



Papel de la lactoferrina en enfermedades periodontales

Innovative study on lactoferrin in periodontal disease

Laura Estela Castrillón Rivera,* Alejandro Palma Ramos,* Susana Macín Cabrera[§]

RESUMEN

La lactoferrina (LF) es una proteína presente en secreciones y es un componente de los gránulos específicos del neutrófilo que se libera cuando estas células son activadas por agentes periodontopatógenos en el caso de los procesos inflamatorios de gingivitis y periodontitis. Se ha correlacionado el nivel de LF con el número de neutrófilos presentes en las lesiones y se propone a esta molécula como un marcador bioquímico de actividad periodontal. Debido a la diversidad de actividades biológicas de la LF como su capacidad citotóxica y su interferencia en el desarrollo de biopelículas, entre otras, se propone su uso en la prevención y tratamiento en enfermedades periodontales.

Palabras clave: Lactoferrina, periodontitis, gingivitis, periodontopatógenos.

Key words: Lactoferrin, periodontitis, gingivitis, periodontopathogens.

ABSTRACT

Lactoferrin (LF) is a protein present in secretions and also is a component of specific granules in neutrophils that is liberated when these cells are activated by periodontopathogens in inflammatory process as gingivitis or periodontitis. Levels of LF are correlated with neutrophils numbers present in lesions and this molecule is proposed as a biochemical marker of periodontal activity. Due to LF biological activities, as cytotoxic capacity and its interference in biofilm development, its use is probably useful in prevention and treatment in periodontal diseases.

INTRODUCCIÓN

La lactoferrina (LF) es una glicoproteína multifuncional aislada originalmente en 1939 de la leche bovina y en 1960 de la leche humana. Se produce por glándulas exocrinas y se encuentra ampliamente distribuida en los fluidos corporales como lágrimas, saliva, bilis y jugo pancreático. Además la LF es el componente principal de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos que cuando son activados durante los procesos inflamatorios, liberan el contenido de sus gránulos secundarios (o específicos) directamente al plasma.^{1,2}

La lactoferrina pertenece a la familia de proteínas no hémicas conocidas como transferrinas por su capacidad de captación de hierro, cobre, zinc, manganeso y galio,³ es producida por diversas especies de mamíferos y presenta diversas funciones (*Figura 1*) como son: la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, inmunomoduladora, antioxidante, antitrombótica y antitumoral, entre otras; por lo que a esta proteína se le considera un componente importante para la respuesta innata de defensa.³

La LF humana es una glicoproteína de 80 kDa con punto isoeléctrico de 8.7, posee una sola cadena de 692 a 703 aminoácidos con enlaces disulfuro intramoleculares formando dos lóbulos globulares N- y C- terminales con 37% de homología entre ellos. Esta proteína se sintetiza como una molécula de 711 aminoácidos con una secuencia de 19 aminoácidos correspondiente al péptido señal que al ser removido genera la proteína madura.⁴ En cada lóbulo reside un sitio donde el ion férrico (Fe^{3+}) se une sinérgicamente con el ión carbonato (CO_3^{2-}). Cuando la lactoferrina se une al Fe se le conoce como hololactoferrina (holoLF)

* Departamento de Sistemas Biológicos. Laboratorio de Inmunobiología. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

§ Departamento de Atención a la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Fecha de recepción: 29 de enero de 2010

Fecha de aceptación: 22 de abril de 2010

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/facultadodontologiaunam>

y apolactoferrina (apoLF) cuando se encuentra libre de este ión.

PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE LA LF

La transferrina/lactoferrina son proteínas con propiedades bacteriostáticas porque debido a su gran afinidad por el hierro lo remueven del ambiente extracelular privando a los microorganismos de este nutriente vital para su crecimiento, se ha sugerido que la LF contribuye a los mecanismos de defensa en mucosas debido a que retrasa el crecimiento de bacterias y hongos *in vitro* y es capaz de mostrar actividad antimicrobiana sobre un amplio espectro de agentes patógenos entre los que se incluyen: bacterias, levaduras, hongos, protozoarios y virus.^{5,6} El exceso de hierro puede revertir el efecto inhibitorio del crecimiento microbiano por la LF sugiriendo su acción bacteriostática; sin embargo, si la capacidad de unión al hierro se satura, este potencial no puede operar.⁷

