se podría representar por la raíz cuadrada de la viscosidad. d) Los resultados de estos autores demuestran que existe una correlación positiva muy pequeña entre la viscosidad aparente de la solución y su capacidad relativa de lubricación. Por ello, la lubricación de la saliva ha de basarse, al menos en parte, en otros mecanismos, como la lubricación de límites (como en el caso de la lubricación del cartílago hialino), que implica la unión de moléculas lubricantes con una interfase; gran parte de las moléculas lubricantes son capaces de interactuar con el medio y atrapar agua en forma de gel o interactuar con otras moléculas que lubriquen una interfase opuesta. e) Las glicoproteínas salivales serían candidatas ideales a desempeñar este papel, ya que pueden unirse selectivamente e interactuar en la superficie dentaria; la lubricación de las interfases dentarias dependería de interacciones específicas entre estas entidades moleculares y no de la viscosidad del líquido *per se*. f) Uno de los principales constituyentes de la saliva parotídea humana, una glucoproteína rica en prolina (PRG), es capaz de lubricar la interfase diente-vidrio, siendo esta capacidad potenciada por la albúmina sérica; estos hallazgos sugieren que las secreciones parotídeas pueden desempeñar mayor papel en la lubricación del que se pensaba⁽³⁵⁾.

Son apreciables los esfuerzos que se han realizado en la Facultad de Odontología de la U.C.V a fin de obtener sustitutos salivales que permitan brindar bienestar a pacientes con xerostomía debida a diversas causas; entre las que se pueden citar el Síndrome de Sjögren, la radioterapia y enfermedades autoinmunes. Basados en estudios previos^(36,37,38,39,40) se inició un Proyecto, a objeto de estudiar la obtención de un extracto mucoide a partir de glándulas submandibulares de bovino y analizar si un preparado en base a este componente ejercía algún efecto terapéutico sobre pacientes con xerostomía. Los resultados indicaron una mejoría en la sensación de resequedad bucal, sin embargo este efecto fue de muy corta duración.⁽⁴¹⁾ Subsecuentemente, se realizaron estudios *in vitro* para evaluar las propiedades de un extracto a base de mucina de glándulas submandibulares de bovino que incluyeron análisis de la viscosidad del sustituto, su dependencia del pH, la temperatura y la concentración de proteína.⁽⁴²⁾ Se observó que la viscosidad del sustituto y su dependencia del pH y temperatura se ajustaba a parámetros aceptables, sin embargo, se registró una disminución en la concentración de proteínas, conservándose las

proteínas ligadas a la viscosidad. En un estudio reciente, siguiendo con la línea de trabajos anteriores, se evaluó un método de obtención de glicoproteínas⁽⁴¹⁾ a partir de glándulas submaxilares de bovino para obtener un extracto mucínico destinado a la elaboración de un sustituto salival, con el fin de conocer el tipo y cantidad de proteínas presentes y su asociación con la viscosidad. Se evidenció que a pesar de que el rendimiento proteico se empobrece a medida que se avanza en el proceso de purificación, la viscosidad aparente del extracto de glándulas submandibulares de bovino aumenta, lo cual sugiere permanencia de las glicoproteínas que confieren viscosidad durante todas las fases de procesamiento del extracto glandular.⁽⁴³⁾

REFERENCIAS:

1. Llena-Puy, C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: E449-55.
2. Gorr, SU; Venkatesh, SG; y Darling, DS. Parotid Secretory Granules: Crossroads of Secretory Pathways and Protein Storage. *J Dent Res* 2005; 84: 500-509.
3. Bansil, R; Stanley, E; y Lamont, TJ. Mucin Biophysics. *Annu. Rev. Physiol.* 1995; 57: 635-57.
4. Strous, GJ; y Dekker, J. Mucin-Type Glycoproteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1992; 27: 57-92.
5. Gerken, TA; Butenhof, KJ; y Shogren, R. Effects of Glycosilation on the Conformation and Dynamics of O-Linked Glycoproteins: Carbon-13 NMR Studies of Ovine Submaxillary Mucin. *Biochemistry* 1989; 28:5536-5543.
6. Shogren, R.; Gerken, TA; y Jentoft, N: Role of Glycosilation on the Conformation and Chain Dimensions of O-Linked Glycoproteins: Light-Scattering Studies of Ovine Submaxillary Mucin. *Biochemistry* 1989; 28:5525-5536.
7. Raynal, BDE; Hardingham, TE; Thornton, TJ; y Sheehan, JK. Concentrated solutions of salivary MUC5B mucin do not replicate the gel-forming properties of saliva. *Biochem. J.* 2002; 362:289-296.
- 8 Dekker, J; Rossen, JWA; Büller, HA; y Alexandra, WC. The MUC family: an obituary. *Trends Biochem. Sci.* 2002; 27: 126-131.
9. Carlstedt, I; Sheehan, JK; Corfield, AP; y Gallagher, JT. Mucus glycoproteins: a gel of a problem. *Essays Biochem.* 1985; 20:40-76.
10. Verdugo., P.: Polymer gel phase transition in condensation-decondensation of secretory products. In *responsive gels: Volume transitions II*. Berlín Springer-Verlag . 1993.
11. Leiva, A; Gargallo, L; González, A; y Radic, C. Poly(tetrahydropyranyl-2-methyl methacrylate): Comparative study in solution and at the air/water interface. *Journal of Colloid and Interface Science.* 2005; 292: 397-402.
12. Gohara, K; Ansai, T; Koseki, T; Ishikawa, M; Kakinoki, Y; Shibuya, K; Nishihara, T; y Takehara, T. A new automatic device for measuring the spinnbarkeit of saliva: the Neva Meter. *Journal of Dentistry* 2004; 32: 335-338.
13. Verdugo, P. Goblet cells secretion and mucogenesis. *Annu. Rev. Physiol.* 1990; 52: 157-176
14. Tam, PY; y Verdugo, P. Control of mucus hydration as a Donnan equilibrium process. *Nature* 1981; 292: 340-42.
15. Rui V, Lobo MJC, Duarte JAR, Ferrer-Correia AJ, Domingues PM, y Amado FML. Analysis of salivary peptides using HPLC-electrospray mass spectrometry. *Biomedical Chromatography* 2004; 18: 570-575.
16. Slomiany, BN; Murty, VLN; Mandel, ID; Zalesna, G; y Slomiany, A. Physico-chemical characteristics of mucus glycoproteins and lipids of the human oral mucosal mucus coat in relation to caries susceptibility. *Archs oral Biol.* 1989; 34: 229-237.
17. Sellers, LA; Allen, A; Morris, ER; y RossMurphy, SB. Mechanical characterization and properties of gastro-intestinal mucus gel. *Biorheology* 1987; 24: 615-23.
18. Gillece-Castro BL, Prakobphol A, Burlingame AL, Leffler H y Fisher SJ. Structure and bacterial receptor activity of a human salivary proline- rich glycoprotein. *J. Biol. Chem* 1991; 266:17358-17368.
19. Veerman, ECI; Valentijn-Benz, M; Nieuw-Amerongen, AV. Viscosity of human salivary mucins: effect of pH and ionic strength and role of sialic acid. *J Biol Buccale* 1989; 17: 297-306.
20. Waterman HA, Blom C, Holterman HJ, Gravenmade EJ, Mellema J. Rheological properties of human saliva. *Archs Oral Biol* 1988; 33: 589-96.

ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA SALIVA

21. Van der Reijden, WA; Veerman, ECI; y Nieuw Amerongen, A.V. Shear rate dependent viscoelastic behavior of human glandular salivas. *Biorheology* 1993; 30:141-152.
22. Gans RF, Watson GE, Tabak LA. A new assessment in vitro of human salivary lubrication using a compliant substrate. *Archs Oral Biol* 1990; 35: 487-92.
23. Panu, JFR; y Jukka, HM. Viscosity of whole saliva. *Acta Odontologica Scandinavica* 1998; 56: 210 – 214.
24. Aguirre, A; Mendoza, B; Levine, MJ; Hatton, MN; y Douglas, WH. *In Vitro* Characterization of Human Salivary Lubrication. *Archs oral Biol*. 1989; 34: 675-677.
25. Berg, ICH, Rutland, MW, y Arnebrant, T. Lubricating properties of the initial salivary pellicle – an AFM Study. *Biofouling* 2003; 19: 365–369.
26. Zhou, ZR y Zheng, J. Oral tribology. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers -- Part J -- Journal of Engineering Tribology* 2006; 220: 739-754.
27. Mac Manus, MP; Ryan, G; Lau, E; Wirth y Hicks, RJ. Positron emission tomography of stage IV mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma confined to the four major salivary glands. *Australasian Radiology*. 2007; 51: 68–70.
28. Davies AN. A comparison of artificial saliva and chewing gum in the management of xerostomia in patients with advanced cancer. *Palliative Medicine* 2000; 14: 197–203.
29. Falcão, DP. Avaliação da Viscosidade Salivar e sua relação com a Halitose. 2005, obtenible en: <http://www.saliva.com.br/saliva/apessoais/cietificos/artsal/dissertacao.pdf> [consulta: 3 Julio 2007]
30. Van der Reijden, WA; Veerman, ECI; y Nieuw Amerongen, AV. Rheological Properties of Commercially Available Polysaccharides with Potencial Use in Saliva Substitutes. *Biorheology* 1994; 31: 631-642.
31. Mellema, J; Holterman, HJ; Waterman, HA; y Blom, C. Rheological Aspects of Mucin-Containing Solutions and Saliva Substitutes. *Biorheology* 1992; 29: 231-249.
32. Shahdad SA, Taylor C, Barclay SC, Steen IN, y Preshaw PM. A double-blind, crossover study of Biotène Oralbalance and BioXtra systems as salivary substitutes in patients with post-radiotherapy xerostomia. *European Journal of Cancer Care* 2005; 14: 319–326.
33. Kelly HM, Deasy PB, Busquet M, y Torrance, AA. Bioadhesive, rheological, lubricant and other aspects of an oral gel formulation intended for the treatment of xerostomia. *Int. J. Pharm* 2004; 278: 391–406.
34. Li, H y Zhou, ZR. Wear behaviour of human teeth in dry and artificial saliva conditions. *Wear* 2002; 249: 980–984.
35. Hatton MN, Levine MJ, Margarone JE, Aguirre A. Lubrication and viscosity features of human saliva and commercially available saliva substitutes. *J Oral Maxillofac Surg* 1987; 45: 496-9.
36. Draus, FJ; y Leung, SW. A bovine gland extract for calculus formation. *Oral Surg*. 1960; 13:224-228.
37. Katzman, RL; y Eilar, FH. Physical and chemical studies glycoproteins. Isolation and characterization of glycoproteins from porcine submaxillary gland. *Archs Biochem Biophys*. 1966;117:623-627.
38. Pigman, W; y Tettamanzi, G. In *Biochemistry of glycoproteins and related substances*. 2nd ed. New York S. Karger. 1968.
39. Apostolopoulos, A.X.: *Studies on human salivary muco-proteins*. P.h.D. Thesis. University of Rochester. Rochester N.Y. 1964.
40. Rolla, G; y Jonson, J. A glycoprotein component from human sublingual-submaxillary saliva. *Caries Res*. 1968; 2:306-316.
41. Escalona, L; Perrone, M; Soto-Luna, M; y Acevedo, AM: Preparación de una solución proteica de mucina para ser utilizada en pacientes con xerostomía (Venezuela). *Acta Odont Venez*. 1989; 27:55-59.
42. Herrera, M; Acevedo, AM; Escalona, LA; Soto-Luna, M; Lalaguna, F. Variación de la viscosidad en un sustituto salival en base a mucina por cambios en el pH y la concentración de proteínas. *Acta Odont Venez*. 1995; 34:15-77.
43. Herrera M, Lalaguna F, Infante Y, y Acevedo AM. Evaluación de un método de extracción de glicoproteína de glándulas submaxilares de bovino. *Acta Odont Venez*. 2008; 46: en prensa.