



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“CAMBIOS SALIVALES Y BUCALES COMO POSIBLES
MARCADORES DE DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME DE
SJÖGREN”**

TESISTA:

OD. BEATRIZ ESTER BUSAMIA.

DIRECTOR:

PROF. DRA. ANA BEATRIZ FINKELBERG

CÓRDOBA, 2010



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE

DOCTORA EN ODONTOLOGÍA

DOCTORANDO

Od. Beatriz Busamia

Córdoba - Argentina -2010

CAMBIOS SALIVALES Y BUCALES COMO
POSIBLES MARCADORES DE DIAGNÓSTICO
DEL SÍNDROME DE SJÖGREN

Doctorando

Od. Beatriz Ester Busamia

Directora de tesis

Prof. Dra. Ana Beatriz Finkelberg

Comisión de Doctorado

Prof. Dra. Silvia Lopez de Blanc

Prof. Dra. Ruth Ferreira

Prof. Dr. Luis Santos Spitale

DEDICATORIA

A mi familia... por el amor, apoyo y confianza que me dieron a lo largo de mi vida y mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Odontología de la U.N.C.

A las Autoridades de esta casa.

A mi Comisión de Tesis.

A mi Directora de Tesis.

A mis compañeros de la Cátedra de Fisiología.

Al Dr. Jorge Linares.

A la Dra. Mabel Brunotto.

Al Hospital Córdoba y Sanatorio Allende.

Al Dr. Eduardo Albiero y su equipo.

A la Dra. Carla Gobbi.

A la Dra. Marcela Demarchi.

A la Dra. Perla Mangupli.

A la Dra. Norma Canals.

A mis colegas de la Cátedra de Histología A: Dra. Malberti, Dr.

Fontana y Dr. Plavnik.

A la Sra. Claudia Durá.

CITA POÉTICA

“Aprende de la paciencia del agua, quieta en el recipiente y muy activa cuando corre, así puede alcanzar la cumbre”.

CONFUCIO

ÍNDICE:

RESÚMEN	09
SUMMARY	10
ABREVIATURAS	11
<u>INTRODUCCIÓN</u>	12
• GLÁNDULAS SALIVALES	12
▪ Estructura Histológica de las glándulas salivales	12
▪ Funciones de la saliva	15
▪ Formación de saliva	17
▪ Composición salival	18
▪ Regulación de la secreción salival	21
▪ Flujo salival	23
▪ Modificaciones Patológicas del flujo salival	23
❖ Xerostomía	23
• SÍNDROME DE SJOGREN	25
▪ Historia	27
▪ Epidemiología	28
▪ Clasificación	29
• ETIOPATOGENIA	31
❖ Infecciones Virales	31
• Factores Predisponentes	32
❖ Hormonales	32
❖ Inmunológicos	32
❖ Genéticos	33
• MANIFESTACIONES EXTRAGLANDULARES	34
❖ Dérmicas	34
❖ Pleuropulmonares	34
❖ Gastrointestinales	34

❖ Musculares-Articulares	34
❖ Neurológicas	35
• DIAGNÓSTICO	36
• CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO	37
❖ Criterios de exclusión	41
• Criterios Americanos Europeos 2002	41
❖ Signos y Síntomas Oculares	41
❖ Síntomas Bucales	42
❖ Histopatológicos	42
❖ Afectación glandular	43
❖ Autoanticuerpos	43
<u>OBJETIVOS GENERALES</u>	45
<u>MATERIALES Y MÉTODO</u>	46
Pacientes	46
❖ Criterio de inclusión y exclusión	46
❖ Distribución de la muestra	48
❖ Confección de historia clínica	48
❖ Examen clínico de Salud Bucal	49
❖ Recolección de saliva basal y estimulada	50
❖ Procesamiento de las muestras salivales	50
❖ Variaciones de salud bucal	51
❖ Análisis estadístico	55
<u>RESULTADOS</u>	56
❖ Edad y sexo de los pacientes	56
❖ Flujo salival Basal	58
❖ Compuestos Inorgánicos	59
❖ Compuestos Orgánicos	61

❖ Anticuerpos en Suero y Saliva	63
❖ Ecografías de alta Resolución	67
❖ Citología	70
❖ Biopsias de glándulas salivales menores	77
<u>DISCUSIÓN</u>	82
<u>CONCLUSIONES</u>	88
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	90
<u>ANEXOS</u>	102
a) Modelo de Historia Clínica ad-hoc	103
b) Formulario de consentimiento informado	107
c) Autorización del Comité Institucional de Ética del Sanatorio Allende	114

RESUMEN

En el presente trabajo el objetivo fue investigar marcadores aplicables en técnicas no invasivas que permitan la detección del Síndrome de Sjögren (SS). El estudio se realizó en una población de 46 pacientes que acudieron al Servicio de Reumatología del Hospital Córdoba y Sanatorio Allende de la ciudad de Córdoba (República Argentina), en el período comprendido entre marzo de 2005 y agosto de 2008. Los pacientes se dividieron en: pacientes clínicamente sanos considerados control (C) n=12; pacientes con "boca seca" y "ojo seco" no Sjögren (BO) n=13; pacientes con Síndrome de Sjögren Primario (SSp); n=12 y pacientes con Síndrome de Sjögren Secundario (SSs) (n=9). Se realizó una historia clínica, que incluyó marcadores de salud bucal y se tomaron muestras de saliva. Se obtuvieron los siguientes resultados: los pacientes BO y SS presentaron xerostomía, asociada a hiposalivación con un flujo salival < a 0.3 ml/ min, siendo menor aún el de los SSp. La concentración de Na⁺ aumentó sólo en pacientes con SSs. El Cl⁻ aumentó significativamente en BO, SSp, SSs al igual que el k⁺ y Ca²⁺. Se encontró un aumento estadísticamente significativo en el fosfato salival en SSs. Estos cambios podrían ser consecuencia de alteraciones a nivel de conductos glandulares. Entre los componentes orgánicos, aumentan las proteínas totales de pacientes BO y SS mientras que la IgA secretora sólo en el SSs. En pacientes con SS la hiposalivación se pudo asociar con candidiasis, y presencia de prótesis. En BO y SSs se mostraron valores positivos para todos los anticuerpos evaluados en suero, mientras que en SSp fueron positivos los anticuerpos Ro/SSA y La/ SSB. En saliva, el mayor porcentaje de pacientes SSp, SSs resultaron positivos para Ro/SSA y LA/SSB.

En este estudio se comprobó que la saliva representa un medio importante de valor diagnóstico para SS, dada la presencia de cantidades dosables de Ac específicos Ro y LA comparable con el suero. Las ecografías de alta resolución permiten establecer relaciones directas entre síntomas clínicos, agrandamiento de las glándulas salivales mayores y presencia de anticuerpos Ro/SSA y La/SSB.

SUMMARY

In this work the objective was to investigate markers applicable in non-invasive techniques that allow detection of Sjögren syndrome (SS). The study was conducted in a population of 46 patients who attended the Rheumatology Service of the Hospital Córdoba and Sanatorio Allende in the city of Córdoba (Argentina), in the period March 2005 to August 2008. Patients were divided into: Clinically healthy patients with normal salivation (C); n = 12; Patients with "dry mouth" and "dry eye" No Sjögren (BO) n = 13; Patients with primary Sjögren Syndrome (SSp), n = 12 Patients and patients with secondary Sjögren Syndrome (n = 9). In all cases, a medical history, assessment of oral health markers and saliva samples were obtained. The following results were obtained: BO and SS patients presented xerostomia associated with hyposalivation, with salivary flow <0.3 ml/min, with that of the SSp being even lower. The concentration Na^+ increased only in patients with SSs. In contrast, Cl^- increased significantly in all the groups with hyposalivation BO, SSp and SSs, as well as K^+ and Ca^{2+} . A statistically significant increase was found in rates of salivary phosphate in SSs compared with the other experimental groups. These changes could result from alterations in the gland ducts. Among the organic components, only the total proteins in patients with hyposalivation and the secretory IgA in SSs increase. The hyposalivation might be associated with a high incidence of candidiasis, and presence of prostheses in patients with SS. In serum, the antibodies Ro/SSA and La/SSB were positive in SSp, while in BO and SSs positive values were found for all the antibodies assessed. In saliva, the highest percentage of SSp and SSs patients proved positive for Ro/SSA, La/SSB. In the smears, no changes were observed that support the possibility of their use as diagnostic markers of SS. In this study we found that saliva represents an important diagnostic value for SS, given the presence of specific amounts of Ac dosables Ro and compared with the serum. The high-resolution ultrasound can establish direct relationships between clinical symptoms, enlargement of the salivary glands and presence of antibodies to Ro / SSA and La / SSB.

