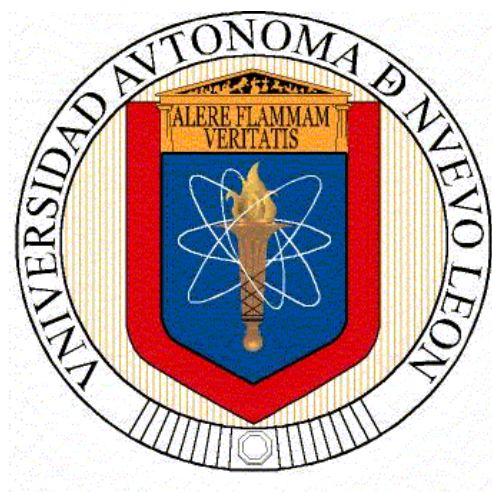


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGIA



RELACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINA 5 POR
MEDIO DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA EL DIAGNÓSTICO
DE SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Y SECUNDARIO

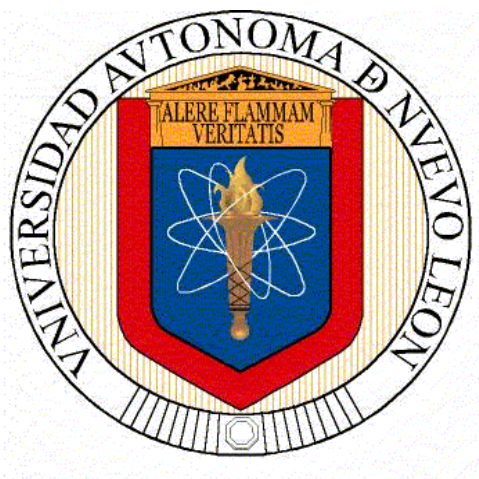
POR:

DANIA PAOLA SANTAMARÍA LINARES

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN EN
PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA

AGOSTO 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**RELACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINA 5 POR
MEDIO DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA EL DIAGNÓSTICO
DE SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Y SECUNDARIO**

AGOSTO 2015

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN EN
PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA

RELACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINA 5 POR MEDIO
DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE
SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Y SECUNDARIO

Comité de Tesis

Dr.
Presidente

Dr.
Secretario

Dr.
Vocal

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ORIENTACIÓN EN
PERIODONCIA CON IMPLANTOLOGÍA

RELACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINA 5 POR MEDIO
DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE
SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Y SECUNDARIO

Asesores de Tesis

Dra. Gloria Martínez Sandoval
Director de Tesis

Dra. Myriam de La Garza Ramos
Co-Director de Tesis

Dra. Gabriela Chapa Arizpe
Asesor Clínico de Tesis

Lic. Gustavo Israel Martínez
Asesor Estadístico

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por guiarme y acompañarme en cada paso de mi vida. Por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y por poner en mi camino a cada una de las personas que hicieron que este proyecto sea posible.

Al posgrado de Periodoncia e Implantología Oral de la UANL, con especial atención a la Dra. Gloria Martínez Sandoval por todo su apoyo, esfuerzo y dedicación. A la Dra. Gabriela Chapa Arizpe, por confiar en mí. Sus conocimientos y orientaciones han sido fundamentales para la realización de este proyecto.

Mi más sincero agradecimiento al Departamento de Reumatología del Hospital Universitario, con especial atención al Dr. Mario Garza Elizondo y a la Dra. Janett Riega Torres, por creer en este proyecto y brindarme su apoyo y colaboración. Sin su confianza y aportación no se hubiera podido llevar a cabo este trabajo de investigación.

Al Dr. Luis Ángel Ceceñas por jugar un papel crucial en la elaboración de la inmunohistoquímica. Su ayuda fue el pilar para poder obtener los resultados de esta investigación.

A mi familia, fuente de apoyo constante e incondicional en toda mi vida. En especial a mis padres, David Santamaría y Carmen Dania Linares, gracias por su esfuerzo para darme la mejor formación, por su dedicación, por su amor y porque a pesar de la distancia de una u otra forma han estado presentes en el transcurso de este proyecto. Sin su apoyo nada de esto hubiera sido posible.

A mi esposo, Héctor Garza Concha, por el gran apoyo que me ha brindado desde que entró a mi vida y por regalarme una segunda familia.

A mi amiga y compañera de posgrado, la Dra. Paulina Martínez Ramírez, por todo el trabajo y experiencias compartidas durante el desarrollo de la investigación.

A mis maestros, amigos y compañeros de posgrado en general, porque su apoyo, conocimientos y amistad fueron un impulso durante todo este tiempo de preparación, ustedes han sido pilar importante en mi formación como Periodoncista y se han convertido en parte importante de mi vida.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	6
NOMENCLATURA.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. HIPÓTESIS.....	14
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo General.....	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4. ANTECEDENTES.....	16
4.1 Síndrome de Sjögren	16
4.1.1 Epidemiología.....	16
4.1.2 Síntomas	16
4.1.3 Clasificación	17
4.2 Diagnóstico.....	17
4.2.1 Métodos Diagnósticos	18
4.3 Acuaporina 5.....	20
5. DISEÑO	23
5.1 Número de Muestras a Estudiar	23
5.2 Conocimiento de los Investigadores en los Factores del Estudio:.....	23
5.3 Participación del Investigador:	23
5.4 Tiempo en que Suceden los Eventos:.....	23
5.5 Relación que Guardan entre sí los Datos:	23
5.6 Pruebas de Diagnóstico para medir Sensibilidad y Especificidad.....	24
5.7 Estudios para Medir la Asociación:.....	24
6. MÉTODOS.....	25
6.1 Universo del Estudio:	25
6.2 Forma de asignación de casos a los grupos de estudio:	26
6.3 Características del grupo control y del grupo experimental:	26
6.4 Diseño estadístico.....	28
6.5 Criterios de Selección.....	29
6.5.1 Criterios de Inclusión:	29
6.5.2 Criterios de Exclusión:	29
6.5.3 Criterios de Eliminación:	29
7. RESULTADOS	30
8. DISCUSIÓN	37
9. CONCLUSIONES	39
10. INFORMACIÓN PERSONAL	40
BIBLIOGRAFÍA CITADA	41
RESUMEN BIBLIOGRÁFICO	50

NOMENCLATURA

SS	Síndrome de Sjögren
SS1	Síndrome de Sjögren primario
SS2	Síndrome de Sjögren secundario
SLE	Lupus eritematoso sistémico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
AQP	Acuaporina
AQP-5	Acuaporina 5
hAQP5	Human aquaporin-5
anti-Ro/SSA	Anti Sjogren's syndrome related antigen A
anti-La/SSB	Anti Sjogren's syndrome related antigen B
HyE	Hematoxicilina y Eosina
PBS	Buffer fosfato salino
MSG	Glándulas salivales menores

RESUMEN

Introducción: El Síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad autoinmune común, caracterizada por un infiltrado linfocitario en las glándulas exocrinas, particularmente en las glándulas salivales y lagrimales. Su diagnóstico es complicado por la variedad de síntomas que el paciente puede presentar, y su similitud con otras enfermedades autoinmunes.

La AQP-5 es una proteína que participa en el transporte de agua a través del epitelio glandular. Recientemente ha habido un considerable interés en la posibilidad de que una distribución anormal de AQP-5 pueda contribuir a los síntomas secos del SS, y que por tanto su estudio vaya encaminado a facilitar el diagnóstico de esta enfermedad.

Objetivo: Evaluar la distribución de AQP-5 en biopsias de glándulas salivales menores.

Materiales y métodos: Se realizaron biopsias de glándulas salivales menores, localizadas en la parte interna del labio correspondiente a la mucosa oral en pacientes sanos y en pacientes con SS1 y SS2. Se colocó la muestra de tejido en formaldehído por 24 horas para fijarlo, se incluyeron en parafina y se prepararon los cortes histológicos con tinción de rutina con Hematoxilina y Eosina. Se analizaron las muestras identificando los focos del infiltrado inflamatorio y se realizó el procedimiento de Inmunohistoquímica para observar la distribución de AQP-5 en cada grupo.

Resultados: Se observó una distribución de AQP-5 similar entre los grupos. En los pacientes con SS1 el 29% presentó una distribución apical, el 68% presentó una distribución difusa (la acuaporina se observó en todo el citoplasma) y solamente el 3% presentó una distribución basal; en los pacientes con SS2 el 48% presentó una distribución apical y el 52% una distribución difusa; y en los pacientes sanos el 29% presentó una distribución apical y el 71% una distribución difusa de AQP-5.

Conclusiones: No existe diferencia en la distribución de AQP-5 en las células acinares de pacientes con SS1, pacientes con SS2 y pacientes sanos.

Palabras Claves: síndrome de sjögren, diagnóstico, acuaporinas, acuaporina-5.

ABSTRACT

Introduction: Sjögren syndrome (SS) is a common autoimmune disease characterized by lymphocytic infiltration of exocrine glands, particularly the lacrimal and salivary glands. Diagnosing SS is complicated by the variety of presenting symptoms a patient may manifest, and the similarity between some symptoms from SS and those caused by other autoimmune disorders. Aquaporin 5 (AQP-5) is a water-channel protein involved in transport of water across cell membranes. Recently there has been considerable interest in the possibility that an abnormal distribution of AQP-5 can contribute to decrease lacrimation and salivary flow in SS patients and therefore that studying the distribution of AQP-5 could help in the diagnosis of SS.