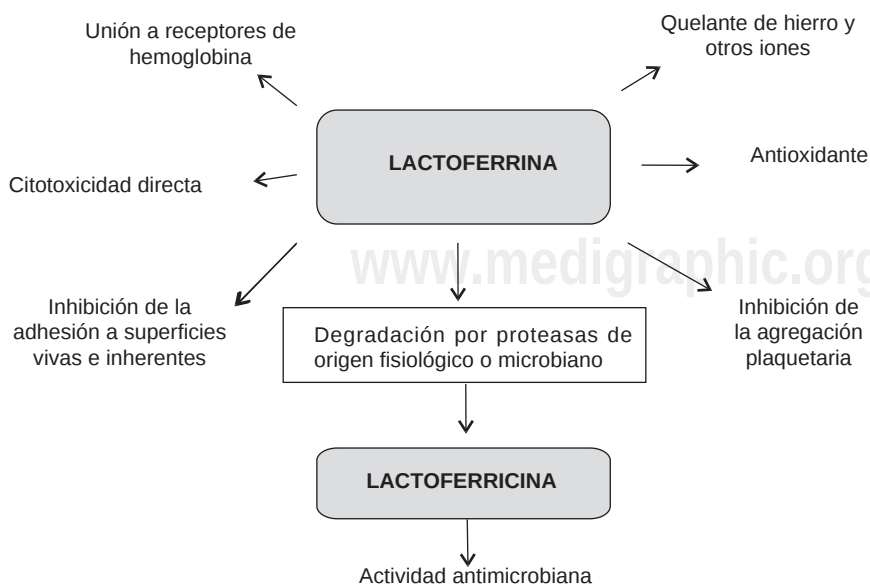
La capacidad multifuncional de la lactoferrina ha demostrado que la acción antimicrobiana puede explicarse por varios mecanismos además de su capacidad para quelar hierro resultando una inhibición del crecimiento microbiano, otro puede ser consecuencia de la formación del péptido llamado lactoferricina, así como por la capacidad de interferencia en los factores de colonización a los tejidos por parte de la lactoferrina.⁸

La digestión de lactoferrina produce péptidos bactericidas potentes de los que han sido identificados diferentes dominios, el péptido activo se conoce como lactoferricina (LFcin o lactoferricina B). Inicialmente

fue identificada como un péptido antimicrobiano derivado de la digestión por pepsina de la lactoferrina, este péptido es activo contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras, hongos filamentosos y parásitos protozoarios,⁹ LFcin es un péptido catiónico de bajo peso molecular, compuesto por 25 residuos de aminoácidos que corresponde al dominio N-terminal y es una región distinta a la del sitio de unión del hierro, por lo que su mecanismo citotóxico es independiente a este ión. De los 25 residuos de aminoácidos de la LFcin, ocho son básicos; lo que le permite unirse a las moléculas de lipopolisacárido bacteriano y liberarlo de la membrana de manera similar a lo que hace la proteína nativa. En consecuencia, se colapsa el potencial de membrana y su integridad incrementando la permeabilidad en la membrana celular de los microorganismos ocasionando su ruptura y finalmente a la lisis y muerte de la bacteria o del hongo (*Figura 1*).^{10,11} Se ha demostrado mayor potencia antimicrobiana en la lactoferricina de origen bovino comparativamente con la humana, murina y caprina cuando se enfrentan a las cepas de referencia de *E. coli* y *S. aureus*.¹² La aparición de péptidos sintéticos que contienen los dos dominios catiónicos N-terminal de lactoferrina han demostrado su actividad sobre *Candida albicans* y *Aspergillus fumigatus*.¹³

ACCIÓN DE LA LF SOBRE LOS AGENTES PERIODONTOPATÓGENOS

La enfermedad periodontal es un proceso infeccioso caracterizado por la destrucción del tejido conecti-



La actividad quelante de hierro así como la citotoxicidad directa se asocian con su capacidad antibacteriana y antitumoral, su papel protector al daño tisular puede relacionarse por su acción antioxidante, la inhibición de la adhesión a superficies evita el desarrollo de biopelículas, así como la inhibición de la agregación plaquetaria. La degradación de la lactoferrina a lactoferricina retiene su acción antimicrobiana.

Figura 1. Actividades biológicas de la lactoferrina.

vo con pérdida de inserción periodontal y reabsorción del hueso alveolar. Los responsables de estos procesos son las bacterias anaeróbicas Gram negativas, sus productos y componentes tales como los lipopolisacáridos (LPS).