ABREVIATURAS

P: Parótida.

GS: Glándula salival

GSM: Glándula Submaxilar

GSL: Glándula Sublingual

M/E: Microscópio Electrónico

Ig: Inmunoglobulina

AINES: Antiinflamatórios no esteroideos.

KCS: Queratoconjuntivitis. Seca

LES: Lupus Eritematoso.

AR: Artritis Reumatoidea.

RO: Autoanticuerpo RO/SSA

LA: Autoanticuerpo LA/SSB

ANA: Anticuerpos Antinucleares

HLA: Antígeno Leucocitario de Humano

FR: Factor Reumatoideo

VHC: Virus de Hepatitis C

SICCA: Síndrome Seco

PAP: Coloración de papanicolau

HE: Hematoxilina Eosina.

INTRODUCCIÓN**GLÁNDULAS SALIVALES**

Las glándulas salivales tienen como función principal la producción de saliva a partir del aporte de sustancias que llegan a través de los líquidos circulantes del organismo. Son clasificadas según su importancia funcional, tamaño y localización en principales o mayores: parótida (P), submandibular (GSM) y sublingual (SL) que segregan el 93 % de la saliva presente en la cavidad bucal y por glándulas salivales secundarias o menores presentes en la submucosa y mucosa bucal. Los tres grandes tipos de glándulas salivales mayores difieren en las características de la saliva que producen (1,2).

Las glándulas parótidas producen una secreción serosa, muy acuosa y con enzimas. Es la glándula que más responde a los estímulos, y lo comprobamos cada vez que recibimos algún compuesto ácido en la boca.

Las submaxilares o submandibulares producen secreción serosa y mucosa. Son responsables de la secreción basal, sin presencia de estímulos. Las glándulas sublinguales vierten una secreción predominantemente mucosa.

(3) Existen glándulas salivales pequeñas o menores en la cavidad bucal, que son eminentemente productoras de mucina.

Las unidades secretoras de las glándulas salivales están representadas por acinos o adenómeros, los cuales vierten su secreción a la cavidad bucal por medio de un sistema de conductos excretores. Ambas estructuras constituyen el parénquima o porción funcional de las glándulas (3).

Estructura Histológica de las glándulas salivales

En relación a la estructura histomorfológica de las glándulas salivales, se conoce que el parénquima glandular está conformado por adenómeros o acinos, que son agrupaciones de células secretoras de aspecto piramidal las cuales vierten la secreción por la cara apical a la luz del acino. A partir de cada acino se origina un conducto, cuya pared está formada por células epiteliales de revestimiento (Fig.1-2). Encontramos acinos serosos mucosos y mixtos. La

parótida está constituida fundamentalmente por acinos serosos, la submaxilar es mixta, aunque de predominio seroso, y la sublingual es esencialmente mucosa. No obstante, se pueden encontrar formas mixtas en las glándulas, pudiendo distinguir diversos tipos celulares:

- Células serosas: son células secretoras muy activas, su núcleo es redondo y en situación basal, ricas en ergoplasma situado en posición basal-perinuclear y con numerosos gránulos secretorios que se denominan gránulos de zimógeno, acumulados en su parte apical.

- Células seromucosas: Aparecen de forma aislada o en grupos. El núcleo, de contorno irregular, se sitúa en la parte basal. En la ultraestructura son de forma redondeada y se mantienen individualizadas.

- Células mucosas: Son de aspecto algo más rectangular que las serosas. Su núcleo es aplanado en la porción basal celular. El polo superior se dispone en forma de microvellosidades y tanto el aspecto de éste como el del conjunto celular es variable según el estado funcional en que ésta se encuentre.

- Células mioepiteliales: Están situadas en la porción basal de las células acinares y tubulares. Son muy importantes desde el punto de vista funcional y patológico, ya que son el origen histológico de algunos tumores. Compuestas de un núcleo aplanado y un citoplasma estirado. Con el microscopio electrónico M/E se observa que poseen numerosos microfilamentos de actinmiosina y depósitos de glucógeno en su citoplasma, micropicnocitosis y desmosomas. Tienen una gran actividad enzimática fosfatasa alcalina y su función es, mediante su contracción, facilitar la excreción de saliva fuera del acino y su progresión en los conductos (3).

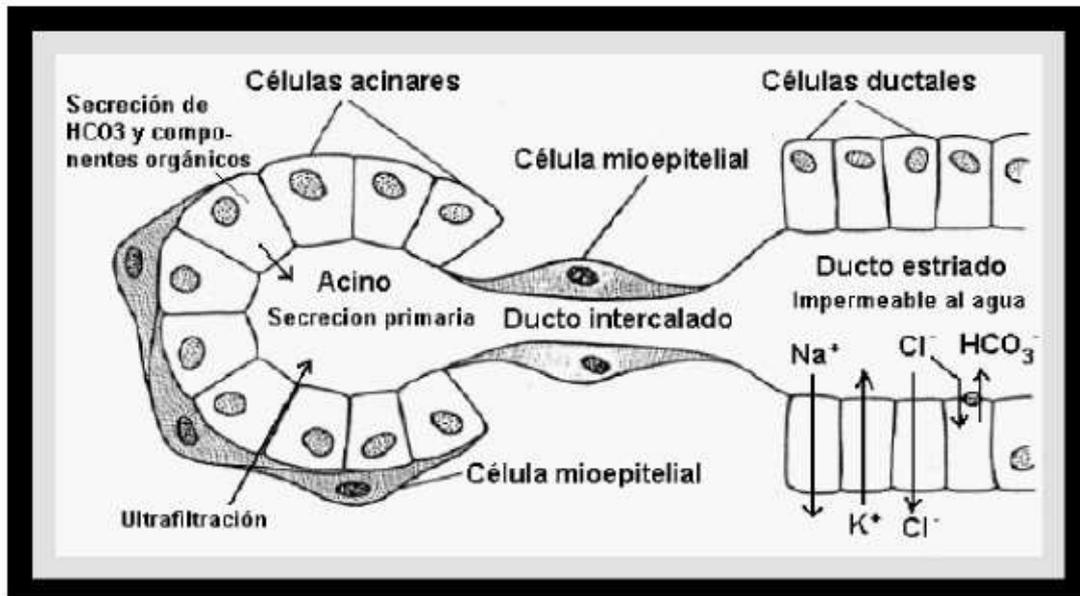


Figura 1: Tomado de <http://human.physiol.arizona.edu>



Figura 2: Estructura histomorfológica de Glándula salival parótida humana. Coloración HE. 20x
Tomado de Blue Histology. www.lab.anhb.edu.au.

