

Ferrary, Teresita; Nicolosi, Liliana Noemí; Biscoglio, Mirtha. (2010). *Apuesta al potencial de las herramientas diagnósticas modernas*. En: Encrucijadas, no. 49. Universidad de Buenos Aires. Disponible en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad de Buenos Aires: <http://repositorioubi.sisbi.uba.ar>

Alcances del estudio de las proteínas salivales

Apuesta al potencial de las herramientas diagnósticas modernas

**Por Teresita Ferrary [1]
Liliana Noemí Nicolosi [2]
Mirtha Biscoglio [3]**

[1]Teresita Ferrary Odontóloga. Especialista en Odontopediatría, Profesora Adjunta. Cátedra de Patología y Clínica Bucodental. Facultad de Odontología, UBA.

[2]Liliana Noemí Nicolosi Médica. Profesora Titular. Cátedra de Patología y Clínica Bucodental. Facultad de Odontología, UBA.

[3]Mirtha Biscoglio Bioquímica. Doctora en Bioquímica. Profesora Titular Consulta. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.

La importancia de las posibilidades diagnósticas de la saliva han sido reconocidas desde largo tiempo atrás. Existen evidencias que ya la señalan como la herramienta diagnóstica con ventajas sobre el suero y la orina en algunas enfermedades como el SIDA, varios tipos de cáncer, diabetes, artritis del adulto y patologías cardíacas. Herramientas analíticas modernas que utilizan una escasa cantidad de muestra permiten analizar elementos que se encuentran en la saliva en muy baja concentración con respecto al suero.

Las enfermedades sistémicas, incluyendo el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, metabólicas y neurológicas, constituyen un reto en el diagnóstico debido a la falta de una precisa evaluación clínica y pruebas de laboratorio específicas. Existen obstáculos que dificultan el logro del diagnóstico definitivo como, por ejemplo, la falta de marcadores biológicos (proteínas y/o genes) asociados con la enfermedad y la ausencia de métodos de muestreo no invasivos, de fácil uso y bajo costo.

La importancia del valor funcional de la saliva y sus posibilidades diagnósticas han sido reconocidas desde largo tiempo atrás. Existen evidencias que ya la señalan como herramienta diagnóstica con ventajas sobre el suero y la orina en algunas enfermedades como el SIDA, varios tipos de cáncer, diabetes, artritis del adulto y patologías cardíacas.

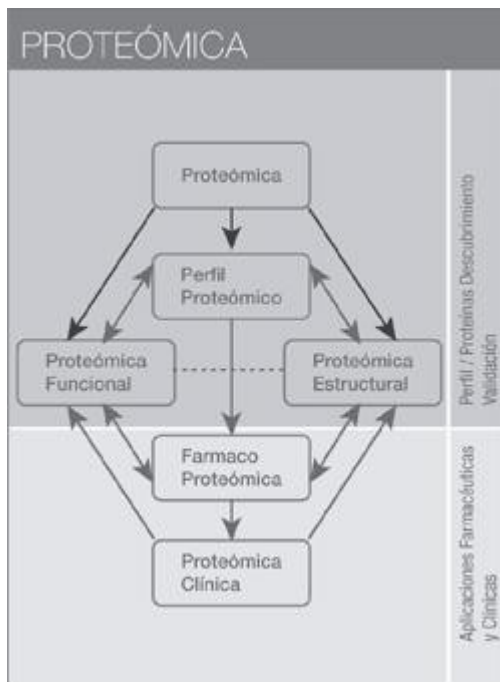
Numerosos grupos de investigación básica y de la industria privada de países desarrollados han apoyado y recomiendan maximizar su potencial para aplicaciones clínicas, a fin de extender las investigaciones en saliva para facilitar el diagnóstico y monitorear el estado de salud general y bucodental de la población.

Herramientas analíticas modernas como las técnicas proteómicas que utilizan una escasa cantidad de muestra, permiten analizar elementos que se encuentran en la saliva en muy baja concentración con respecto al suero. Su obtención sencilla a través de métodos no invasivos es una de las principales razones que fundamentan su uso.

Para utilizar el potencial diagnóstico de la saliva se deben separar y catalogar sus componentes. La comparación de tal catálogo -que constituye el proteoma salival- proveniente de pacientes sanos con el de pacientes afectados por una determinada

patología podrá mostrar diferencias para discriminar entre el estado de salud y el de enfermedad.

Esas diferencias pueden traducirse en la aparición de nuevas proteínas, o en un diferente nivel de expresión de una o más de ellas. Tales especies moleculares se transformarían en los biomarcadores para poder diagnosticar en etapas tempranas distintas patologías así como seguir su evolución y la efectividad del tratamiento.



Las técnicas proteómicas permiten (Fig. 1):

* Separar y dilucidar la estructura del conjunto de proteínas (proteómica estructural) incluyendo su estructura tridimensional. Precisamente, dicha estructura es el talón de Aquiles para definir la región molecular en que la unión de una droga puede activar o desactivar a una proteína.

* Estudiar la función proteica y las relaciones entre su estructura y su función así como dilucidar el rol de las proteínas en el proceso patológico (proteómica funcional).

* Definir el perfil proteico y aplicar el conocimiento obtenido en la identificación de blancos de drogas (farmacoproteómica).