Objective: Evaluate the distribution of AQP-5 in minor salivary gland (MSG) biopsies

Material and Methods: MSG biopsies were performed in primary SS patients, secondary SS patients and healthy control. The tissue sample was fixed in formaldehyde for 24 hours, included in paraffin and stained in hematoxylin and eosin. Samples were analyzed identifying foci of inflammatory infiltrate and the immunohistochemistry was performed to observe the distribution of AQP-5 in each group.

Results: The distribution of AQP-5 was similar between groups. In primary SS patients, 29% showed an apical distribution of AQP-5, 68% showed a diffuse distribution (aquaporin was observed throughout the cytoplasm) and only 3% of the group showed a basalolateral distribution. In secondary SS patients 48% showed an apical distribution of AQP-5 and 52% showed a diffuse distribution. And in the healthy control group, 29% showed an apical distribution of AQP-5 and 71% showed a diffuse distribution.

Conclusion: There is no differences in the distribution of aquaporin-5 in the acinar cells of primary SS patients, secondary SS patients, and healthy control.

Key Words: sjögren syndrome, diagnostic, aquaporins, aquaporin-5.

1. INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Sjögren (SS) es una de las enfermedades reumáticas más comunes, caracterizada por un infiltrado linfocitario marcado en las glándulas salivales y lagrimales. Como una característica clínica general, los pacientes con SS, presentan xerostomía y xeroftalmia, debido a una secreción insuficiente de saliva y lágrimas (Fox RI, 2005; Ohashi et al., 2008).

El diagnóstico del SS es complicado por la variedad de síntomas que el paciente puede presentar, y su similitud con los síntomas de otras enfermedades autoinmunes. El método diagnóstico más confiable y aceptado para el diagnóstico del SS es la biopsia de glándulas salivales (Ibtisam Al-Hashimi., 1998).

La biopsia usualmente se toma de las glándulas salivales menores localizadas en el labio inferior y muestran un infiltrado linfocitario con una disminución en el número de acinos y metaloproteinasas asociadas a la destrucción glandular (Azuma et al., 1997; Colella et al., 2010).

Hasta el momento la idea preestablecida para diagnosticar a un paciente con SS a través de una biopsia se traduce en la presencia de sialoadenitis linfocitaria focal, con un valor ≥ 1 , definido como un número de linfocitos por foco por 4 mm² de tejido glandular. Sin embargo, el número de linfocitos es tan pequeño en las etapas tempranas de la enfermedad que no siempre puede ser detectado (Vitali C et al., 2002).

Recientemente ha habido un considerable interés en la posibilidad de que una proteína específica de los canales de agua de las membranas, la acuaporina 5 (AQP-5), pueda contribuir a los síntomas secos del SS (Soyfoo et al., 2007).

La AQP-5 se presenta, en mayor cantidad, en la membrana apical de las células acinares y participa en el transporte de agua a través del epitelio glandular (Agre et al, 1995; Toshiyuki et al, 2009).

La distribución de AQP-5 en glándulas salivales menores de pacientes sanos y pacientes con SS ha sido estudiada y se ha sugerido que en los pacientes con SS existe una distribución anormal de AQP-5 (Steinfeld et al., 2001).

La distribución anormal de AQP-5 observada en las glándulas salivales menores fue específica de los pacientes con SS, porque otras patologías asociadas con xerostomía como la sialoadenitis y la sarcoidosis, mostraron una distribución similar a la del grupo control.

Por tanto, su estudio podría ir encaminado a facilitar el diagnóstico temprano de esta enfermedad.

2. HIPÓTESIS

Hi: Los pacientes positivos a Síndrome de Sjögren, de acuerdo con los criterios Europeos para su clasificación, presentan una alteración en la distribución de acuaporina 5

Ho: Los pacientes positivos a Síndrome de Sjögren, de acuerdo con los criterios Europeos para su clasificación, no presentan una alteración en la distribución de acuaporina 5.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la distribución de la acuaporina 5 en biopsias de glándulas salivales menores.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la positividad de SS por la presencia de células inflamatorias a través de biopsias de glándulas salivales menores.
- Analizar la distribución de acuaporina 5 por medio de la inmunohistoquímica de biopsias de glándulas salivales menores de pacientes con SS primario y secundario
- Relacionar el grado de inflamación con la distribución de acuaporina 5 en pacientes con SS primario y secundario.

4. ANTECEDENTES

4.1 Síndrome de Sjögren

La xerostomía es una queja frecuente en los pacientes adultos y se define como la sequedad de la boca causada por una disminución o ausencia de la secreción salival. Una de las principales causas de la xerostomía es el Síndrome de Sjögren (SS) (Eveson JW, 2008).

El SS es una enfermedad inflamatoria crónica, caracterizada por el desplazamiento de la estructura acinar por un infiltrado linfocitario marcado en las glándulas salivales y lagrimales (Daniel TE, 1984).

4.1.1 Epidemiología

El SS es la enfermedad reumática más común después de la artritis reumatoide, afectando aproximadamente 1% de la población. Se estima que su prevalencia es de 1-4 millones de pacientes en Estados Unidos. (Al-Hashimi I et al., 1998, 2001; Fox RI, 2005; Hu et al., 2010).

Se encuentra con mayor frecuencia en las mujeres de mediana edad que en los hombres, con una relación de 9:1 (Manthorpe et al., 1997; Al-Hashimi I et al., 2001; Hu et al., 2010; Hammi AR et al., 2005; Mathews SA et al., 2008).

4.1.2 Síntomas

Los síntomas más comunes del SS incluyen cansancio extremo, xerostomía y xeroftalmia. Estos síntomas ocurren debido a una disminución en la secreción de las glándulas salivales y lagrimales. Otros síntomas relacionados con la enfermedad incluyen inflamación de las glándulas salivales y una mayor predisposición de caries y enfermedad periodontal (Mignona et al., 2005).

El SS también tiene un impacto en el sistema nervioso central y periférico, y puede afectar los músculos, médula ósea, articulaciones, riñones, páncreas y otros órganos. (Alexander et al., 1986; Mathews SA, 2008).

Se ha observado que entre las manifestaciones extraglandulares también se encuentra el linfoma, que aparece en un tercio de los pacientes con SS (Ryu et al., 2006).

4.1.3 Clasificación

El SS puede ser primario cuando solo se presenta la enfermedad (los pacientes presentan xerostomía y xeroftalmia), o secundario cuando se asocia con una enfermedad del tejido conectivo. La enfermedad de tejido conectivo más comúnmente asociada con el SS es la artritis reumatoide pero otras enfermedades pueden también estar asociadas (Alhashimi I et al., 1998; Hammi et al., 2005; Eveson JW, 2008).

Entre las enfermedades reumáticas asociadas con el SS se incluyen:

- Artritis reumatoide
- Lupus eritematoso sistémico (SLE).
- Esclerosis progresiva sistémica
- Enfermedad mixta del tejido conectivo
- Dermatomiositis
- Poliarteritis nodosa
- Fenómenos de Reynaud's

4.2 Diagnóstico

El diagnóstico del SS es complicado por la variedad de síntomas que el paciente puede presentar, y su similitud con los síntomas de otras enfermedades autoinmunes (Hu et al., 2010).

El diagnóstico de SS primario requiere de 4 a 6 criterios, incluyendo una biopsia positiva de glándulas salivales menores o anticuerpos para SSA/SSB. Las

pruebas sanguíneas pueden determinar si un paciente tiene altos niveles de anti-Ro/SSA y anti-La/SSB. El anti-La/SSB es más específico pero tiene una baja sensibilidad y el anti-Ro/SSA es más sensible pero está asociado con otras enfermedades autoinmunes.

El diagnóstico del SS secundario requiere una enfermedad del tejido conectivo establecida y el síntoma seco.

En 1996 el Grupo Europeo para el estudio del SS propuso unos criterios diagnósticos, que se mantienen vigentes hasta la fecha. Los criterios incluían 6 datos: (1) síntomas oculares, (2) síntomas orales, (3) evidencia de queratoconjuntivitis seca (4) biopsia de glándula salival menor demostrando la presencia de sialoadenitis con infiltración linfocitaria, (5) demostración de disfunción de glándula salival mediante sialografía o sialometría y (6) la presencia de anticuerpos SS-A o SS-B. Se establece el diagnóstico cuando se cumplen 4 de los 6 criterios. Sin embargo, en la práctica clínica, la presencia de una clínica sugestiva junto con una biopsia de glándula salival menor compatible se consideran suficientes ^{(Vitali C et al., 1994, 1996, 2002).}

Recientemente se ha propuesto un nuevo criterio diagnóstico que incluye: (1) Presencia de anticuerpos SS-A y SS-B o factor reumatoide positivo (ANA \geq 1:320), (2) Tinción ocular \geq 3, (3) Presencia de sialoadenitis linfocitaria focal con un valor \geq 1, definido como un número de linfocitos por foco por 4 mm² de tejido glandular, en biopsias de glándulas salivales menores. El diagnóstico de SS requiere dos de los criterios anteriores ^{(Shiboski SC et al., 2012).}

4.2.1 Métodos Diagnósticos

Sialografía

En la sialografía la estructura de una glándula salival mayor se demuestra mediante la introducción de un medio de contraste radiopaco en el conducto principal. La mayoría de los departamentos radiológicos usan soluciones iónicas como el Diatrizoato o Metrizoato. Estos contienen yodo por lo que el

procedimiento no debe llevarse a cabo en pacientes alérgicos al mismo. En el síndrome de Sjögren se observan radiográficamente áreas de destrucción conocidas como sialectasis (Whaites E, 2007).