El sistema canalicular nace en los acinos, va confluyendo en conductos cada vez más gruesos, hasta finalizar en un conducto excretor principal. En la parte distal, a la salida del acino, los primeros conductos son los denominados intercalares y estriados. Los conductos intercalares contienen células mioepiteliales y en ellos se produce un importante intercambio iónico. Los conductos estriados tienen células cilíndricas, que intervienen en la elaboración de la saliva, mediante la concentración y modificaciones de la composición salival por adición de sustancias. Los conductos excretores constituyen la

transición entre los conductos estriados y la cavidad bucal. Las glándulas salivares poseen un tejido de sostén formado por tejido conjuntivo con fibroblastos, fibras colágenas, vasos y nervios. Las terminaciones nerviosas parasimpáticas y simpáticas se encuentran en conexión con las células acinosas y con las células mioepiteliales.

Este tejido conjuntivo alberga plasmocitos productores de Ig, sobre todo IgA y en menor proporción IgG y IgM; estas Ig se combinan con proteína producidas por las células epiteliales acinosas, la combinación Ig + proteína forma la IgA secretora que confiere a la saliva un poder defensivo inmunológico. También se pueden detectar receptores estrogénicos y de progesterona, observados en el citoplasma de las células de los conductos excretores. Se han observado receptores de progesterona en el núcleo de estas células, así como antígenos de los grupos sanguíneos ABO y receptores muscarínicos, alfa y beta en el aparato vesicular de las células mucosas (4).

Funciones de la Saliva

Posee numerosas funciones entre las que se destaca su actividad humidificante, lubricante, limpiadora, gustativa, digestiva, bactericida, excretoria y/o detoxicante, amortiguadora, hormonal, reguladora del equilibrio o balance hídrico y protección de tejidos bucales ante irritantes físicos y químicos (4).

La saliva permite además llevar a cabo otras actividades, como el habla, la masticación y deglución (5).

- Lubricación y aglutinación: principalmente a través del mucus, que aglutina el alimento masticado en una masa resbalosa que se desliza por el esófago sin atascarse ni hacer daño,
- Solubilización del alimento: Constituye un componente indispensable del sentido del gusto. La solubilización del alimento es necesaria para que contacte con las papilas gustativas.
- Higiene bucal: La boca es un medio de cultivo ideal para bacterias, virus y hongos. Es húmeda, oscura, posee la temperatura adecuada y llegan a ella alimentos varias veces al día. Las especies bacterianas, tanto aerobias como

anaerobias, que viven en la boca, son alrededor de 700 en una superficie de aproximadamente 200 cm². La presencia de saliva en la cavidad bucal actúa como factor abiótico importante en la ecología de dicho ecosistema principalmente por su función de barrido, disminuyendo el número de microorganismos; junto con la IgA secretoria, que se comporta como aglutinina, contribuye a la inmunidad local (5).

Digestiva: Por el efecto de la enzima alfa amilasa salival que digiere el almidón, que se mezcla con los alimentos y se transforma en bolo alimenticio.

Capacidad Amortiguadora o Buffer: se debe principalmente a la presencia del bicarbonato y del fosfato en menor grado (6). Esta propiedad ayuda a proteger a los tejidos bucales contra la acción de los ácidos provenientes de la comida o de la placa dental, por lo tanto, influye en el potencial cariogénico del ambiente (7). Durante la masticación, la saliva estimulada facilita la formación del bolo alimenticio, la deglución y el gusto. Entre las comidas, la saliva basal lubrica, limpia y provee sustancias que contribuyen a reparar y mantener la integridad de los tejidos bucales. Gracias a sus propiedades antibacterianas, antivirales, antifúngicas y control del pH, ayuda a mantener el balance de la microflora bucal. Contribuye con sus componentes inorgánicos a la remineralización del esmalte dental normal y de lesiones cariosas incipientes. Estas múltiples funciones son cruciales para el mantenimiento de la homeostasis oral y sistémica (8).

FORMACIÓN DE SALIVA

Secreción Salivar

La saliva es de vital importancia en la protección de tejidos bucales duros y blandos y la prevención de enfermedades de la cavidad bucal. Es un fluido complejo producto de la secreción de las glándulas salivales (8). La secreción de saliva es un proceso activo que ocurre en dos fases: la primera denominada secreción primaria, es la que ocurre en las células acinares por una combinación de transporte activo de iones y filtración plasmática. La secreción en los acinos consiste en el transporte activo de electrolitos con un arrastre secundario de agua y en la síntesis de enzimas, proteínas, mucina y demás componentes orgánicos de la saliva, que finalmente se excretan. Produce un líquido similar en composición y osmolaridad al plasma y que contiene alfa-amilasa.

Durante la segunda fase denominada secreción secundaria, las células de los conductos modifican el producto surgido de los acinos mediante la reabsorción activa de determinados componentes que se suman a la secreción activa; se produce en ellos un mayor transporte pasivo por ultrafiltración de agua y electrolitos (9). La modificación de la composición de la saliva por los ductos depende del flujo salival. Mientras más flujo haya, su velocidad de tránsito a través de los ductos es mayor, lo que permite menos modificaciones. Las GSM segregan continuamente la llamada "saliva de reposo", cuya cantidad oscila alrededor de los 15 cc /hora. Mediante estímulos adecuados puede aumentar dicha secreción de manera extraordinaria y rápida, variando el volumen y el carácter de la saliva segregada con la naturaleza y la intensidad del estímulo aplicado. En veinticuatro horas suelen fluir entre 600 y 1500 cc. (10). El organismo dispone de dos métodos para regular la secreción salival: Uno a través de impulsos nerviosos que excitan las células glandulares, o bien químicamente por la acción de hormonas. La aldosterona aumenta en forma considerable la reabsorción de cloruro sódico y la secreción de potasio. El

efecto sobre las glándulas salivares es necesario para conservar sodio cuando se eliminan cantidades excesivas (10,11).

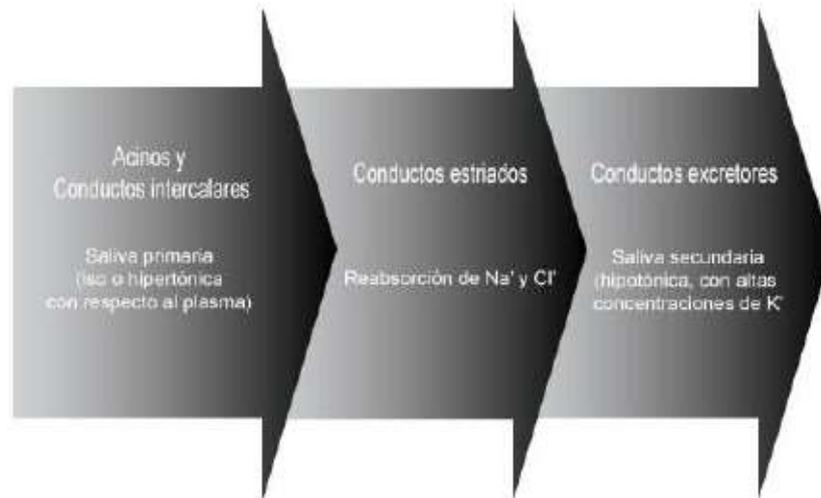


Figura 3: Esquema de la formación de saliva.

COMPOSICIÓN SALIVAR

La saliva es un líquido incoloro, opaco. El pH oscila entre 6,2 a 7,4 por acción de sistemas responsables de mantener la capacidad buffer, que incluyen bicarbonato, fosfato y proteínas, considerando al primero como el más representativo. La concentración de hidrogeniones de la saliva varía en relación directa con el CO₂ de la sangre. Cuando la saliva se deja expuesta al aire se precipita el carbonato de calcio por la pérdida de CO₂ y esto va a influir en los elementos esenciales del tártaro dentario (12).