* Detectar marcadores proteicos que puedan ser usados para la detección temprana de la enfermedad, pronóstico y seguimiento del tratamiento (proteómica clínica).

Sin embargo, estos objetivos son difíciles de alcanzar. Una muestra clínica o biológica es, típicamente, una muestra muy compleja; miles de proteínas pueden estar presentes y sus propiedades fisicoquímicas y biológicas pueden diferir mucho.

Por otra parte, los resultados pueden ser afectados por la técnica de recolección de la muestra y los procedimientos de manipuleo y conservación.

De este modo, representa un verdadero desafío analítico comparar resultados de análisis realizados en diferentes laboratorios, y los datos generados pueden no ser siempre el fiel reflejo del estado funcional local o sistémico.

En los centros especializados a nivel internacional se están realizando notables esfuerzos tendientes a la estandarización de los procesos de recolección, manipuleo y conservación de la muestra, así como de las etapas analíticas clave. Sin ir más lejos, la solubilización de las proteínas es también un punto estratégico. Las proteínas más solubles pueden enmascarar a las menos solubles, las proteínas ácidas podrían

enmascarar a las básicas, y las mayoritarias a las minoritarias.

Fig. 1: Alcances de la proteómica

En muchos casos, el prefraccionamiento de la mezcla de las proteínas salivales es esencial para reducir la complejidad de la muestra y concentrar selectivamente las de más baja abundancia.

El grupo de trabajo dirigido por el doctor Wong (UCLA, School of Dentistry and Dental Research Institute, 2006) ha reportado la identificación de cientos de proteínas en el proteoma salival de adultos, y validado biomarcadores para la detección de cáncer oral y de mama, así como también enfermedades metabólicas.

Estudios recientes (González-Begne y col., 2009) describieron el proteoma de los exosomas provenientes de la glándula parótida humana, y catalogaron más de 400 proteínas que participan en diferentes funciones biológicas y están vinculadas a enfermedades neurodegenerativas, priónicas, oncológicas, entre otras.

Otros trabajos caracterizaron el proteoma salival en pacientes con diabetes tipo 2 en los cuales identificaron un gran número de proteínas únicas. Aproximadamente un 33% no habían sido previamente reportadas en la saliva humana, y 65 mostraron diferencias en cuanto a su abundancia, con respecto a los controles.

La mayoría de las proteínas diferencialmente abundantes pertenecen a las vías que regulan el metabolismo y la respuesta inmune. Este análisis proteómico de la saliva en la diabetes tipo 2 ofrece la primera visión global de los posibles mecanismos de la diabetes, y permite su utilización en la detección y el control de la enfermedad (Rao y col., 2009).

El grupo que lidera John Yates (The Scripps Research Institute, La Jolla, California, 2009) está realizando una compilación del catálogo de proteínas salivales, implementando métodos novedosos de fraccionamiento de proteínas junto con tecnologías de espectrometría de masa de vanguardia.

En un trabajo realizado en colaboración entre la Cátedra de Patología y Clínica Bucodental de la Facultad de Odontología de la UBA, el Laboratorio Nacional de Investigación y Servicios en Péptidos y Proteínas (LANAIS-PRO, UBA-CONICET), se encaró el estudio del proteoma salival de la glándula parótida. Se realizó con fines diagnósticos en pacientes que presentan una enfermedad autoinmune (Artritis Rematoidea Juvenil), caracterizada por una presentación clínica variada y floridas manifestaciones en la cavidad bucal. Sin embargo, no existen exámenes paraclínicos que confirmen o descarten esta enfermedad, lo cual dificulta el diagnóstico en etapas tempranas de la misma (Ferrary y col., 2007).

El LANAIS-PRO cuenta con la infraestructura necesaria para realizar estudios de aspectos estructurales de proteínas como su secuencia de aminoácidos y su masa molecular. En algunos puntos de la investigación, se contó también con la participación del Centro de Investigación Príncipe Felipe (Valencia, España), miembro de la PROTEO-RED.

Otro dato significativo es el fuerte impacto que la proteómica salival está ocasionando en la investigación clínica, y se espera que esta experiencia se transfiera rápidamente en la práctica clínica de rutina. Cientos de muestras clínicas pueden ser analizadas

rápidamente usando las modernas técnicas proteómicas.

El desarrollo de marcadores moleculares con sensibilidad y especificidad mejores que los existentes sigue siendo la prioridad. No caben dudas de que la información más útil y confiable debe provenir de múltiples marcadores y no de uno solo. Sin embargo, encontrar la combinación correcta es también un desafío, dado que una proteína puede estar vinculada a múltiples vías metabólicas, y la búsqueda de un abanico de marcadores resulta caro y consume tiempo.

Por otra parte, la informática está jugando un rol crucial en la investigación proteómica y hay áreas que necesitan mejorar. Esto incluye el desarrollo de algoritmos proteómico-específicos, capaces de trabajar con la alta dimensionalidad de los datos de proteómica, sistemas integrados, bases de datos, interfases de usuarios, validación de los biomarcadores. Sólo aquellos marcadores validados independientemente, que muestren reproducibilidad entre distintos laboratorios, obtendrán un gran potencial uso en clínica.