La Sialografía es un método sensible y específico para el diagnóstico de Síndrome de Sjögren (Kalk WW et al, 2002)

Las desventajas de la sialografía convencional es que es limitada a una de las glándulas y da una imagen estática en lugar de una evaluación funcional. Además, aunque la dosis es relativamente baja, los pacientes están expuestos a la radiación (Whaites E, 2007).

Ultrasonido

El ultrasonido es un estudio no invasivo y relativamente rápido. En el Síndrome de Sjögren avanzado, las imágenes de ultrasonido muestran que las glándulas salivales no son homogéneas y contienen un número variable de áreas pequeñas y ovaladas. Además, se puede aumentar el flujo sanguíneo del parénquima. Sin embargo, estas características no son específicas. El ultrasonido puede ser un método útil cuando las glándulas salivales o los ganglios linfáticos del cuello se agrandan y el diagnóstico es incierto (Bialek EJ et al, 2006)

Resonancia magnética

La resonancia magnética muestra cambios característicos en la intensidad de la señal que son específicos para el síndrome de Sjögren.

La técnica es no invasiva. Sin embargo, los pacientes están encerrados en la máquina, lo cual suele ser incómodo y más en pacientes con claustrofobia. Además, la resonancia magnética es cara y puede haber un tiempo de espera (Takashima S et al., 1991).

Biopsia

El método diagnóstico más confiable y aceptado para el diagnóstico de Síndrome de Sjögren es la biopsia de glándulas salivales (Al-Hashimi et al., 2001).

Una biopsia de glándulas salivales menores o de glándula parótida pueden revelar linfocitos atrapados alrededor de las glándulas salivales y daño de las glándulas debido a la inflamación.

La imagen microscópica de una biopsia de glándula salival de pacientes con SS provee información valiosa con respecto a la gravedad de la enfermedad en la glándula salival. También descarta otras enfermedades de glándulas salivales que tienen características clínicas similares al SS.

La biopsia usualmente se toma de las glándulas salivales menores localizadas en el labio inferior y muestran un infiltrado linfocitario con una disminución en el número de acinos y metaloproteinasas asociadas a la destrucción glandular (King et al., 1996; Azuma et al., 1997; Colella et al., 2010).

La desventaja de la biopsia para diagnosticar el SS es que el número de linfocitos es tan pequeño en las etapas tempranas de la enfermedad que no siempre puede ser detectado (Vitali C et al., 2002).

4.3 Acuaporina 5

El descubrimiento reciente de una familia de proteínas específicas de los canales de agua de las membranas, las acuaporinas, proveen información acerca del mecanismo molecular de la permeabilidad de la membrana en una variedad de tejidos (Borgnia et al., 1999).

Las acuaporinas permiten el rápido movimiento de agua transcelular en respuesta a la presión osmótica (Ishibashi et al., 2011).

Hasta la fecha se han identificado 13 isoformas de las acuaporinas en los mamíferos (AQP0-AQP12) (King and Yasui, 2002; Ishibashi et al., 2011).

Las acuaporinas son ampliamente distribuídas entre los órganos excretores de agua como el riñón y las glándulas exocrinas (Tabla 1). (Matsuzaki et al., 2002, 2005, 2009, 2011, 2012; Takata et al., 2004).

Tabla 1. Distribución de las acuaporinas en los tejidos (Toshiyuki et al, 2009)

Isoforma	Distribución
AQP0	Ojos
AQP1	Capilares, eritrocitos, riñón
AQP2	Riñón
AQP3	Riñón, epitelio urinario, piel, epitelio digestivo, epitelio respiratorio, ojos
AQP4	Riñón, estómago, epitelio respiratorio, cerebro
AQP5	Glándulas salivales, epitelio respiratorio, glándulas lagrimales, glándulas sudoríparas
AQP6	Riñón
AQP7	Riñón, testículo, músculo esquelético
AQP8	Incierto
AQP9	Hígado, cerebro
AQP10	Incierto
AQP11	Riñón, hígado, testículo, timo, cerebro
AQP12	Páncreas

La acuaporina 5 (AQP-5) fue encontrada en glándulas salivales, lagrimales y en los pulmones de ratas, sugiriendo un papel en la generación de saliva, lágrimas y secreciones pulmonares. También se ha observado en las glándulas pilóricas en el estómago, en las glándulas duodenales y en las glándulas sudoríparas (Raina et al., 1995; Matsuzaki et al., 1999, 2003; Takata et al., 2004).

La AQP-5 se presenta, en mayor cantidad, en la membrana apical de las células acinares y participa en el transporte de agua a través del epitelio glandular (Agre et al., 1995; He et al., 1997; Tsubota et al., 2001; Matsuzaki et al., 2009).

Se ha observado una disminución de la secreción salival en ausencia de la AQP-5, confirmando su importancia fisiológica en la función glandular (Ma et al., 1999).

La distribución de la AQP-5 en glándulas salivales menores de pacientes sanos y pacientes con SS ha sido estudiada y se ha sugerido que en los pacientes con SS existe una distribución anormal de la AQP-5. En pacientes sanos, la expresión de hAQP5 fue localizada en la membrana apical de las células acinares, mientras que en pacientes con SS predominó en la membrana basal (Steinfeld et al., 2001).

La distribución anormal de AQP-5 observada en las glándulas salivales menores fue específica de los pacientes con SS, porque otras patologías asociadas con xerostomía como la sialoadenitis y la sarcoidosis, mostraron una distribución similar a la del grupo control.

5. DISEÑO

5.1 Número de Muestras a Estudiar

Según el problema propuesto y los objetivos planteados, la presente investigación es de tipo:

- Comparativo - Casos y controles
Se comparó la distribución de la acuaporina 5 en pacientes con SS primario, SS secundario y pacientes sanos.

5.2 Conocimiento de los Investigadores en los Factores del Estudio:

- Abierto
Se conocen las variables del experimento.

5.3 Participación del Investigador:

- Observacional
El investigador no modifica los eventos estudiados.

5.4 Tiempo en que Suceden los Eventos:

- Prospectivo
El estudio y análisis histopatológico e inmunohistoquímico se determinó por medio de biopsias de glándulas salivares menores realizadas en pacientes con SS primario, pacientes SS secundario y pacientes sanos.

5.5 Relación que Guardan entre sí los Datos:

- Transversal
La recolección de datos se realizó sólo una vez por cada paciente.

5.6 Pruebas de Diagnóstico para medir Sensibilidad y Especificidad

- **Clínico - Laboratorio**
Los pacientes fueron diagnosticados, según los Criterios Diagnósticos Europeos para su clasificación, en el Departamento de Reumatología del Hospital Universitario "José Eleuterio González", a través de observaciones clínicas y de laboratorio que incluyeron la evaluación de la función de las glándulas salivales y lagrimales y exámenes de sangre para determinar la presencia de los anticuerpos antinucleares SS-A (Ro), SS-B (La) y/o Factor Reumatoide positivo.
- **Histopatológico**
Se evaluó los focos linfocitarios y el grado de inflamación en los cortes histológicos, categorizados como leve moderado y severo.
- **Inmunohistoquímico**
Mediante la evaluación de la distribución de AQP-5 en la células acinares de las glándulas salivares menores.

5.7 Estudios para Medir la Asociación:

- **Análisis Morfométrico**
En campos microscópicos en base a la presencia y distribución de AQP-5 en la membrana basal o apical de las células acinares de las glándulas salivares menores.
- **Análisis Estadístico**
La prueba de chi cuadrada fue utilizada para evaluar la hipótesis en el sentido de relación entre dos variables (grado de inflamación y grupo de estudio especificado en el nivel de SS de los pacientes evaluados).

6. MÉTODOS

6.1 Universo del Estudio:

Se evaluaron 64 pacientes, los cuales fueron previamente diagnosticados en el departamento de Reumatología del Hospital Universitario y posteriormente evaluados en el Posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología, UANL

Determinación del tamaño de la muestra: Por las condiciones de la variable a evaluar del tipo cuantitativa (Clasificación del Síndrome de Sjorgen) donde además, se trata de una población infinita se estima el tamaño de la muestra con la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{z^2 p(1-p)}{e^2}$$

Para el presente proyecto se determinaron los siguientes valores que fueron aplicados para determinar el tamaño de la muestra:

$z = 1.96$ para 95% confiabilidad

$p = 0.60$

$e = 0.12$

Para obtener el tamaño de la muestra se sustituyen los valores y se obtiene que:

$$n = \frac{(1.96)^2(0.60)(0.40)}{(0.12)^2} \quad n = 64.01 \approx 64$$

De aquí se obtiene que el número total de pacientes que conformaron el estudio fue de 64 los cuales fueron distribuidos en 3 grupos. Uno de 34 pacientes con SS primario, 23 con SS secundario y 7 sanos; fueron elegidos mediante los criterios de inclusión y exclusión definidas para el presente estudio.