En la enfermedad periodontal los granulocitos neutrófilos juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis huésped-bacteria. Los neutrófilos y otras células migran hacia el tejido gingival inflamado después de la invasión bacteriana y predominan en el tejido conectivo adyacente a la bolsa periodontal. Los factores quimiotácticos, son sintetizados y liberados en el área de inflamación, los cuales pueden derivar tanto de los patógenos periodontales como del huésped.¹⁴

Ya que la lactoferrina es el componente principal de los gránulos de los neutrófilos y está presente en la saliva y en el fluido gingival crevicular (FGC), su interacción con los organismos periodontopatógenos puede ser un elemento importante para la defensa del hospedero contra la enfermedad periodontal, por esta razón se ha estudiado su capacidad citotóxica sobre algunos microorganismos en la que se reporto actividad sobre *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens* en concentraciones fisiológicas en el ambiente secretor de la cavidad oral.^{15,16}

S. mutans es altamente susceptible a la acción bactericida de la LF a concentraciones que entran en el rango fisiológico de muchas secreciones y sobre el número de bacterias que normalmente se encuentran *in situ*,¹⁷ en estudios posteriores se ha determinado la capacidad inhibitoria de la adhesión de esta bacteria libre, agregada o en biopelículas sobre superficies abióticas.¹⁸

Un mecanismo bacteriostático alternativo de la LF se ha descrito sobre *P. gingivalis* ya que esta bacteria tiene la capacidad de adsorber lactoferrina mediante su unión al receptor de hemoglobina (HbR) removiendo de la superficie de la célula y, consecuentemente, alterando su sistema de captación de hierro vía la hemoglobina siendo ésta su única fuente de este ión.¹⁹ Otros reportes de la acción bactericida directa de la LF se asocia a su capacidad de unirse a porinas y al lípido A del lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa de las bacterias Gram negativas como en el caso de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, así como en *P. gingivalis* alterando su función;^{16,20} este hecho favorece la acción de los antibióticos al facilitar su acceso al interior de la bacteria como se ha demostrado en el caso de cepas de *Salmonella* con la eritromicina.²¹

ACCIÓN ANTIOXIDANTE DE LA LF

La destrucción del tejido de soporte del diente se asocia con la liberación de muchas enzimas proteolíticas y especies reactivas del oxígeno, predominantemente de neutrófilos activados,²² así como la producción de interleucina-1 β (IL-1 β por los leucocitos; esto sugiere que la etiología y patogénesis de la periodontitis se asocia con la producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1 β ²³ que es estimulador de radicales como elementos de daño tisular.²⁴

Un mecanismo citotóxico directo sobre la acción de periodontopatógenos consiste en la formación de especies reactivas del oxígeno como son radicales libres ($O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$), así como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso (HOCl) producidas por la activación del estallido respiratorio de células fagocíticas como los neutrófilos cuando son activadas ya sea por su receptor Fc γ por los microorganismos directamente o por citocinas proinflamatorias como la interleucina 1 β (IL-1 β).²⁵ Estos metabolitos pueden causar daño por diversos mecanismos como la peroxidación de lípidos, oxidación de proteínas, inactivación de inhibidores de proteasas, daño directo al DNA y activación de señales de transcripción que modifican el funcionamiento celular que va desde alteraciones metabólicas hasta la muerte.

Para evitar que estos mediadores fuertemente reactivos puedan ser tóxicos hacia los tejidos sanos, el organismo cuenta con mecanismos antioxidantes, entre los que se encuentra la enzima glutatión peroxidasa que mediante el uso del glutatión como agente reductor detoxifica al peróxido de hidrógeno y varios hidroperóxidos.

La reacción del peróxido de hidrógeno con el superóxido forma radicales hidroxilo ($OH^{\cdot}$) altamente reactivos que requiere ser catalizada por iones de hierro o cobre; por tanto, el secuestro de los mismos por la lactoferrina determina su papel en la defensa ante la agresión de estos reactivos. El desbalance entre los niveles de mieloperoxidasa/IL-1 β y glutatión peroxidasa/lactoferrina resultarán en daño al tejido por las especies reactivas al oxígeno (ROS) en la periodontitis que es iniciada y perpetuada por periodontopatógenos.²⁶

DEGRADACIÓN DE LF

Ciertas bacterias que colonizan el saco periodontal pueden degradar lactoferrina, esta acción es muy evidente en *Porphyromonas gingivales* y *Capnocytophaga sputigena*, lenta en el caso de *Capnocytophaga ochracea*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y

Prevotella intermedia y muy lenta o ausente por *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter sputorum*, *Fusobacterium nucleatum ssp*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Bacteroides forsythus* y *Peptostreptococcus micros*.²⁷

Las enzimas que degradan a la LF probablemente derivadas de fuentes microbianas causan una baja en la concentración de LF en la saliva lo que favorece el crecimiento de *A. actinomycetemcomitans* lo que puede aumentar el riesgo de infecciones orales.²⁸ Recientemente en estudios *in vitro* se ha demostrado que la declinación de la actividad antibacteriana de la LF después de largos tiempos de incubación con *P. gingivalis* y *P. intermedia* puede deberse a la degradación de esta proteína.²⁹

MEDIADORES DE NEUTRÓFILOS COMO RESPONSABLES DE DAÑO TISULAR

El análisis de las proporciones de leucocitos en crevículos sanos e inflamados crónicamente ha demostrado que hay un aumento en el número pero las proporciones de los mismos es la misma encontrándose 95-97% de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs), 1-2% de linfocitos y 2-3% de monocitos; por lo que se concluye que las diferencias son únicamente cuantitativas entre encías sanas e inflamadas,³⁰ por esta razón es importante reconocer el papel del neutrófilo como mediador de respuestas inflamatorias e incluso como la célula responsable del daño tisular en tanto exista una hiperestimulación de esta población celular.