Compuesta en un 94% de agua y en un 5,5% de sólidos orgánicos e inorgánicos. Los principales componentes orgánicos son glicoproteínas. También posee proteínas como seroalbúmina y otras proteínas con acción antibacteriana como las inmunoglobulinas IgA, IgG, IgM e IgA_s, que constituyen la base de la inmunidad específica contra la microbiota bucal. De todas ellas la más importante es el dímero IgA_s del cual se consideran dos subtipos IgA1_s e IgA_s (13). Otras sustancias que encontramos son urea, ácido úrico, creatinina, aminoácidos diversos y carbohidratos. Los principales componentes inorgánicos son calcio, fósforo, sodio, potasio y magnesio, aunque también se

encuentran hierro, zinc y en ocasiones cobre. La concentración de sodio en saliva es siete veces menor a su concentración en plasma y el calcio, en cambio, es dos veces menor. La concentración de bicarbonato es 25% menor que en plasma (13).

La concentración de sodio, calcio y bicarbonato aumentan con la secreción salival. La concentración de potasio es independiente del flujo, mientras que la concentración de fosfato decrece ligeramente cuando aumenta la secreción salival (14,15). La saliva contiene también enzimas, factores antibacterianos, factores de la coagulación (VII, IX, X, XII) y vitaminas: tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico y B12. Hay un factor de crecimiento epitelial de naturaleza peptídica, que estimula el crecimiento y la diferenciación de diversos tejidos a través de un estímulo en la síntesis de DNA. Igualmente posee un efecto gastroprotector y preventivo descriptas específicamente en las ulceraciones provocadas por antiinflamatorios no esteroideos (AINes) (15). Este factor es segregado en todas las glándulas, aunque en mayor proporción en la glándula parótida, y está marcadamente disminuido en pacientes fumadores con inflamaciones bucales o en tumores de cabeza y cuello. Igualmente se ha detectado un factor de crecimiento neural. Algunas enzimas como la ptialina (alfa amilasa), ayudan a la digestión; otras como la hialuronidasa, lipasa, beta-glucoronidasa, condroitinsulfatasa, decarboxilasas de aminoácidos, catalasa, peroxidasa, colagenasa y neuraminidasa, se hallan en cantidades aumentadas en caso de enfermedad periodontal. Es importante la presencia de lisozima en la saliva, por su efecto lítico sobre bacterias exógenas. Se ha de señalar que la flora bacteriana normal de la boca es resistente a la concentración normal de lisozima, pero la mayor parte de las bacterias exógenas son susceptibles. En adición a las enzimas digestivas, se ha detectado la presencia de péptidos salivares de variada actividad biológica, así como diversas hormonas esteroideas e insulina. No obstante, existen grandes variaciones individuales en la composición salival, por lo que las determinaciones cualitativas carecen de utilidad clínica.

COMPOSICIÓN DE SALIVA NO ESTIMULADA

Componente	(mg/ml)	Componente	mOsm/ml
Proteína	220	Na ⁺	5 – 25
Amilasa	0.38	K ⁺	15 – 30
Lisozima	0.2	Cloruro	15-30
IgA S	0.19	Ca ²⁺	1- 2
IgG	0.014	Fosfatos	1- 8
IgM	0.002	Flúor	Trazas
Peroxidasa	0.003	Mg ²⁺	0.2 - 0.5
Urea	020	CO ₃ H ⁻	2 – 30
Ácido úrico	001,5		
Creatinina	000,1		
Colesterol	008		
AMPc	007		

Tabla I. Composición de la saliva humana no estimulada. Constituyentes orgánicos mg/ml
 Constituyentes inorgánicos Mm. Modificada de Jenkins JM. The Physiology and Biochemistry of
 the Mouth, 47 ed., Oxford, Blackwell Scientific

REGULACIÓN

La secreción salival está regulada por el sistema nervioso autónomo, que controla el volumen de producción de las glándulas y su composición (16). Al igual que otros procesos fisiológicos, la secreción salival no es constante, varía su volumen y composición en respuesta a los requerimientos del organismo. (17). Están inervadas por el sistema nervioso autónomo Simpático (S) y Parasimpático (PS). La estimulación S induce una secreción viscosa y filante con liberación de proteínas, en tanto que la secreción PS promueve una secreción fluida, abundante y rica en iones (18). La inervación PS emerge del núcleo salival superior nace la fibra nerviosa perteneciente al VII par craneal que hace sinapsis en el ganglio submaxilar, desde el cual sale la fibra postganglionar que llega a las GSM y SL. Del núcleo salival inferior emerge la fibra nerviosa perteneciente al IX par craneal que hace sinapsis en el ganglio ótico, del cual sale la fibra postganglionar que inerva la glándula P. La inervación simpática emerge del I y II segmento torácico; la fibra nerviosa hace sinapsis en el ganglio cervical superior, el cual emite una fibra postganglionar que inerva las glándulas P y GSM. En la actualidad no puede afirmarse que las SL posean dicha inervación. La saliva presente en la boca en un momento dado, es la suma de la producción total de las diferentes glándulas. Los principales mecanismos intracelulares involucrados en la secreción, incluyen la generación de AMP cíclico y la ruptura de fosfoinosítidos, En la sinapsis efectora del sistema parasimpático, la acetilcolina se une a receptores muscarínicos M3 y M1 lo que activa al trifosfato de inositol (IP₃) que aumenta el calcio intracelular, secretando proteínas. El calcio, a través de la calicreína, activa al mediador químico bradicinina, que produce vasodilatación aumentando la secreción de agua (19). En la sinapsis efectora simpática, los neurotransmisores noradrenalina y adrenalina actúan sobre receptores α y β estimulando dos mecanismos de acción distintos. La unión del neurotransmisor a receptores α , activa al trifosfato de inositol. Esto aumenta el calcio intracelular, estimulando la secreción proteica. Dicha estimulación tiene un

potente efecto vasoconstrictor que disminuye el paso de agua y electrolitos a la luz acinar.

La unión de neurotransmisores a receptores β , aumenta los niveles de AMP cíclico que favorece la secreción proteica.

La secreción salival está dirigida por impulsos nerviosos que se originan de diversas formas:

- Por mecanismo reflejo tras estimulación mecánica o química de la mucosa bucal y de la olfatoria.
- Por mecanismos psíquicos que implican reflejos condicionados o bien formas innatas de comportamiento propias de la especie.

FLUJO SALIVAL

El flujo salival, es la cantidad de saliva secretada en una unidad de tiempo. Se clasifica en basal o de reposo y estimulado, producido durante la masticación u otros estímulos (20). El flujo basal tiene por función el mantenimiento de la salud bucal, conservando la integridad de la mucosa bucofaríngea. La glándula submaxilar es la responsable del 75% de esta secreción. La tasa de secreción es sensiblemente inferior a la saliva estimulada, con un pH, ligeramente ácido, con mayor concentración de IgA secretoria. El flujo estimulado en cambio, manifiesta su actividad por estímulos sobre receptores intraorales mecánicos (tacto y presión) y químicos (del gusto y olfatorios). El flujo estimulado, se encuentra aumentado entre 50 y 100 veces en relación al flujo basal. Esto ocurre porque se aumenta la actividad glandular, provocando un incremento de la concentración de agua, proteínas (alfa amilasa salival), sodio y bicarbonato, con menor proporción de IgA y potasio. Existen cambios fisiológicos del flujo salival como la edad, sexo, dieta, hidratación, ritmo circadiano, estado emocional y en condiciones patológicas como Diabetes, depresión, enfermedades autoinmunes y las inducidas por ingesta de drogas: Psicofármacos, antihipertensivos, citostáticos (21).

ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL FLUJO SALIVAL: XEROSTOMÍA

Al definir cuanta reducción de la producción salival es necesaria para generar síntomas, debemos precisar los conceptos de xerostomía e hiposalivación. La xerostomía es la sensación subjetiva de boca seca, mientras que la hiposalivación es la medición objetiva de poco volumen de saliva producido (22). Las alteraciones patológicas más frecuentes se manifiestan con hiposialia (23).