A cada paciente se le realizó una biopsia de glándulas salivares menores para su análisis.

6.2 Forma de asignación de casos a los grupos de estudio:

- Secuencial:
Los casos se fueron integrando a los distintos grupos conforme a como eran diagnosticados por el departamento de Reumatología del Hospital Universitario.

6.3 Características del grupo control y del grupo experimental:

Se evaluaron a los pacientes pertenecientes a cada grupo, todos los pacientes eran de mediana edad.

Siguiendo los protocolos que proponen Dawes y Navazesh en sus estudios sobre el diagnóstico de la hipofunción glandular y/o xerostomía, todos los pacientes fueron instruidos con indicaciones precisas que consistían en no tomar ningún líquido o alimento 2 horas previas a la cita, no cepillarse los dientes, no fumar, suspender cualquier tipo de medicación ocho horas antes, con la autorización por escrito de su médico (Navazesh et al., 2009).

Se siguió el mismo protocolo para los pacientes del grupo control.

Se realizó una biopsia de glándulas salivales menores, localizadas en la parte interna del labio correspondiente a la mucosa oral. Para esto se procedió a anestesiarse al paciente de manera local con Articaina con Epinefrina 1/100,000. Con una hoja de bisturí N° 15 se realizó una incisión en sentido postero-anterior a la altura de canino y se hizo presión desde la parte externa del labio del paciente para estimular la salida de la glándula. Una vez ubicada se tomó la glándula con una pinza de Corn y con la hoja de bisturí se cortó la misma. Posteriormente, se

suturó con Seda negra 4-0, puntos directos. Se colocó la muestra de tejido en formaldehído por 24 horas para fijarlo.

Protocolo para el Estudio Histológico

1.- Fijación de las Piezas

Todas las piezas obtenidas mediante biopsia labial de glándulas salivales menores se fijaron por inmersión en formol neutro al 4%, durante 24 horas.

2.- Inclusión, Microtoma y Tinciones Histológicas

Las biopsias fueron incluidas en su totalidad en cassetes para proceder a la inclusión en parafina en el procesador de tejidos automatizado, lo que permitió realizar la deshidratación de las secciones fijadas mediante pases consecutivos en alcohol de menor a mayor concentración y aclarado posterior en xileno. Finalmente, las secciones tisulares se incluyeron en parafina líquida durante dos horas.

Una vez realizados los bloques de parafina, se obtuvieron cortes seriados de 4 μ m de espesor, y las secciones se desparafinizaron en xilol, se hidrataron en alcoholes de concentraciones decrecientes y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (HyE), siguiendo los métodos histológicos habituales. Las preparaciones recién teñidas se aclararon en agua destilada. Como método de montaje para todas las técnicas histológicas se utilizó la resina sintética Entellan.

3.- Método Inmunohistoquímico de la Expresión Proteica

Para estudiar la expresión de la AQP-5 en las biopsias de glándula salival menor, se utilizó, en primer lugar, el método inmunohistoquímico de Estreptavidina-Biotina-Peroxidasa, con el fin de hacer en tejido de control una evaluación previa de las condiciones metodológicas específicas para al anticuerpo usado.

En todos los casos, la recuperación antigénica se hizo mediante buffer de recuperación y baño de calor.

La técnica de inmunohistoquímica se realizó mediante el complejo de estreptoavidina-biotina con bloqueo de la peroxidasa endógena e inmunotinción con el anticuerpo Aquaporin-5 marca Abcam, lote 516, catálogo ab92320 a una dilución de 1:100, utilizando como control tejido renal. Se colorearon con hematoxilina de Harris como contratinción, se lavaron y deshidrataron con la técnica histológica habitual y se montaron para su observación con entellan.

Interpretación de resultados

Después se interpretaron los resultados a través del microscopio de luz utilizando aumentos de 10X y 40X.

Se comparó la distribución de la AQP-5 en los diferentes grupos y se correlacionaron para determinar finalmente si los resultados obtenidos son significativos y se pueda dar respuesta a la hipótesis.

6.4 Diseño estadístico

El modelo estadístico analítico del presente proyecto consistió en la aplicación de pruebas de bondad para 2 variables, posterior a este modelo se procedió a realizar un modelo analítico para verificación de pruebas de hipótesis, considerando los datos presentados en el objetivo general, el modelo correspondió a la aplicación de prueba de bondad de ajuste o de Chi cuadrada.

La prueba de chi cuadrada fue utilizada para evaluar la hipótesis en el sentido de relación entre dos variables (grado de inflamación y grupo de estudio especificado en el nivel de SS de los pacientes evaluados).

Dicha prueba, la cuál fue evaluada con un 95% de confiabilidad, se utilizó para determinar la relación entre las variables y se realizó bajo la siguiente estadística de prueba:

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_{io} - f_{ie})^2}{f_{ie}}$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(|f_{io} - f_{ie}| - 0.5)^2}{f_{ie}}$$

6.5 Criterios de Selección

6.5.1 Criterios de Inclusión:

- Pacientes de ambos sexos
- Pacientes entre 30 y 70 años
- Pacientes con SS primario
- Pacientes con SS secundario

6.5.2 Criterios de Exclusión:

- Pacientes que estuvieran tomando algún medicamento
- Pacientes sanos

6.5.3 Criterios de Eliminación:

- Pacientes que no acudían a sus citas
- Pacientes que rechazaron la toma de la biopsia

7. RESULTADOS

Se evaluaron 64 pacientes: 34 pacientes con SS primario, 23 pacientes con SS secundario y 7 pacientes sanos como grupo control, con un rango de edad de 30 a 80 años.

Tabla 1
Estadística descriptiva de la edad entre los grupos de estudio, Junio de 2015

	Sano	Síndrome de Sjögren 1	Síndrome de Sjögren 2
Media	44.86	52.15	53.65
IC 95%	31.22 58.50	48.04 56.25	48.20 59.10
Mediana	53.00	47.50	54.00
Varianza	217.48	138.31	158.87
Desviación estándar	14.75	11.76	12.60
Mínimo	26.0	33.0	31.0
Máximo	59.0	74.0	80.0
Rango	33.0	41.0	49.0
Kruskal-Wallis		1.503	
Valor p		0.472	

Los pacientes evaluados presentaban una edad promedio de: 45 años, los pacientes sanos; 52 años, los pacientes con SS1; y 54 años, los pacientes con SS2.

Tabla 2
Género y grupo de estudio de los pacientes evaluados, Junio de 2015

	Sanos		SSI		SS II		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Femenino	6	85.71	34	100.00	23	100.00	63	98.44
Masculino	1	14.29	0	0.00	0	0.00	1	1.56
Total	7	100	34	100	23	100	64	100

$X^2=8.27$, $p=0.102$

De los 64 pacientes evaluados, 63 pacientes fueron de sexo femenino y 1 paciente fue de sexo masculino.

Tabla 3

Inflamación y grupo de estudio de los pacientes evaluados, Junio de 2015

	Sanos		SSI		SS II		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Ausente	1	14.29	2	5.88	0	0.00	3	4.69
Leve	5	71.43	19	55.88	13	56.52	37	57.81
Moderada	1	14.29	7	20.59	7	30.43	15	23.44
Severa	0	0.00	6	17.65	3	13.04	9	14.06
Total	7	100	34	100	23	100	64	100

$\chi^2=4.97$, $p=0.370$

En la evaluación del grado de inflamación entre los grupos se observó que los pacientes con SS1 mostraron inflamación leve en el 55.88% de los casos, inflamación moderada en el 20.59%, inflamación severa en el 17.65 % y no se observó inflamación en el 5.88% de los casos. Por otro lado, en los pacientes con SS2 se observó inflamación leve en el 56.52% de los casos, inflamación moderada en el 30.43% e inflamación severa en el 13.04% de los casos.

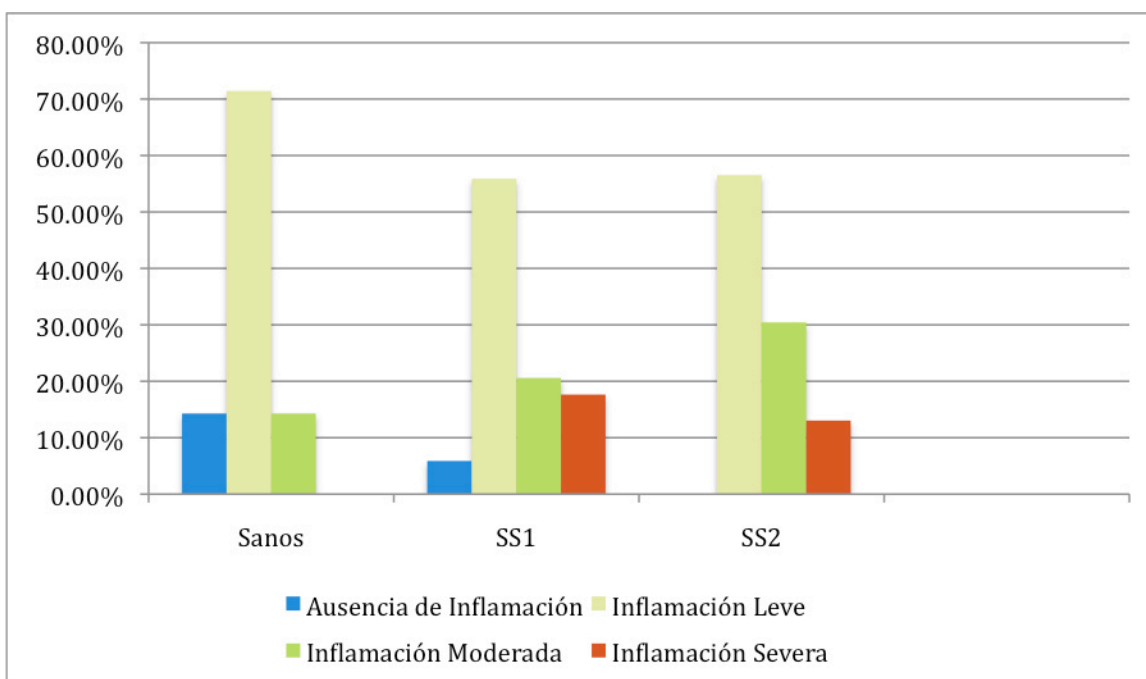


Tabla 4

Distribución de la AQP-5 y grupo de estudio de los pacientes evaluados, Junio de 2015