En enfermedades periodontales se ha detectado un aumento del número de neutrófilos en el epitelio del surco gingival y tejido conectivo adyacente que una vez que son activados ocurre la degranulación de sus gránulos que contienen proteasas, carbohidrasas y sustancias antimicrobianas como la lactoferrina, lisozima, mieloperoxidasa y otros mediadores, aumentando así los mediadores inflamatorios que consecuentemente definirán el destino de la respuesta hacia su resolución o al daño tisular.

La actividad aberrante de la respuesta del hospedero ante la acumulación de placa en el crevículo gingival ocasiona la degradación de fibras de colágeno y migración apical del epitelio de unión. Los neutrófilos que forman la mayor parte de los leucocitos (> 90%) en tejidos sanos e inflamados y juegan un papel importante siendo la primera línea de defensa celular contra la invasión bacteriana, sin embargo también están involucrados en la destrucción tisular. Para determinar el daño causado a la membrana basal por esta célula, se ha correlacionado las concentraciones de laminina y lactoferrina encontrándose hi-

perreactividad durante el proceso de trans migración a través de endotelio y epitelio.³¹

Se ha demostrado hiperreactividad de neutrófilos periféricos en periodontitis del adulto²³ y se ha buscado la posibilidad de una aberración en la expresión de moléculas relacionadas con esta activación, para lo cual se recolectaron neutrófilos creviculares de diferentes sitios inflamatorios con y sin destrucción de tejido, así como en sitios inflamados en controles con gingivitis y se determinaron por citometría de flujo, marcadores de activación de neutrófilos como son CD15, CD11a, CD11b y CD16 y no se encontraron diferencias en la expresión de moléculas de membrana en el caso de neutrófilos de lesiones con periodontitis comparativamente con los neutrófilos de lesiones por gingivitis.³²

La elastasa es una endopeptidasa del neutrófilo que puede degradar proteínas de la matriz extracelular fibrilar y no fibrilar. Los niveles de esta enzima en FGC aumentan en gingivitis experimental, así como también en sitios con lesiones periodontales establecidas. También se sabe que esta enzima disminuye su producción con tratamiento convencional de sitios afectados.³³ Por lo tanto, el aumento significativo de elastasa libre en pacientes con periodontitis sin tratamiento comparada con pacientes con gingivitis se asocia con la destrucción de tejido.^{34,35} Por esta razón se ha propuesto la cuantificación de esta enzima como un biomarcador diagnóstico promisorio de enfermedad periodontal activa.³⁶

Otros mediadores derivados del neutrófilo que se asocian con parámetros clínicos en enfermedades periodontales son la β -glucuronidasa en el FGC que tiene una fuerte asociación con la prueba de sangrado al sondeo y se propone como un método de diagnóstico de enfermedad activa en periodontitis,³⁷ así como los niveles de proteasas libres y α 1-antitripsina en sitios inflamados con y sin destrucción tisular encontrándose que existe un desbalance entre proteasas y anti-proteasas.³⁸

LF COMO MARCADOR DE INFLAMACIÓN PERIODONTAL

Los componentes del fluido gingivo-crevicular (FGC) se usan para identificar o diagnosticar la enfermedad activa, anticipar el riesgo de padecerla y determinar su progresión. La respuesta de los granulocitos neutrófilos juega un papel importante en la enfermedad periodontal. El sistema de defensa inespecífico en el FGC se puede determinar a través de citocinas y de enzimas lisosomales de neutrófilos, proteasas como son las colagenasas o enzimas intracitoplasmá-

ticas como lactato deshidrogenasa y aspartato aminotransferasa que permiten monitorear la progresión de la enfermedad periodontal.¹⁴

Recientemente se ha utilizado a la lactoferrina como un marcador bioquímico debido a su capacidad de participar en varios procesos biológicos asociados con la salud periodontal, desde el año de 1993 se ha logrado correlacionar a la lactoferrina en fluido gingival crevicular (FGC) como un marcador efectivo del número de leucocitos polimorfonucleares presentes en enfermedades periodontales.³⁹