Clínicamente, sin embargo, el término más usado es xerostomía como sinónimo de boca seca. Diversos trabajos sugieren que, cambios en el volumen y/o la velocidad de secreción de saliva, así como en su composición,

desarrollan una sensación de sequedad bucal conocida como xerostomía o sensación de “boca seca”, que afecta la salud del sistema estomatognático (24). Teniendo en cuenta estos antecedentes resulta evidente que las variaciones en la cantidad y calidad de la excreción de las glándulas salivales producen graves consecuencias sobre la integridad de los tejidos bucales. Independiente de sus causas, la sensación de xerostomía no se manifiesta hasta que la disminución alcanza el 50% del volumen normal. Su prevalencia en la población general oscila entre el 22 % y 26% (25). Para algunos autores la sensación de sequedad de la mucosa oral se relaciona con una disminución de la saliva basal mientras que otros la atribuyen principalmente a la reducción de la saliva estimulada; Mandel y Wotman atribuyen mayor importancia a la composición de la saliva secretada, fundamentalmente al contenido de mucina, que a la cantidad de la misma (14). La xerostomía puede predisponer a otras alteraciones relacionadas con sus funciones como: disgeusia, estomatitis, glositis, gingivitis, enfermedad periodontal, infecciones con microorganismos y caries entre otras (26).

Existen múltiples causas de xerostomía y en ciertos casos un paciente puede presentar varias. Por su frecuencia se destacan la involución senil, el uso de fármacos, el SS y la radioterapia cervical. Tabla II y III

Causas comunes de xerostomía

Fármacos	Amiloidosis
Radioterapia Cervical	Diabetes Mellitus
Síndrome de Sjögren	Hiperlipoproteinemia
Respiración bucal	Gastritis Crónica
Obstrucción Nasal	Sida
Enfermedades Psiquiátricas	Hepatitis C
Sarcoidosis	Deshidratación

Tabla II: Causas de xerostomía.

ANORÉXICOS	ANSIOLÍTICOS	ANTIDEPRESIVOS
ANTIISTAMÍNICOS	ANTIPARKINSONIANOS	ANTIPSICÓTICOS
DESCONGESTIVOS	DIURÉTICOS	ANTIHIPERTENSIVOS

Tabla III: Fármacos que producen xerostomía.

En ancianos, la xerostomía se desarrolla, con frecuencia por atrofia glandular; a diferencia del SS, la atrofia senil afecta de forma característica a las glándulas submaxilares; suele existir por parte de las parótidas una buena respuesta a la estimulación con sialogogos como la pilocarpina (27).

En su aparición pueden intervenir mecanismos propios del envejecimiento, como la disminución del estímulo de los receptores periféricos. Sin embargo, la causa más frecuente, es el uso de fármacos con acción xerogénica, presente en más del 50% de los ancianos.

Son numerosos los fármacos capaces de disminuir la secreción salival (28).

Los más frecuentes son: antihistamínicos, sedantes y antidepresivos, especialmente los tricíclicos, por su acción anticolinérgica.

Síndrome de Sjögren

La xerostomía afecta al 90% de los pacientes con SSp. En el SS secundario, la frecuencia e intensidad suele ser menor. Del 50 al 100% de los pacientes con SSp presentan flujo salival disminuido, algunos sin flujo a nivel del sistema estomatognático. Se producen frecuentemente alteraciones a nivel de mucosa con la inflamación del tejido blando gingival, sangrado, cambios de color y textura. El resto de la mucosa de la cavidad bucal se observa reseca, atrófica, áspera y despulida, a veces eritematosa, erosionada o ulcerada en casos severos (29). La lengua puede tener aspecto veloso o peludo, a veces despapilada, lobulada o fisurada La queilitis de los labios es frecuente: aparecen secos y agrietados sin elasticidad y textura. La mucosa del paladar y dorso lingual aparecen enrojecidas, atróficas con dolor quemante urente con distintos grados de severidad. Se altera el gusto (disgeusia) el paciente se queja de mal sabor o sabores diferentes, desagradables, frente a sustancias gustativas corrientes (30).

La xerostomia produce también alteraciones en la masticación y deglución.

El daño en glándulas menores se produce por la presencia de un infiltrado linfocitario que da como resultado una hiposialia, casi imperceptible al comienzo de la enfermedad; de detección clínica en un estado avanzado de SS (31,32).

SINDROME DE SJÖGREN

HISTORIA

La historia del Síndrome de Sjögren comienza en 1882 en un congreso llevado a cabo en Heidelberg (Alemania) donde el Dr T Leber presentó tres casos de pacientes con queratitis y sequedad de boca (33). Seis años después, el Dr J. Von Mikulicz-Radecki, un médico cirujano presentó el caso de un paciente de 42 años con hinchazón bilateral de las glándulas lacrimales y salivales (34,35). Por este motivo se denominó inicialmente a esta patología “Enfermedad de Mikulicz”. Poco tiempo después, el Dr. WB Hadden también presentó a la Sociedad Médica de Londres a una paciente de 65 años que desde hacía varios meses padecía de sequedad bucal y lacrimal que se incrementaba gradualmente; el Dr. Hadden introdujo el término xerostomía (36). En 1933 un oftalmólogo sueco, Henrik Sjögren publicó su tesis sobre un síndrome que afectaba a 19 pacientes postmenopáusicas caracterizado por sequedad lacrimal y bucal; trece de este grupo de mujeres tenían artritis crónica que acompañaba a la sequedad de los ojos y la boca (36). En su tesis, el Dr. Sjögren concluye sobre la base de una amplia investigación clínica y anatomopatológica, que este síndrome es consecuencia de una patología sistémica generalizada. En 1943 la tesis del Dr. Sjögren fue traducida al inglés por un oftalmólogo australiano. Esto resultó un punto de comienzo para amplificar el interés de esta patología en diversos campos de la medicina en los que es ahora reconocida como una enfermedad autoinmune e inflamatoria crónica. Desde ese momento, los médicos de todo el mundo han encontrado pacientes con esta combinación de síntomas y la llaman Síndrome de Sjögren (37). En las décadas del 50 y 60 se publicaron diferentes trabajos clínicos y en la década siguiente se documentaron diferencias clínicas y de laboratorio en pacientes que eran portadores o no de artritis reumatoidea. Estos dos grupos se diferencian por su perfil de autoanticuerpos y sus marcadores genéticos. En base a estas comprobaciones, propusieron subdividir a este síndrome en primario cuando los síntomas están presentes sin signos de enfermedades

autoinmunes y secundario cuando los ojos y la boca seca aparecen acompañado por una enfermedad autoinmune como por ejemplo, artritis reumatoidea, esclerodermia, lupus eritematoso sistémico (38).

EPIDEMIOLOGÍA

El Dr. H Sjögren describió al SS como una enfermedad rara con una prevalencia de 0.05%. En 1971, el Dr. M.A. Sheam estimó la prevalencia del SS primario y secundario entre 0.2 y 0.44%. Existen sin embargo evidencias crecientes de que la prevalencia del SS supera a la de la Artritis Reumatoidea que afecta aproximadamente al 1% de la población mundial. En las décadas del 70 y el 80, estudios llevados a cabo en poblaciones geriátricas mostraron una prevalencia que oscila en un rango del 2 al 4.8%. Un estudio sueco que evaluó la prevalencia del SS en personas de 52 a 72 años determinó que la misma alcanzó al 2.7% y una reciente publicación china registró una prevalencia del 0.8%. En el caso del SS secundario, aproximadamente un 30 % de los pacientes con artritis reumatoidea, un 20% de los que sufren Esclerodermia y un 10% de los que padecen Lupus, presentan este síndrome. El SS es de distribución universal, especialmente entre los 40 y 60 años, con predominio en el sexo femenino (9:1). La frecuencia de la enfermedad en la población general no se conoce con exactitud. La incidencia anual se estima en 4 casos por cada 100.000, aunque aumenta con la edad, hasta 20 casos por 100.000 en poblaciones mayores de 65 años. La prevalencia varía entre 0.5 - 4 % de la población adulta, según los criterios diagnósticos utilizados. Puede concluirse que el SS parece ser un desorden común que tiene una amplia distribución mundial (39, 40).