	Sanos		Síndrome de Sjögren I		Síndrome de Sjögren II		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Positiva Apical	2	28.57	10	29.41	11	47.83	23	35.94
Positiva Basal	0	0.00	1	2.94	0	0.00	1	1.56
Positiva Difusa	5	71.43	23	67.65	12	52.17	40	62.50
Total	7	100	34	100	23	100	64	100

Al evaluar la distribución de AQP-5 por medio de la inmunohistoquímica, se observó una distribución de AQP-5 similar entre los grupos. En los pacientes con SS1 el 29% presentó una distribución apical, el 68% presentó una distribución difusa (la acuaporina se observó en todo el citoplasma) y solamente el 3% presentó una distribución basal; en los pacientes con SS2 el 48% presentó una distribución apical y el 52% una distribución difusa; y en los pacientes sanos el 29% presentó una distribución apical y el 71% una distribución difusa de AQP5.

Gráfico 2. Distribución de la AQP-5 en pacientes con SS primario, SS secundario y pacientes sanos.

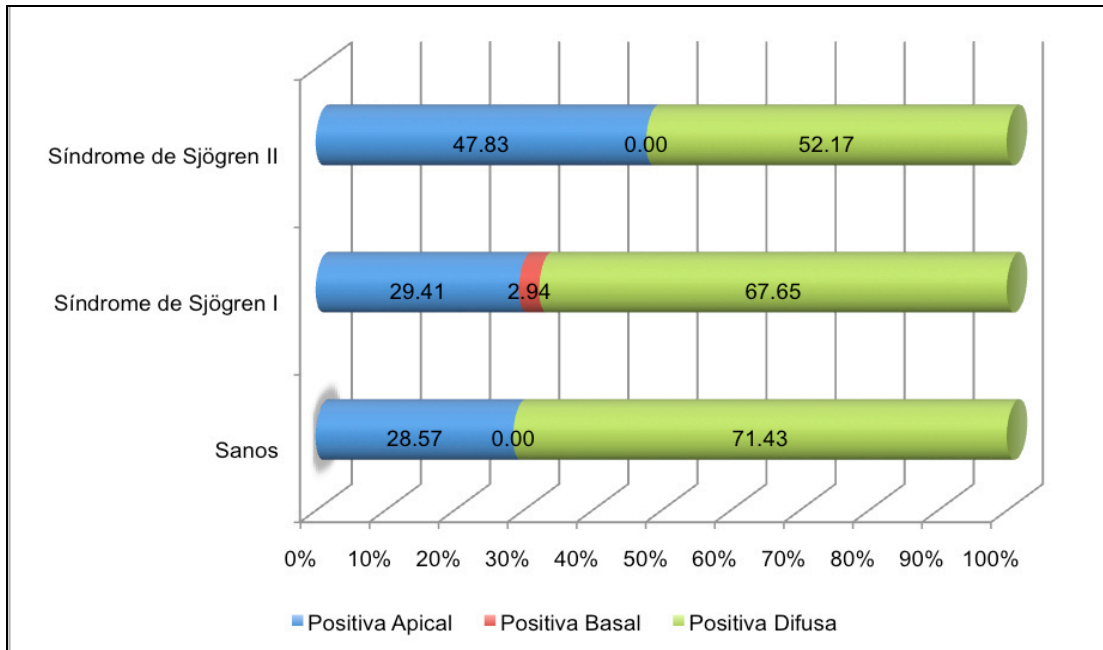
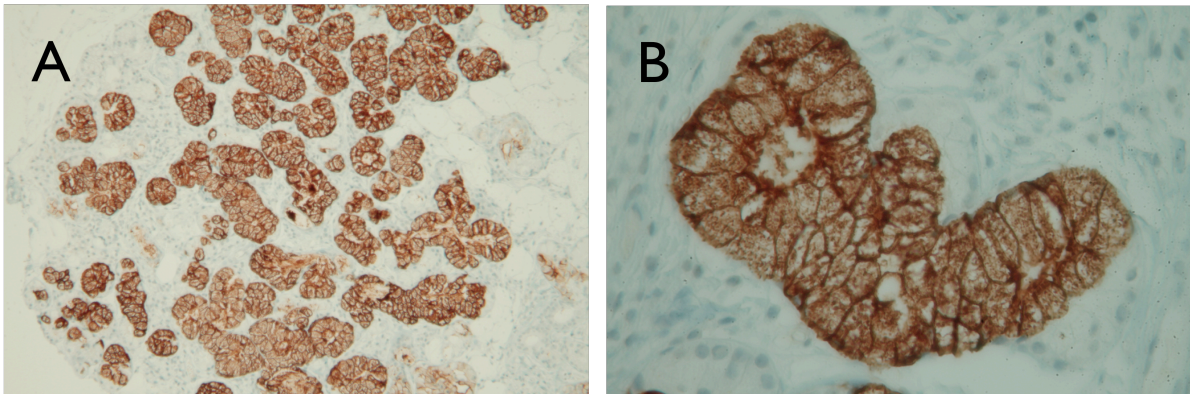
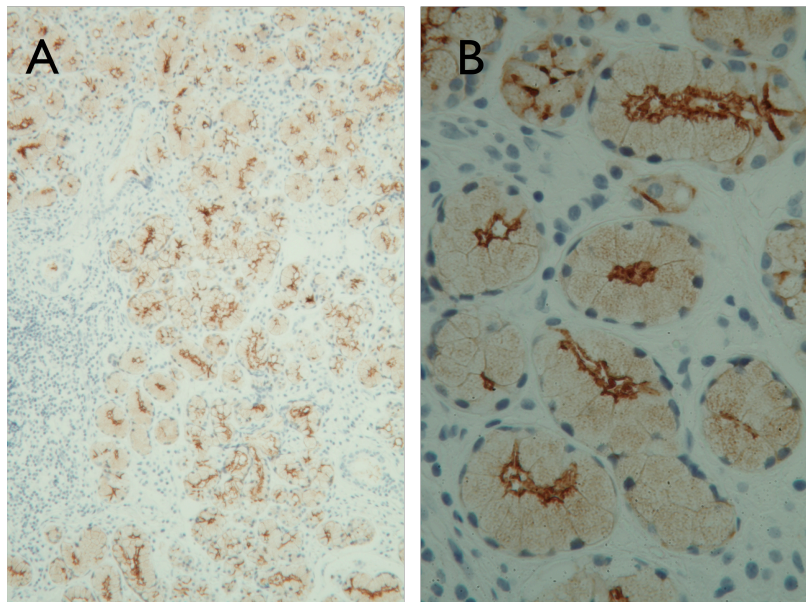


Figura 1. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente con SS primario (A: 10X; B: 40X).



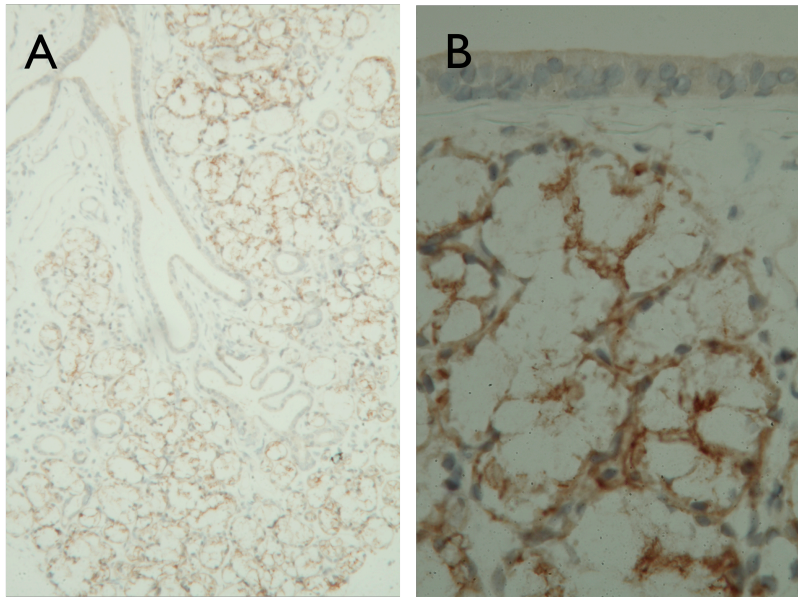
La AQP-5 presenta una distribución difusa, pues se observa en todo el citoplasma.