La lactoferrina liberada por los leucocitos polimorfonucleares al fluido gingival crevicular (FGC) es un buen indicador de la inflamación periodontal ya que se ha demostrado una fuerte correlación de los parámetros clínicos como son el volumen del FGC, profundidad al sondeo, niveles de inserción epitelial e índice de placa. Los niveles de lactoferrina en el FGC (ng/sitio) aumentan hasta 20µM en el fluido gingival crevicular de pacientes con periodontitis juvenil, gingivitis y periodontitis del adulto en relación a la severidad de la inflamación, por lo tanto, su cuantificación detecta el grado de inflamación periodontal.⁴⁰

Se ha demostrado que existen diferencias en la respuesta inflamatoria entre individuos periodontalmente sanos durante el curso de la gingivitis experimental⁴¹ y en la búsqueda de marcadores que permitan diferenciar las respuestas inflamatorias entre gingivitis y periodontitis ha determinado los niveles de elastasa (gránulos azurófilos) y lactoferrina (granos específicos) en FGC de tres diferentes sitios: inflamados en gingivitis e inflamados en periodontitis con y sin daño tisular se encontró que los niveles de elastasa aumentan únicamente en periodontitis, en contraste con lactoferrina que aumenta en ambas patologías lo que sugiere que en pacientes con periodontitis se presenta una tasa mayor de liberación de las células y una respuesta específica del hospedero asociada a los granulocitos.²⁵ En otro estudio se reporta que no se encontraron diferencias significativas en valores absolutos y concentración en de elastasa y sí se logró la correlación de los niveles de lactoferrina con la activación de los polimorfonucleares (PMN).⁴² Es importante reconocer que en ambos estudios se propone que la liberación de los componentes de los gránulos primarios y secundarios indican alteraciones en la función de los PMN en diferentes ambientes de ambas enfermedades.

Para el estudio de la eficiencia de la lactoferrina como posible marcador de la progresión de la enfermedad, en el año 2009 se ha reportado, un estudio longitudinal en gingivitis experimental que evalúa los niveles de lactoferrina en el FGC y sanguíneos encon-

trando que la inflamación local creada por la acumulación de placa causa aumento de los niveles de LF tanto en sangre como en FGC y el restablecimiento de la higiene oral reduce sus niveles de LF aunque las alteraciones son estadísticamente insignificantes.⁴³

La acción bacteriostática y bactericida de LF en la saliva y en el fluido gingival crevicular es considerada como parte de los mecanismos de defensa a nivel de mucosas y se ha observado que sus niveles aumentan en sitios con periodontitis comparados con los sanos.⁴⁴ Se ha evaluado su concentración después del tratamiento quirúrgico asociando los posibles cambios con saliva estimulada y sin estimular encontrándose que la LF es apropiada para monitorear los resultados de tratamiento periodontal ya que las concentraciones elevadas de LF de parótida y de saliva en pacientes con periodontitis agresiva disminuyen en FGC después de el tratamiento quirúrgico en ambas salivas.⁴⁵

INHIBICIÓN DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS

Las biopelículas (BP) son comunidades microbianas que constituyen la forma más exitosa de colonización entre los microorganismos, son ubicuas en la naturaleza y son responsables de muchas patologías. Son consideradas como comunidades de microorganismos que crecen embebidas en una matriz de exopolisacárido autoproducido y están adheridas a una superficie inerte o a un tejido vivo. La formación de las biopelículas ocurre como un proceso continuo de acuerdo a varias fases de desarrollo que son: a) acondicionamiento, b) adhesión, c) síntesis de matriz extracelular, d) maduración y e) dispersión. Después de la maduración de la biopelícula ocurre la dispersión por células aisladas o en conglomerados que colonizan nuevas superficies iniciando así un nuevo ciclo de formación de biopelículas. Existen diferencias en las características de las células que se desprenden ya que las células sésiles (adheridas) pueden conservar la funcionalidad de la biopelícula como lo es la resistencia a antibióticos, en cambio las células aisladas pueden presentar el fenotipo planctónico (libre) y ser susceptible a los mecanismos de defensa del hospedero.