CLASIFICACIÓN

El Síndrome de Sjögren (SS) es una exocrinopatía crónica autoinmune, de progresión lenta y etiología desconocida. Se caracteriza por la sequedad de mucosas, principalmente bucal (xerostomía) y ocular (xeroftalmia), aunque con frecuencia puede producir síntomas por sequedad nasal, cutánea o vaginal (41,42). También se denomina epitelitis autoinmune, por ser las células del epitelio de las glándulas exócrinas diana de la respuesta inflamatoria provocada por la infiltración linfoplasmocitaria, presencia de autoanticuerpos y mediadores de la inflamación. Aunque en la mayoría de los pacientes la enfermedad suele quedar localizada en las glándulas exócrinas (manifestaciones glandulares), por su carácter sistémico, puede afectar diversos órganos como hígado, riñón, pulmón, sistema nervioso, etc. consideradas manifestaciones extraglandulares (43). Se pueden encontrar dos tipos de Síndrome de Sjögren.

El SSp clínicamente presenta “boca seca”, “ojo seco” y aumento de volumen las glándulas salivales mayores; es agresivo y puede evolucionar a un linfoma. Afecta principalmente a la mujer entre la cuarta y quinta década de la vida, no obstante puede presentarse en edad temprana y se denomina SS juvenil (44). Además de comprometer las mucosas puede tener complicaciones sistémicas a nivel pulmonar, digestivo y renal. El compromiso articular, cutáneo, vascular, hematológico y del sistema nervioso, es consecuencia del estado inflamatorio de la enfermedad, del estímulo y activación de linfocitos B, del infiltrado linfoplasmocitario local, y de su repercusión sistémica mediada por anticuerpos y otros mediadores solubles (citoquinas, óxido nítrico, hormonas) El óxido nítrico (ON) ha sido involucrado en la patología del SS como agente que puede contribuir al daño inflamatorio y a la atrofia acinar. También se describen efectos inhibitorios sobre la apoptosis linfocitaria, en particular en etapas tempranas de la enfermedad; de esta manera contribuye en la progresión de la exocrinopatía (45).

El SSs clínicamente presenta las mismas características que el primario, pero se encuentra asociado a otras enfermedades autoinmunes. Entre las más

frecuentes se pueden citar la artritis reumatoidea, Lupus eritematoso sistémico y Esclerodermia.

El curso clínico de ambas entidades es similar en cuanto a la preponderancia femenina y a la edad de aparición (45- 55 años) o sea, mujeres menopáusicas y postmenopáusicas, donde la fisiopatología es poco conocida (46,47).

Los síntomas y signos oculares y bucales en pacientes con SS, son idénticos a aquellos observados en pacientes con ojos secos y boca seca pero que no tienen SS. A nivel articular, la alteración más común es la artralgia inflamatoria y, menos frecuente, la artritis intermitente con compromiso de manos y rodillas. Por lo tanto, de acuerdo a que la queratoconjuntivitis y la xerostomía estén asociadas a una enfermedad autoinmune, se la clasifica en dos categorías

- A) no asociada al SS (no autoinmune)
- B) asociada al SS (autoinmune) (48).

ETIOPATOGENIA

Se desconoce su causa, aunque se acepta que es multifactorial. Es probable que la interacción de diversos factores genéticos, hormonales, inmunológicos, condicionen una determinada susceptibilidad individual y junto con factores externos, como las infecciones virales, influyan en su aparición y mantenimiento (49).

Infecciones virales

La infección viral podría producir una alteración inicial de la regulación de la respuesta inmune que, en un individuo predispuesto, podría dar lugar al desarrollo y cronificación de las alteraciones inmunes propias del SS. Los virus implicados en la etiopatogenia del SS son: Herpesvirus (VEB, CMV, VHH-6, VHH-8), Retrovirus (HTLV-I, VIH), Flavovirus (VHC, VHG), Parvovirus B19 y Adenovirus. Tienen en común un marcado tropismo por las glándulas exocrinas, la capacidad para infectar diversas líneas celulares, tanto epiteliales como linfoides y presentan mecanismos que eluden constantemente al sistema inmunitario, provocando así un estado de cronicidad de la infección viral. Se han acumulado evidencias serológicas, moleculares y experimentales que apuntan a los virus como los principales factores etiopatogénicos en las enfermedades autoinmunes (50). En el caso del SS, hallazgos histopatológicos e inmunológicos apoyarían esta hipótesis: por un lado, la latencia de numerosos virus (sialotropos) en las glándulas salivales; por otro, se han detectado anticuerpos contra antígenos virales (VEB, CMV, HTLV-I, VIH, VHC y Parvovirus B19) en pacientes con SS así como el genoma de algunos virus en el tejido salival (VEB, HTLV-I, VHC). Ciertos virus (HTLV-I, VIH, VHC) pueden producir un síndrome seco e incluso infiltrado linfocitario de las glándulas salivares y lesiones similares a las que produce el SS. Se han encontrado lesiones similares al SS en glándulas salivares y lagrimales de ratones transgénicos y se han desarrollado modelos murinos experimentales de SS inducidos por infección por citomegalovirus (51). Asimismo, la existencia

de una inapropiada expresión de HLA-D/DR en las células epiteliales de las glándulas en ausencia de células T infiltrantes o de IFN-gamma, hace suponer la participación de un agente exógeno, como los virus, que module la expresión genética en esas células. La activación policlonal de los linfocitos B y su capacidad para la secreción de citoquinas y proliferación "in Vitro", es consistente con la activación inducida por virus de estas células. Por otro lado, uno de los principales autoantígenos en el SS (La-SSB) muestra importante similitud molecular con diversos retrovirus y se sabe que la infección viral induce la expresión y migración de dicho antígeno del núcleo a la superficie celular. Además, se ha demostrado la expresión del oncogen myc en las glándulas salivares (52).

Existen factores predisponentes como:

1. Factores hormonales

El SSp es más frecuente en mujeres, especialmente durante la edad fértil.

Existen datos que indican que niveles elevados de estrógenos podrían participar en el inicio de enfermedades autoinmunes tanto en hombres como en mujeres. En el lupus eritematoso sistémico existen hallazgos que apoyan esta hipótesis: un aumento en la hidroxilación de los estrógenos; un aumento de la oxidación de los andrógenos en las mujeres y casos de hiperprolactinemia asociados con estos estados hiperestrogénicos, en los que el tratamiento de la hiperprolactinemia mejora las manifestaciones clínicas. (50). Se ha demostrado también la capacidad de los metabolitos estrogénicos para aumentar la diferenciación de las células B y activar las células T. En mujeres con SSp los hallazgos indican una deficiencia central de los ejes neuroendocrinos adrenal y gonadal. Todo ello, junto con niveles elevados de prolactina, podría facilitar la inmunidad celular en los pacientes con SS (53).

2. Factores inmunológicos

La infiltración de las glándulas exocrinas característica de la enfermedad está constituida fundamentalmente por linfocitos T CD4. La mayoría de los linfocitos T CD4 que infiltran las glándulas salivares liberan citoquinas (54). Se considera

que la expansión policlonal de los linfocitos B es la responsable de las características serológicas del SSp: hipergammaglobulinemia y detección de anticuerpos. La expansión oligoclonal es probablemente la causa del aumento de riesgo de aparición de linfomas. La existencia de linfocitos B que expresan el marcador T CD5 tanto en sangre periférica como en glándulas salivares en estos pacientes, células con capacidad de secretar una gran cantidad de autoanticuerpos y con capacidad de expansión oligoclonal en algunas leucemias linfáticas crónicas, hace pensar que éstas células podrían estar implicadas en la predisposición al desarrollo de linfomas que presentan estos enfermos.