Figura 2. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente con SS primario (A: 10X; B: 40X).



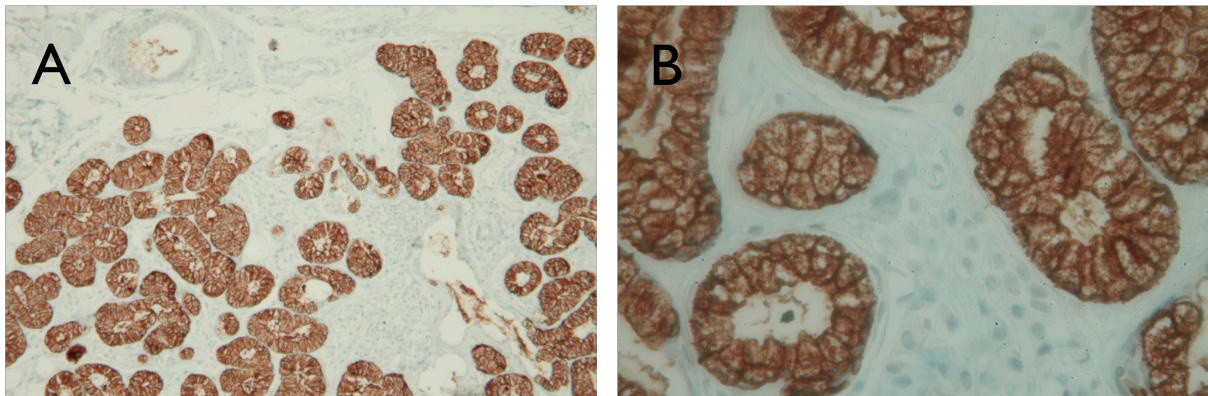
La AQP-5 se observa en la membrana apical de las células acinares.

Figura 3. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente con SS primario (A: 10X; B: 40X).



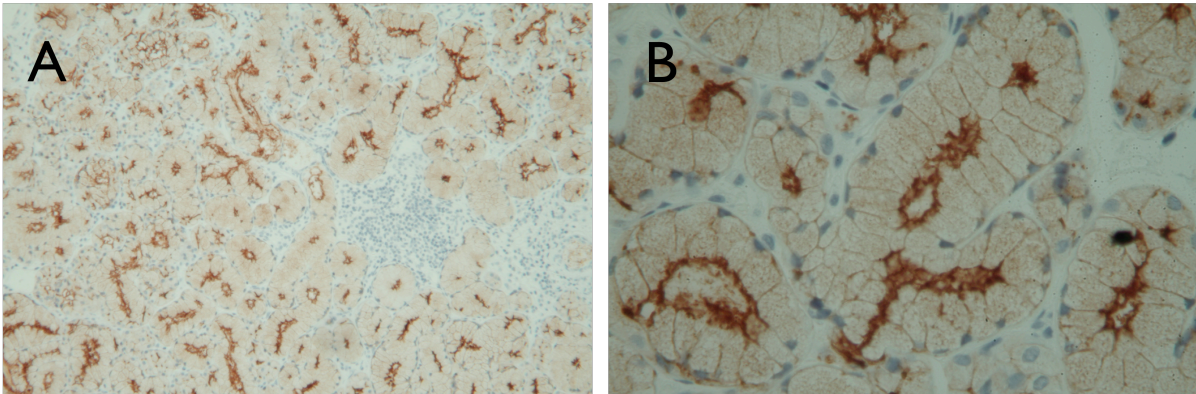
La AQP-5 se observa en la membrana basal de las células acinares.

Figura 4. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente con SS secundario (A: 10X; B: 40X).



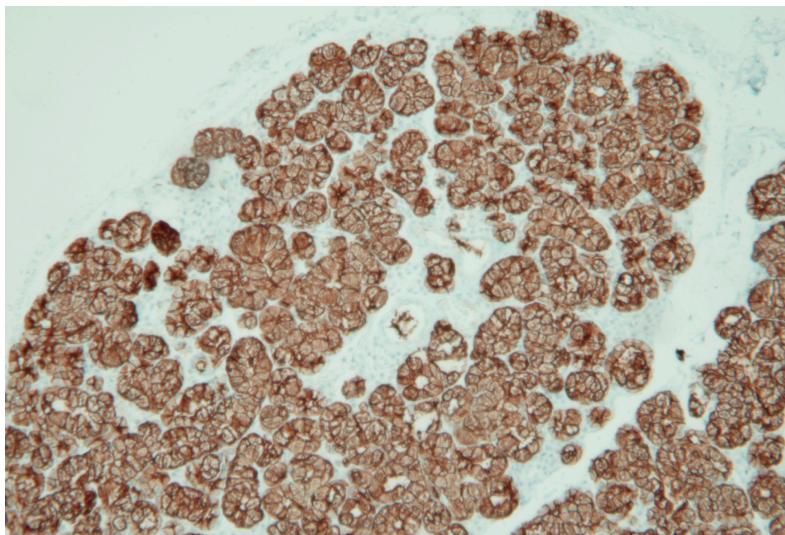
La AQP-5 presenta una distribución difusa, pues se observa en todo el citoplasma.

Figura 5. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un con SS secundario (A: 10X; B: 40X).



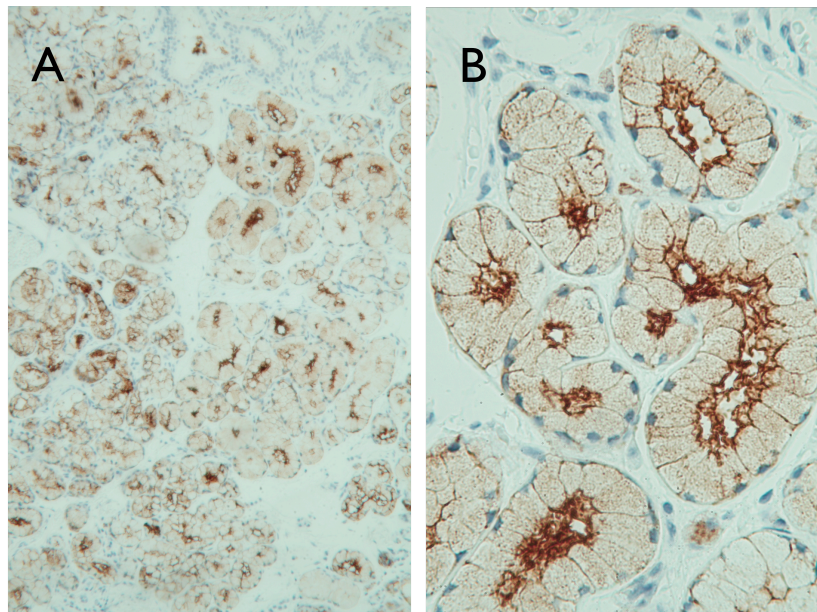
La AQP-5 se observa en la membrana apical de las células acinares.

Figura 6. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente sano (10X).



La AQP-5 presenta una distribución difusa, pues se observa en todo el citoplasma.

Figura 7. Localización inmunohistoquímica de la AQP-5 en MSG de un paciente sano (10X).



La AQP-5 se observa en la membrana apical de las células acinares.

El análisis estadístico permite concluir que no existe relación significativa entre la distribución de AQP-5 y el grupo de estudio según el nivel del SS ($p=0.571$). Se observó además que el grupo de estudio no se encuentra significativamente relacionado con el grado de inflamación gingival ($p=0.370$) ni con la presencia de atrofia ($p=0.901$).

Se acepta la hipótesis de nulidad y se rechaza la hipótesis de investigación.

8. DISCUSIÓN

El diagnóstico del SS es complicado por la variedad de síntomas que el paciente puede presentar, y su similitud con otras enfermedades autoinmunes ^(Hu et al., 2010).

La AQP-5 fue encontrada en glándulas salivales, lagrimales y en los pulmones de ratas, sugiriendo un papel en la generación de saliva, lágrimas y secreciones pulmonares ^(Raina et al., 1995; Takata et al., 2004).

Se ha pensado que la AQP-5 juega un papel importante en la patogénesis del SS ya que participa en el transporte de agua y se encuentra presente en las glándulas salivales y lagrimales ^(Matsuzaki et al., 2012).

Recientemente ha habido un considerable interés en la posibilidad de que una distribución anormal de AQP5 pueda contribuir a los síntomas secos del SS, y que por tanto su estudio vaya encaminado a facilitar el diagnóstico de esta enfermedad ^(Soyfoo et al., 2007).

La presente investigación tenía por objetivo la evaluación de la distribución de AQP-5 en biopsias de glándulas salivales menores, como herramienta para el diagnóstico de Síndrome de Sjögren.

En este estudio se observó que la distribución de la AQP-5 no varía en las glándulas salivales de pacientes con SS.

En todo los grupos predominó una distribución difusa de la AQP-5, es decir, se observó en todo el citoplasma. En el resto de los pacientes se observó una distribución apical. Los pacientes con SS2 y pacientes sanos no presentaron AQP-5 en la membrana basal. Sólomente el 3% de los pacientes con SS1 presentaron una distribución basal.

Los estudios de la distribución de AQP5 en pacientes con SS muestran resultados variados.