El factor etiológico primario para la enfermedad periodontal es la biopelícula bacteriana. Las bacterias Gram positivas y Gram negativas poseen factores de virulencia entre los que se encuentran lipopolisacárido (LPS), peptidoglicanos, ácidos lipoteicoicos, fimbrias, proteasas, proteínas de choque térmico, péptidos formil-metionina y toxinas entre otros que pueden causar daño directo o indirecto sobre los tejidos periodontales estimulando a las células del hospedero para activar

el inicio de la respuesta inflamatoria causando gingivitis y en algunos casos periodontitis.⁴⁶

La enfermedad periodontal de gran incidencia en el ser humano se caracteriza por un proceso inflamatorio que resulta en la pérdida del soporte del diente. Todo comienza con la formación de una película de origen glandular (saliva, moco) que recubre las mucosas, las superficies dentales y epiteliales de la encía; luego llegan los primeros colonizadores que ofrecen medios para la retención de otros microorganismos dando origen a una comunidad celular diversa o biopelícula,⁴⁷ el desarrollo incontrolado de microbios residentes en estas comunidades puede contribuir al desarrollo de enfermedades orales.⁴⁸

La capacidad de la lactoferrina para quelar iones, así como para interactuar con componentes microbianos permite modificar las interacciones de los microorganismos con la superficie tisular, por esta razón se ha explorado la posibilidad de interferencia de la LF en las fases de desarrollo de biopelículas habiéndose reportado que la LF suprime la unión inicial de *S. gordonii* y la coagregación de esta bacteria por secuestro del hierro, este hallazgo conduce a la inhibición de las fases iniciales y el desarrollo de la biopelícula oral, sin embargo no presenta efecto sobre *P. gingivalis* o *F. nucleatum*.⁴⁹

Por otra parte, la LF previene la formación de biopelículas a las bacterias que escapan de la muerte inicial, en presencia de concentraciones subinhibitorias de LF (20 µg/mL) *P. aeruginosa* se une y multiplica pero falla en la formación de microcolonias o estructuras diferenciadas de biopelículas, este hecho se debe a que la LF estimula un tipo especial de locomoción bacteriana que aleja a las células hijas del punto de la división parental y por tanto no se pueden formar las microcolonias lo que demuestra la interferencia en las fases tempranas de desarrollo de biopelículas,^{50,51} lo que permite una estrategia para prevenir la resistencia a los antibióticos relacionada con la formación de estas estructuras.

P. gingivalis y *Prevotella intermedia* residen como biopelículas en la placa subgingival, estudios recientes han determinado que la administración de lactoferrina bovina en pacientes con periodontitis crónica disminuye el número de estas bacterias en la placa, por esta razón se ha explorado la capacidad de formación de biopelículas de varias formas de lactoferrina: apo (libre de hierro), nativa y holo (saturada de hierro) tanto humana, bovina y lactoferricina (LFcin B) encontrándose actividad para la inhibición de la formación de biopelículas a bajas concentraciones y que el uso combinado con antibióticos amplifica el efecto, por lo que se propone el uso de la lactoferrina en la

prevención y tratamiento de las enfermedades periodontales.²⁹

TRATAMIENTO

Debido a la multifuncionalidad de la lactoferrina se propone su uso en la terapéutica habiéndose reportado que el uso de lactoferrina, xilitol o su combinación en estudios *in vitro*, sobre la estructura de biopelículas de *P. aeruginosa* lo que ha resultado en una reducción en viabilidad > 2 log cuando se usan combinados, esto se debe a la capacidad de disgregación en la estructura de la biopelícula por el xilitol y a la permeabilización bacteriana por la lactoferrina; por tanto, actualmente se propone el uso combinado de ambas moléculas para el tratamiento de eliminación de biopelículas.⁵²

Gracias a la actividad antimicrobiana de la lactoferrina, se han desarrollado formulaciones utilizando lactoferrina activada (ALF)⁵³ que impiden la interacción de las bacterias con los tejidos, este tipo de preparados generará beneficios en la salud humana, entre ellos la salud oral (control de placa, enjuagues bucales limpieza de dentaduras etc.), cuidados en protección de heridas, alimentos y en evitar la formación de biopelículas en catéteres lo que ha ocasionado una gran proporción de enfermedades nosocomiales.

CONCLUSIÓN

La búsqueda de marcadores moleculares de actividad periodontal que permitan, además del diagnóstico, determinar la severidad y progresión de la enfermedad ha permitido proponer a una gran cantidad de moléculas provenientes del suero o del fluido gingival crevicular así como de las células que participan localmente en el proceso inflamatorio. La lactoferrina puede ser un candidato útil como marcador bioquímico/inmunológico ya que su presencia en muestras biológicas correlaciona los parámetros clínicos con el número de neutrófilos activados *in situ* reflejando la actividad en el tejido afectado.

Por otra parte, debido a la relación inversa que presentan la lactoferrina con la elastasa en las respuestas inmunitarias, es muy importante considerar este hecho en términos de la evolución de las lesiones periodontales y considerar este índice como marcador de la salud oral ya que concentraciones elevadas de elastasa se asocian con mecanismos de agresión tisular en contraste con los efectos protectores de la lactoferrina.