Dichas inmunoglobulinas incluyen un número elevado de autoanticuerpos: FR; ANA, que generalmente presentan un patrón moteado en la inmunofluorescencia; anticuerpos frente a antígenos extraíbles (ENA), como los anti-Ro y anti-La, y anticuerpos órgano-específicos, como los anti-tiroideos y anti-mitocondriales (55).

3. Factores genéticos

Los pacientes con SS, primario o secundario, muestran en sus antecedentes familiares mayor incidencia de otras enfermedades autoinmunes y autoanticuerpos, lo que sugiere que factores genéticos pueden tener importancia en la etiopatogenia de la enfermedad. Se ha descrito asociación de la enfermedad con diferentes antígenos del HLA, la mayoría con DR3, aunque también con DR2, DRw53 y DR5. También los anticuerpos anti-Ro y anti-La se han asociado con DR320 e incluso se ha descrito expresión de antígenos HLA-DR en las células epiteliales salivares de los pacientes con SSp y que los linfocitos presentes en las glándulas salivares producen IFN- γ , capaz de estimular la síntesis de HLA-DR, así como la inhibición de dicha síntesis por anticuerpos monoclonales anti-IFN-. Los estudios familiares indican, sin embargo, la presencia de genes adicionales, autosómico dominante, no relacionados con el HLA o los genes de las inmunoglobulinas, en la predisposición al SS (56).

MANIFESTACIONES EXTRAGLANDULARES

Sequedad dérmica (xerodermia). La xerodermia con o sin prurito, suele ser un signo frecuente en pacientes con SS. Puede haber infecciones secundarias y un tercio de los pacientes refieren fenómeno de Reynaud no evolutivo con carcinoma ocasional. Otras manifestaciones clínicas posibles son la alopecia, fotoalergias, urticaria difusa (en casos de SSs-LES), que predomina en extremidades inferiores y puede acompañarse de lesiones petequiales, semejando la vasculitis urticariforme y eritemas diversos (multiformes, anulares, etc.) que se parecen a los observados en pacientes con lupus eritematoso y dificultan el diagnóstico. Las vasculitis cursan con úlceras, púrpura y urticarias y suelen asociarse a manifestaciones neurológicas (53)

Manifestaciones pleuropulmonares. Los pacientes con SS primario no refieren mayor sintomatología a nivel respiratorio. La resequedad afecta la mucosa nasal, lo que conduce a epistaxis recurrente, anosmia, tos y disfonía. Las manifestaciones pleuropulmonares predominan en las formas secundarias del SS, las alteraciones pleurales predominan en las formas asociadas a Lupus y Artritis Reumatoidea, mientras la patología intersticial corresponde a los SS asociados a esclerodermia y polimiositis (58).

Manifestaciones gastrointestinales. En casos de xerostomía moderada los síntomas se incrementan y pueden aparecer fisuras o úlceras linguales, adherencia de mucosas, problemas dentales (caries) y trastornos del gusto (disgeusias). Se describen quielitis angular, pérdida de la capacidad de reconocer y degustar los alimentos según su sabor y olor. Las formas graves ocasionan al paciente la imposibilidad de comer y de hablar o dolor al hacerlo. El esófago puede dar disfagias con atrofia de mucosas y dismotilidad ulceraciones a nivel de las mucosas, estomatitis infecciosas, gastritis atróficas y en intestino y páncreas, mala absorción o pancreatitis agudas crónicas (59).

Manifestaciones articulares y musculares. La artralgia o la artritis, tiene una alta repercusión en los pacientes con síndrome de Sjögren primario y junto a las mialgias, afectan un 75 % de los pacientes. La artralgia consiste en una

artritis poliarticular, con mayor frecuencia en rodillas. Más de la mitad de las altralgias son no erosivas y simétricas. La fibromialgia es muy frecuente y se puede observar otros cuadros articulares como la osteoartritis erosiva o inflamatoria, que predomina en las manos y se asocia con la tiroiditis de Hashimoto (60).

Manifestaciones genito-urinarias. Un bajo porcentaje de pacientes presenta sequedad y prurito vaginal, acompañado de colpitis, dispareunia y polaquiuria.

A nivel renal, un 10% de pacientes con SSp tienen manifestaciones nefrológicas, seguido de elevación en el pH de la orina, hipopotasemia o hipercloremia.; estas manifestaciones se encuentran relacionadas con infiltraciones linfocitarias intersticiales del riñón que conducen a la atrofia tubular, fibrosis e insuficiencia renal (61).

Manifestaciones Neurológicas. Las manifestaciones en formas centrales y periféricas son las más frecuentes.

a- Manifestaciones centrales. La clínica neurológica central, se caracteriza por cuadros sutiles, insidiosos y de gran variabilidad, que se deben a lesiones multifocales y recurrentes, siendo de inicio reversibles y transitorias que con el tiempo terminan siendo aditivas y persistentes (62).

b- Manifestaciones periféricas. Se presentan neuropatías como el síndrome de túnel carpiano, la polineuritis y mononeuritis múltiple. Las hemorragias subaracnoideas e intracerebrales son frecuentes en los pacientes que cursan con vasculitis y anticuerpos antiRo y antiLa. El líquido cefalorraquídeo suele tener proteínas normales o ligeramente elevadas, aumento de las IgG con pleocitosis mononuclear. En estos pacientes es frecuente ver el factor reumatoide, anticuerpos Anti Ro/La, anticuerpos antifosfolípidos y crioglobulinas y están ausentes el ADNn y ENA: Sms, RNp (63).

DIAGNÓSTICO

Existen varias propuestas de criterios diagnósticos para el SS (Europeos, Copenhagen, California, Japoneses), pero ninguna de ellas está globalmente aceptada. Es controvertido y en la práctica clínica parece razonable establecer el diagnóstico en un individuo con queratoconjuntivitis seca y xerostomía, sin otras causas que lo justifiquen, en quien se demuestra la presencia de autoanticuerpos o signos histológicos compatibles en una biopsia glandular. Se debe objetivar la xerostomía midiendo el flujo lagrimal con la prueba de Schirmer o con lámpara de hendidura tras tinción con rosa de Bengala. La biopsia de glándulas salivares se realiza en el labio inferior, y está indicada para confirmar la sospecha diagnóstica, especialmente en pacientes jóvenes con afectación sistémica o extraglandular, y para excluir otras causas de xerostomía o hipertrofia glandular. En la actualidad se está introduciendo la ecografía como una técnica diagnóstica útil para detectar áreas de inflamación glandular. La correlación con los resultados de la biopsia parece ser excelente, y se trata de una técnica de bajo costo y no invasiva.

CRITERIOS INTERNACIONALES

Criterios de San Francisco (Fox R. 1993)

- Queratoconjuntivitis Seca (QCS)
- Biopsia de glándula salivar inferior con hallazgos característicos de sialoadenitis focal (Daniels 1984)

Criterios de San Diego (Fox et al 1986)

1. Síndrome de Sjögren primario

- Síntomas y signos objetivos de sequedad ocular
- Test de Schirmer I menor de 8 mm en 5min.
- Tinción con Rosa de bengala o fluoresceína positiva para córnea o conjuntiva.
- Síntomas y signos objetivos de boca seca
- Intensidad de flujo parotídeo disminuido
- Biopsia de glándulas salivales con patología
- Evidencia de desorden autoinmune sistémico
- Factor reumatoideo, igual o mayor de 1/320
- ANA elevados, igual o mayor de 1/320
- Presencia de anticuerpos SS-A (Ro) y SS-B (La)

2. Síndrome de Sjögren secundario

- Síntomas y signos similares a los descritos para el primario
- Diagnóstico asociado de artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, polimiositis, esclerodermia, o cirrosis biliar.
- Exclusiones: sarcoidosis, linfoma preexistente, enfermedad por inmunodeficiencia adquirida, así como otras causas conocidas de KCS o alteraciones de las glándulas salivales.