Algunos estudios han reportado cambios en la distribución de AQP-5 en las glándulas salivales de pacientes con SS (Steinfeld et al., 2001; Konttinen et al., 2005).

Steinfeld et al. reportaron que la AQP-5 se presentaba en la membrana basal de las células acinares en biopsia de glándulas salivales menores en pacientes con SS, y en la membrana apical en pacientes sanos (Steinfeld et al; 2001)

Asi mismo, se ha reportado una distribución anormal de AQP-5 en las glándulas lagrimales de modelos de ratas con SS (Ohashi et al., 2008).

Por otro lado, Tsubota et al. no reportaron presencia de AQP-5 en la membrana basal de las células acinares, pero observaron una concentración citoplasmática aumentada en los acinos de las glándulas lagrimales de pacientes con SS primario (Tsubota et al; 2001).

Beroukas et al, utilizando la técnica de inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa para evaluar la expresión y localización subcelular de la AQP-5, mostraron que no existe diferencias en la distribución de AQP-5 en pacientes sanos y pacientes con SS. La AQP-5 presentó una distribución apical tanto en pacientes sanos, como en pacientes con SS. Sin embargo, la técnica de inmunoperoxidasa también mostró AQP-5 en la membrana basolateral y en el citoplasma de las células acinares (Beroukas et al; 2001).

Nishimura et al. mostraron que la AQP-5 se localiza no solo en la membrana apical, sino también en el citoplasma de pacientes con SS. Además reportaron que la administración de Cevimelina, que es comúnmente usada en pacientes con SS para estimular la producción de saliva y lágrimas, contribuye a la acumulación de la AQP-5 en la membrana apical (Nishimura et al; 2009).

9. CONCLUSIONES

No existe diferencia en la distribución de AQP-5 en las células acinares de pacientes con SS1, pacientes con SS2 y pacientes sanos. En todo los grupos predominó una distribución difusa de la AQP-5, es decir, se observó en todo el citoplasma. En el resto de los pacientes se observó una distribución apical. Los pacientes con SS2 y pacientes sanos no presentaron AQP-5 en la membrana basal. Sólomente el 3% de los pacientes con SS1 presentaron una distribución basal.

La hipótesis de que la distribución de la AQP-5 podría contribuir con el diagnóstico del SS debe ser reevaluada y se deben investigar métodos diagnósticos alternativos.

10. INFORMACIÓN PERSONAL

Dania Paola Santamaría Linares.
Zapopan 4268, Los Cedros, Monterrey, N.L., México
Facultad de Odontología UANL. Posgrado de Periodoncia e Implantología Oral
dania_pao@hotmail.com

BIBLIOGRAFÍA CITADA

Al-Hashimi I, Haghghat N, Fox PC. 1998. Salivary electrophoresis in the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 85: 542-7

Al-Hashimi I. 2001. The management of Sjögren's syndrome in dental practice. *J Am Dent Assoc.* 32: 1409-17

Alexander EL, Malinow K, Lejewski JE, Jerden MS, Provost TT, Alexander GE. 1986. Primary Sjögren's syndrome with central nervous system disease mimicking multiple sclerosis. *Ann Intern Med.* 104: 323-330.

Anttila SS, Knuutila ML, Sakki TK. 1998. Depressive symptoms as an underlying factor of the sensation of dry mouth. *Psychosom Med.* 60: 215.

Agre P, Brown D, and Nielsen S. 1995. Aquaporin water channels: Unanswered questions and unresolved controversies. *Curr Opin Cell Biol,* 7: 472-483

Azuma M, Motegi K, Aota K, Hayashi Y, and Sato M. 1997. Role of cytokines in the destruction of acinar structure in Sjögren's syndrome salivary glands. *Lab invest.* 77: 269-280.

Baldini C, Giusti L, Ciregia F, Da Valle Y, Giacomelli C, Donadio E, Sernissi F, Bazzichi L, Giannaccini G, Bombardieri S, Lucacchini A. 2011. Proteomic analysis of saliva: a unique tool to distinguish primary Sjögren's syndrome from secondary Sjögren's syndrome and other sicca síndromes. *Arthritis Res Ther.* 13: 194.

Beeley JA, Khoo KS. 1999. Salivary proteins in rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome: one-dimensional and two-dimensional electrophoretic studies. *Electrophoresis.* 20: 1652-60.

Bergdahl M, Bergdahl J. 2000. Low unstimulated salivary flow and subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. *J Dent Res.* 79: 1652-8.

Beroukas D, Hiscock J, Jonsson R, Waterman SA, Gordon TP. 2001. Subcellular distribution of aquaporin 5 in salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *Lancet.* 358: 1875-6.

Beroukas D, Hiscock J, Gannon BJ, Jonsson R, Gordon TP, Waterman SA. 2002. Selective downregulation of aquaporin-1 in salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *Lab Invest.* 82: 1547-52.

Bialek EJ, Jakubowski W, Zajkowski P, Szopinski KT, Osmolski A. 2006. US of the major salivary glands: anatomy and spatial relationships, pathologic conditions, and pitfalls. *Radiographics.* 26: 745-763.

Borgnia M, Nielsen S, Engel A, and Agre P. 1999. Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels. *Annu Rev Biochem.* 68: 425-458.

Choe LH, Werner BF, Lee KH. 2006. Two-dimensional protein electrophoresis: from molecular pathway discovery to biomarker discovery in neurological disorders. *NeuroRx.* 3: 327-35

Colella G, Cannevale R, Vicidomini A, Itró A. 2010. Salivary gland biopsy: a comprehensive review of techniques and related complications. *Rheumatology.* 49: 2117-21.

Daniel TE. 1984. Labial Salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome: assesment as a diagnostic criterion in 362 suspected cases. *Arthritis Rheum.* 27: 147-156.

Eveson JW. 2008. Xerostomia. *Periodontol 2000.* 48: 85-91.

Fietta P, Delsante G, Quaini F. 2009. Hematologic manifestations of connective autoimmune diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 27:140-154.

Fox RI. 2005. Sjögren's syndrome. *Lancet*. 366: 321-31.

Franceschini F, Cavazzana I. Anti-Ro/SSA and La/SSB antibodies. 2005. *Autoimmunity*. 38: 55–63.

Giusti L, Baldini C, Bazzichi L, Bombardieri S, Lucacchini A. 2007. Proteomic diagnosis of Sjögren's syndrome. *Expert Rev Proteomics*. 4: 757-767.

Giusti L, Baldini C, Bazzichi L, Ciregia F, Tonazzini I, Mascia G, Giannaccini G, Bombardieri S, Lucacchini A. 2007. Proteome analysis of whole saliva: a new tool for rheumatic diseases—the example of Sjögren's syndrome. *Proteomics*. 7:1634-1643.

Gresz V, Kwon TH, Hurley PT, Varga G, Zelles T, Nielsen S, et al. 2001. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands. *Am J Physiol*. 281:G247–54.

Guiñales Díaz JG, Martorell V, Sánchez B, Del Castillo JM, Burgeño M. 2012. Síndrome de Sjögren: criterios diagnósticos mediante resonancia magnética. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac*. Recuperado el 20 de septiembre, 2012 de: [http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/eop/S1130-0558\(12\)00077-9.pdf](http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/eop/S1130-0558(12)00077-9.pdf)

Gallardo JM. 2008. Xerostomía: etiología, diagnóstico y tratamiento. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 46: 109-16

Guggenheimer J, Moore PA. 2003. Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *JADA*. 134: 61-69.

Haldorsen K, Moen K, Jacobsen H, Jonsson R, Brun JG. 2008. Exocrine function in primary Sjögren's syndrome: natural course and prognostic factors. *Ann Rheum Dis*. 67:949-954.

Hammi AR, Al-Hashimi IH, Nunn ME, Zipp M. 2005. Assesment of SS-A and SS-B in parotid saliva of patients with Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med*.

34: 198-203.

He X, Tse CM, Donowitz M, Alper SL, Gabriel SE, Baum BJ. 1997. Polarized distribution of key membrane transport proteins in the rat submandibular gland. *Pflugers Arch.* 433: 260-8.

Hernández-Molina G, Avila-Casado C, Cárdenas-Velázquez F, Hernández-Hernández C, Calderillo ML, Marroquín V, Soto-Abraham V, Recillas-Gispert C, Sánchez-Guerrero J. 2010. Similarities and differences between primary and secondary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol.* 37:800-808.

Hu S, Wang J, Meijer J, leong S, Xie Y, Yu T, et al. 2007. Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 56: 3588–600.

Hu S, Gao K, Pollard R, Arellano-Garcia M, Zhou H, Zhang L, Elashoff D, Kallenberg CG, Vissink A, Wong DT. 2010. Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Care Res.* 62: 1633-8

Ishibashi, K., Kondo, S., Hara, S. and Morishita, Y. 2011. The evolutionary aspects of aquaporin family. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300; R566–R576.

Issaq HJ, Veenstra TD. 2007. The role of electrophoresis in disease biomarker discovery. *Electrophoresis.* 28: 1980-8.

Kalk WW, Vissink A, Spijkervet FK, Bootsma H, Kallenberg CG, Roodenburg JL. 2002. Parotid sialography for diagnosing Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 94: 131–137.

King LS, Agre P. 1996. Pathophysiology of the aquaporin water channels review. *Annu Rev Physiol.* 58: 619-48.