La lactoferrina juega un papel protector en la inflamación debido a su capacidad antioxidante, citotóxica

directa y en la inhibición de la formación de biopelículas, estos hallazgos permiten proponer su uso en preparados de uso profiláctico para evitar la colonización de la microflora oral y seguramente en un futuro cercano se podrán contar con este tipo de formulaciones.

REFERENCIAS

1. Alderova L, Baroskova A, Faldyna M. Lactoferrin: a review. *Veterinari Medicina* 2008; 9: 457-468.
2. Brock HJ. The physiology of lactoferrin. *Biochem Cell Biol* 2002; 80: 1-6.
3. Ferenc LP, Viljoen M. Lactoferrin: A general review. *Haematologica* 1995; 80: 252-267.
4. Vorland HL. Lactoferrin: A multifunctional glycoprotein. *APMIS* 1999; 107: 971-981.
5. Drago ME. Actividades antibacterianas de lactoferrina. *Enf Inf Microbiol* 2006; 26: 58-63.
6. Samaranayake HY, Samaranayake LP, Wu PC, SO M. The antifungal effect of lactoferrin and lysozyme on *Candida krusei* and *Candida albicans*. *APMIS* 1997; 105: 875-883.
7. Hegenauer J, Saltman P. Iron and susceptibility to infectious disease. *Science* 1975; 188: 1038-1039.
8. de Lillo A, Quirós LM, Fierro JF. Relationship between antibacterial activity and cell surface binding of lactoferrin in species of genus *Micrococcus*. *FEMS Microbiol Letters* 1997; 150: 89-94.
9. Wakabayashi H, Takase M, Tomita M. Lactoferricin derived from milk protein lactoferrin. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 1277-1287.
10. Dionysius DA, Milne JM. Antibacterial peptides of bovine lactoferrin: Purification and characterization. *J Dairy Sci* 1997; 80: 667-674.
11. Viejo-Díaz M, Andrés TM, Fierro JF. Effects of human lactoferrin on the cytoplasmic membrane of *Candida albicans* cells related with its candidacidal activity. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 42: 181-185.
12. Vorland LH, Ulvatne H, Andersen J, Haukland H, Rekdal O, Svendsen JS, Gutteberg TJ. Lactoferricin of bovine origin is more active than lactoferricins of human, murine and caprine origin. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 513-517.
13. Lupetti A, van Dissel JT, Brouwer CPJM, Nibbering PH. Human antimicrobial peptides' antifungal activity against *Aspergillus fumigatus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27: 1125-1129.
14. Castro CE, Koss MA, López ME. Marcadores bioquímicos de la enfermedad periodontal. *Med Oral* 2003; 8: 322-328.
15. Kalmar RJ, Arnold RR. Killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by human lactoferrin. *Infect Immun.* 1988; 56: 2552-2557.
16. Aguilera O, Andrés MT, Heath J, Fierro JF, Douglas CWI. Evaluation of the antimicrobial effect of lactoferrin on *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1998; 21: 29-36.
17. Arnold RR, Cole FM, McGhee RJ. A bactericidal effect for human lactoferrin. *Science* 1977; 197: 263-265.
18. Berlutti F, Ajello M, Bosso P, Morea C, Andrea P, Giobanni A, Piera V. Both lactoferrin and iron influence aggregation and biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *BioMetals* 2004; 17: 271-278.
19. Shi Y, Kong W, Nakayama K. Human lactoferrin binds and removes the hemoglobin receptor protein of the periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis*. *J Biol Chem* 2000; 275: 30002-30008.
20. Afugupalli KR, Kalfas S, Edwardsson S, Naidu AS. Lactoferrin interaction with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10: 35-41.
21. Naidu AS, Arnold RR. Lactoferrin interaction with salmonellae potentiates antibiotic susceptibility. *Diag Microbiol Infect Dis* 1994; 20: 69-75.
22. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *New Engl J Med* 1989; 6: 365-376.
23. Gustafsson A, Ito H, Asman B, Bergström K. Hiper-reactive mononuclear cells and neutrophils in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 126-129.
24. Castrillón RLE, Macín CSA, Palma RA. Participación de la interleucina 1 β (IL-1 β) en periodontitis. *Rev Odontol Mex* 2007; 11:185-200.
25. Gustafsson A, Asam B. Increased released of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc γ -receptor stimulation. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 38-44.
26. Pi-Fen Wei, Kun-Yen Ho, Yea-Pyng Ho, Yi-Min Wu. Yi-Hsin Yang, Chi-Chen Tsai. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and interleukin-1 β in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J Periodont Res* 2004; 39: 287-293.
27. Kishore R, Alugupalli, Kalfas S. Degradation of lactoferrin by periodontitis-associated bacteria. *FEMS Microbiol Letters* 1996; 145: 209-214.
28. Groenink J, Walgreen-Weterings E, Nazmi K, Bolscher JGM, Veerman ECI, van Winkerhoff AJ, Amerongen NAV. Salivary lactoferrin and low-Mr mucin MG2 in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 269-275.
29. Wakabayashi H, Yamauchi K, Kobayashi T, Yaeshima T, Iwatsuki K, Yoshie H. Inhibitory effects of lactoferrin on growth and biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 3308-3316.
30. Attström R. Presence of leukocytes in crevices of healthy and chronically inflamed gingivae. *J Periodont Res* 1970; 5: 42-47.
31. Figueredo CMS, Gustafsson A. Increased amounts of laminin in GCF from untreated patients with periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 313-318.
32. Asam B, Gustafsson A, Bergström K. Gingival crevicular neutrophils: membrane molecules do not distinguish between periodontitis and gingivitis. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 927-931.
33. Meyle J, Zell S, Brex M, Heller W. Influence of oral hygiene on elastase concentration of gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res* 1992; 273: 226-231.
34. Figueredo CMS. Aberrant neutrophil reactions in periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76: 951-955.
35. Gustafsson A, Asman B, Bergström K, Söder PO. Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid. A possible discriminator between gingivitis and periodontitis. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 535-540.
36. Armitage GC, Jeffcoat MK, Chadwick DE. Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis. *J Periodontol* 1994; 652: 120-128.
37. Lamster JB, Oshrain RL, Harper DS, Celenti RS, Hovliaras CA, Gordon JM. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patient with chronic adult periodontitis 6-month results. *J Periodontol* 1988; 59: 516-523.
38. Figueredo CMS, Gustafsson A. Protease activity in gingival crevicular fluid. Presence of free protease. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 306-310.
39. Adonogianaki E, Moughai NA, Kinane DF. Lactoferrin in the gingival crevice as a marker of polymorphonuclear leucocytes in periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 26-31.
40. Tsai CC, Kao CC, Chen CC. Gingival crevicular fluid lactoferrin levels in adult periodontitis patients. *Aust Dent J* 1998; 43: 40-44.
41. Fransson C, Mooney J, Kinane DF, Berglundh T. Differences in the inflammatory response in young and old human subjects during the course of experimental gingivitis. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 453-460.

42. Murray MC, Mooney J, Kinane DF. The relationship between elastase and lactoferrin in healthy, gingivitis and periodontitis sites. *Oral Dis* 1995; 1: 106-109.
43. Ozdemir B, Ozcan G, Karaduman B, Teoman IA, Ayhan E, Ozer N, Us D. Lactoferrin in gingival crevicular fluid and peripheral blood during experimental gingivitis. *Eur J Dent* 2009; 3: 16-23.
44. Tenovou J, Lumikari M, Soukka T. Salivary lysozyme, lactoferrin and peroxidase: antibacterial effects on cariogenic bacteria and clinical applications in preventive dentistry. *Proc Finn Dent Soc* 1991; 87: 197-208.
45. Jentsch H, Sievert Y, Göcke R. Lactoferrin and other markers from gingival crevicular fluid and saliva before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 511-514.
46. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingival. *J Clin Periodontol* 2005; 32(Suppl 6): 57-71.
47. Betancourt BM, Botero JE, Rivera BS. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Colomb Med* 2004; 35(Supl 1): 34-39.
48. Loesche WJ. The antimicrobial treatment of periodontal disease: changing the treatment paradigm. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999; 10: 245-275.
49. Arslan SY, Leung KP, Wu CD. The effect of lactoferrin on oral bacterial attachment. *Oral Microbial Immunol* 2009; 24: 411-416.
50. Singh KP, Parsek RM, Greenberg EP, Welsh JM. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 2002; 417: 552-555.
51. Singh KP. Iron sequestration by human lactoferrin stimulates *P. aeruginosa* surface motility and blocks biofilm formation. *BioMetals* 2004; 17: 267-270.
52. Ammons MC, Ward LS, Fisher ST, Wolcott RD, James GA. *In vitro* susceptibility of established biofilms composed of a clinical wound isolate of *Pseudomonas aeruginosa* treated with lactoferrin and xylitol. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 230-236.
53. Naidu AS, Nimmagudda R. Activated lactoferrin. Part 1: a novel antimicrobial formulation. *AgroFood industry hi-tech* 2003; 14: 7-10.

Dirección para correspondencia:

Dra. Susana Macín Cabrera

Calz. Del Hueso Núm. 1100

Col. Villaquitud,

Del. Coyoacán 04960

México, D.F.

E-mail: macinsu@prodigy.net.mx