King LS, Yasui M. 2002. Aquaporins and disease: lessons from mice to humans. *Trends Endocrinol Metab.* 13: 355–360.

Konttinen YT, Tensing EK, Laine M, Porola P, Törnwall J, Hukkanen M. 2005. Abnormal distribution of aquaporin-5 in salivary glands in the NOD mouse model for Sjögren's syndrome. *J. Rheumatol.* 32: 1071–1075.

Ma T, Song Y, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, and Verkman AS. 1999. Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 channels. *J Biol Chem* 274: 20071-20074.

Manthorpe R, Asmussen K, Oxholm P. 1997. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic criteria, clinical features, and disease activity. *J Rheumatol.* 24:8-11

Mathews SA, Kurien BT, Scofield RH. 2008. Oral Manifestations of Sjögren's syndrome. *J Dent Res.* 87: 308-318.

Matsuzaki, T., Suzuki, T., Koyama, H., Tanaka, S. and Takata, K. 1999. Aquaporin-5 (AQP5), a water channel protein, in the rat salivary and lacrimal glands: immunolocalization and effect of secretory stimulation. *Cell Tissue Res.* 295; 513–521.

Matsuzaki, T., Tajika, Y., Tserentsoodol, N., Suzuki, T., Aoki, T., Hagiwara, H. and Takata, K. 2002. Aquaporins: a water channel family. *Anat. Sci. Int.* 77; 85–93.

Matsuzaki, T., Tajika, Y., Suzuki, T., Aoki, T., Hagiwara, H. and Takata, K. 2003. Immunolocalization of the water channel, aquaporin-5 (AQP5), in the rat digestive system. *Arch. Histol. Cytol.* 66; 307–315.

Matsuzaki, T., Ablimit, A., Tajika, Y., Suzuki, T., Aoki, T., Hagiwara, H. and Takata, K. 2005. Water channel aquaporin 1 (AQP1) is present in the perineurium and perichondrium. *Acta Histochem. Cytochem.* 38; 37–42.

Matsuzaki, T., Hata, H., Ozawa, H. and Takata, K. 2009. Immunohistochemical localization of the aquaporins AQP1, AQP3, AQP4, and AQP5 in the mouse respiratory system. *Acta Histochem. Cytochem.* 42; 159–169.

Matsuzaki, T., Inahata, Y., Sawai, N., Yang, C.-Y., Kobayashi, M., Takata, K. and Ozawa, H. 2011. Immunohistochemical localization of the water channels AQP4 and AQP5 in the rat pituitary gland. *Acta Histochem. Cytochem.* 44; 259–266.

Matsuzaki T, Susa T, Shimizu K, Sawai N, Suzuki T, Aoki T, Yokoo T, Takata K. 2012. Function of the membrane water channel aquaporin-5 in the salivary gland. *Acta Histochem Cytochem.* 45: 251-259.

Mignona MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Wolff A. 2005. Sjögren's syndrome: the diagnostic potential of early oral manifestations preceding hyposalivation/xerostomia. *J Oral Pathol Med.* 34:1-6.

Navazesh M, Kumar SK. 2009. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *JADA.* 139: 35S-40S.

Nielsen S, King LS, Christensen BM, Agre P. 2002. Aquaporins in complex tissues. II. Subcellular distribution in respiratory and glandular tissues of rat. *Am J Phys.* 273: 1549-1561.

Nishimura H, Yakeishi A, Saga T, Yamaki K. 2009. Effect of cevimeline on the immunolocalization of aquaporin-5 and the ultrastructure of salivary glands in Sjögren's syndrome model mice. *Kurume Medical Journal* 56: 39–47.

Nikolov NP, Illei GG. 2009. Pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 5:465–70.

Ohashi Y, Tsuzaka K, Takeuchi T, Sasaki Y, Tsubota K. 2008. Altered distribution of aquaporin 5 and its C-terminal binding protein in the lacrimal glands of a mouse model for Sjögren's syndrome. *Curr Eye Res.* 33: 621-9.

Peluso G, De Santis M, Inzitari C, et al. 2007. Proteomic study of salivary peptides and proteins in patients with Sjögren's syndrome before and after pilocarpine treatment. *Arthritis Rheum.* 56: 2216–22.

Papiris SA, Tsonis IA, Moutsopoulos HM. 2007. Sjögren's syndrome. *Semin Respir Crit Care Med.* 28:459-471.

Pijpe J, Kalk WW, van der Wal JE, Vissink A, Kluin PM, Roodenburg JL, et al. 2007. Parotid gland biopsy compared with labial biopsy in the diagnosis of patients with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).*46:335–41.

Raina S, Preston GM, Guggino WB, and Agre P. 1995. Molecular cloning and characterization of an aquaporin cDNA from salivary, lacrimal, and respiratory tissues. *J Biol Chem* 270: 1908-1912.

Ryu OH, Atkinson JC, Hoehn GT, Illei GG, Hart TC. 2006. Identification of parotid salivary biomarkers in Sjögren's syndrome by surface-enhanced laser desorption/ionization time-offlight mass spectrometry and two-dimensional difference gel electrophoresis. *Rheumatology.* 45:1077–86.

Sánchez JC. 2003. Acuaporinas: proteínas mediadoras del transporte de agua. *Colomb Med.* 34: 220-227.

Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, Schiødt M, Umehara H, Vivino F, Zhao Y, Dong Y, Greenspan D, Heidenreich AM, Helin P, Kirkham B, Kitagawa K, Larkin G, Li M, Lietman T, Lindegaard J, McNamara N, Sack K, Shirlaw P, Sugai S, Vollenweider C, Whitcher J, Wu A, Zhang S, Zhang W, Greenspan J, Daniels T. 2012. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res.* 64: 475-87

Soyfoo MS, De Vriese C, Debaix H, Martin-Martinez MD, Mathieu C, Devuyst O, Steinfeld SD, Delporte C. 2007. Modified aquaporin 5 expression and distribution in submandibular glands from NOD mice displaying autoimmune exocrinopathy. *Arthritis Rheum.* 56: 2566-2574.

Sreebny LM, Zhu WX (1996). *Adv. Dent. Res.* 10:17-24.

Steinfeld S, Cogan E, King LS, Agre P, Kiss R, Delporte C. 2001. Abnormal distribution of aquaporin-5 water channel protein in salivary glands from Sjögren's syndrome patients. *Lab Invest.* 81: 143-8

Takashima S, Takeuchi N, Morimoto S, Tomiyama N, Ikezoe J, Shogen K, Kozuka T, Okumura T. 1991. MR imaging of Sjögren's syndrome: correlation with sialography and pathology. *J Comput Assist Tomogr.* 15: 393–400.

Takata, K., Matsuzaki, T. and Tajika, Y. 2004. Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane. *Prog. Histochem. Cytochem.* 39; 1–83.

Tarpley TM, Anderson LG, White CL. 1974. Minor salivary gland involvement in Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 37: 64-74.

Thomas E, Hay EM, Hajeer A, Silman AJ. 1998. Sjögren's syndrome: A community-based study of prevalence and impact. *British Journal of Rheumatology.* 37: 1069-1076.

Tsubota K, Hirai S, King LS, Agre P, Ishida N. 2001. Defective cellular trafficking of lacrimal gland aquaporin-5 in Sjögren's syndrome. *Lancet.* 357: 688–89.

Vitali C, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. 1994. European Community Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement in Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 53: 637-47.

Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Coll J, Gerli R, Hatron PY, Kater L, Konttinen YT, Manthorpe R, Meyer O, Mosca M, Ostuni P, Pellerito RA, Pennec Y, Porter SR, Richards A, Sauvezie B, Schiødt M, Sciuto, M, Shoenfeld Y, Skopouli FN, Smolen JS, Soromenho F, Tishler M, Tomsic M, van de Merwe JP, Yeoman CM, Wattiaux MJ. 1996. Assessment of the European classification criteria for Sjögren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. *Ann Rheum Dis.* 55: 116-121.

Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. 2002. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 61:554–8.

Waterman SA, Beroukas D, Hiscock J, Jonsson R, Gordon TP. 2002. Distribution of salivary aquaporin-5 in Sjögren's syndrome [letter]. *Lancet.* 359:1778.

Wei F, Patel P, Liao W, Chaudhry K, Zhang L, Arellano-Garcia M, et al. 2009. Electrochemical sensor for multiplex biomarkers detection. *Clin Cancer Res.* 15: 4446–52.

Whaites E. 2007. *Essentials of Dental Radiography and Radiology*, 4th edn. Edinburgh: Churchill Livingstone: 448.

RESUMEN BIBLIOGRÁFICO

Dania Paola Santamaría Linares

Candidato para el Grado de

Maestría en Ciencias Odontológicas con Orientación en Periodoncia con Implantología

Tesis:

RELACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN DE ACUAPORINA 5 POR MEDIO DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA EL DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Y SECUNDARIO

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales:

Nacido en Santo Domingo, República Dominicana el 31 de Diciembre de 1988, hija de David Santamaría Velasquez y Carmen Dania Linares Félix.

Educación:

Egresado de la Universidad Iberoamericana (UNIBE), grado obtenido Dra. en Odontología en 2010.

Experiencia Profesional:

Docente en el Departamento de Periodoncia
Pregrado en la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 2015.