Criterios de Copenhague y Grupo de Estudios Cooperativo Europeo (Manthorpe et al 1986) (66).

- Xerostomía
- Infiltrados linfoides en la biopsia de glándula salival labial inferior
- Anticuerpos antinucleares o positivos (SS-A, SS-B) (Harley et al 1986) - (Manthorpe et al 1982)
- HLA-B8 (Fye et al 1976)

En el Síndrome de Sjögren secundario, junto a las características de diagnóstico descritas en el primario, se asocia la presencia de una enfermedad autoinmune, especialmente aquellas que afectan al tejido conectivo, como:

1. Artritis Reumatoide
2. Lupus Eritematoso Sistémico
3. Esclerodermia
4. Dermatomiositis
5. Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo
6. Tiroiditis de Hashimoto
7. Cirrosis Biliar Primaria
8. Hepatitis Crónicas Autoinmunes

Diagnóstico del Síndrome de Sjögren Criterios Europeos (Daniels, 1996)
(64,67).

1. Síntomas orales (1 de ellos)
Sensación de boca seca durante más de 3 meses.
Tumefacción recurrente de las glándulas salivares.
Necesidad de beber líquidos para deglutir alimentos secos.
2. Síntomas oculares (1 de ellos)
Sequedad ocular diaria durante más de 3 meses.
Sensación de arenilla ocular recurrente.
Necesidad de usar lágrimas artificiales más de 3 veces al día.
3. Signos oculares (1 de ellos)
Prueba de Schirmer < 5 mm en 5 minutos.
Puntuación de 4 o más en la tinción de rosa de Bengala.
4. Alteración de glándulas salivares (1 de ellos)
Gammagrafía parotídea con déficit difuso de captación.
Sialografía con alteraciones difusas ductales y acinares.
Flujo salival sin estimular de 1,5 ml o menos en 15 minutos.
5. Histopatología
Biopsia de glándula salival menor con proliferación focal de linfocitos
(se requiere más de un foco/4 mm²).
6. Inmunología (1 de ellos): ANA o FR o Anti-Ro/SS-A o Anti-La/SS-B.

Diagnóstico del Síndrome de Sjögren Criterios Americanos Europeos
Vitali y col. 2002 (68)

I. Síntomas oculares (al menos una respuesta positiva)

a- ¿Ha tenido usted molestias del tipo de sequedad ocular, diaria, persistente, durante más de 3 meses?

b- ¿Tiene usted sensación frecuente de arenilla o gravilla en los ojos?

c- ¿Utiliza lágrimas artificiales más de 3 veces al día?

II. Síntomas orales (al menos una respuesta positiva):

a- ¿Ha tenido sensación diaria de boca seca durante más de 3 meses?

b - ¿Ha tenido, de adulto, sensación de inflamación de las glándulas salivares, recurrente o persistente?

c- ¿Tiene usted que beber líquidos para ayudarse a tragar la comida seca?

III. Signos oculares (evidencia objetiva de afectación ocular definida como al menos una de las siguientes pruebas positivas):

a - Test de Schirmer realizado sin anestesia (< 5 mm en 5 minutos).

b - Tinción de Rosa de Bengala o cualquier tinción ocular (puntuación > 4, según el sistema de Bijsterveld)

IV. Histopatología:

a- Presencia de sialoadenitis focal linfocítica en la biopsia de glándula salivar menor (obtenida de mucosa con apariencia normal), evaluada por un patólogo experto, con un focus score > 1, definido por el número de focos linfocíticos adyacentes a acinos mucosos de apariencia normal y que contengan más de 50 linfocitos por 4 mm² de tejido glandular.

V. Afectación glandular salivar (Evidencia objetiva de afectación de las glándulas salivares mayores)

a- Flujo salival no estimulado < 0,5 ml en 10 minutos.

b- Sialografía parotídea con sialectasias difusas (patrón puntiforme, cavitario o destructivo), sin evidencia de obstrucción de los ductos principales.

c- Gammagrafía de las glándulas salivares con retardo de la captación, disminución de la concentración y/o retardo de la excreción del radiotrazador.

VI. Autoanticuerpos Presencia en el suero de anti Ro(SSA) o Anti La(SSB) o ambos.

Un paciente tiene síndrome primario cuando no está potencialmente asociada a una enfermedad autoinmune con biopsia o autoanticuerpos positivos y cumple un total de 4 de los 6 criterios .Y secundario cuando tiene una enfermedad autoinmune potencialmente asociada, con biopsia o autoanticuerpos positivos y cumple un total de 4 de los 6 criterios.

Criterios de exclusión

Radioterapia de cabeza o cuello previa, Infección por el Virus de Hepatitis C, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, Linfoma preexistente, Sarcoidosis, Enfermedad del injerto contra el huésped, uso reciente de fármacos con efecto anticolinérgico (69).

DIAGNÓSTICO: CRITERIOS AMERICANOS EUROPEOS 2002

I-III SINTOMAS Y SIGNOS OCULARES

El determinante de los signos y síntomas asociados a la queratoconjuntivitis sicca es una inflamación inmunológica de las glándulas lagrimales. Los síntomas más característicos son: sensación subjetiva de cuerpo extraño en el ojo, sensación de tener una tela en los ojos, picor, foto sensibilidad, sensación de cansancio y dolor ocular, incapacidad de derramar lágrimas frente a irritaciones y/o emociones. Existen estudios que demuestran que estos síntomas pueden aparecer en otras entidades relacionadas con ojo seco conjuntivitis infecciosa, alérgica o iatrogénica (70). Se realizan diversos test fundamentalmente para descartar una xerostomía asociada.

a- Test de Schirmer, realizado sin anestesia (< 5 mm en 5 minutos).

b- Tinción de Rosa de Bengala o cualquier tinción ocular (puntuación > 4, según el sistema de Bijsterveld).

Otras técnicas no utilizadas habitualmente en el diagnóstico de SS, pero que se están tratando de validar para el diagnóstico son: la medición de lisozima y lactoferrina en lágrimas. Algunos autores comprobaron que la lisozima está disminuida en pacientes con SS, esta prueba se correlaciona mejor con la biopsia que con los síntomas clínicos (71). La lactoferrina lacrimonal está aumentada en el SS con una sensibilidad de 75% y especificidad del 95% (72).

También se utilizan citologías por impresión tras la aplicación de un disco de papel de acetato de celulosa en la conjuntiva, y se observan las células epiteliales por microscopía. Fue aplicada para la detección de ojo seco, en reemplazo de la exfoliativa debido al daño que produce el raspado en la conjuntiva del ojo. Se trata de una técnica no invasiva, En pacientes con SS se observa una metaplasia escamosa, agregados mucosos, linfocitos T células inflamatorias, y células de adhesión (73) (74) (75).

II y III -SÍNTOMAS BUCALES

Los signos y síntomas más frecuentes en pacientes con SS son: sensación subjetiva de sequedad bucal, disminución de la secreción salival, aparición de queilitis y episodios previos de tumefacción recidivante en la zona parotídea o submaxilar, (76) caries dental, (incisal y cervical) erosión dental, y La ausencia de la acumulación de saliva en el piso de la boca y en conductos excretores de las glándulas salivales, depapilación de la lengua, candidiasis eritematosa y (77) alteraciones del gusto o disgeusia (78).

IV- HISTOPATOLOGÍA

La histopatología de la biopsia de glándulas salivales labiales menores es la prueba más ampliamente utilizada para evaluar el compromiso bucal en el SS. El sitio de la biopsia a través de la mucosa bucal normal y el tamaño de la biopsia que debe incluir al menos 4 glándulas salivales evaluables, son importantes para que los resultados histopatológicos sean interpretables. La característica histológica en el SS es la presencia de una sialoadenitis linfocítica focal en todas o la mayoría de las glándulas de la muestra. A los criterios utilizados por Chilsom y Daniels que valora sólo el grado de inflamación, podrían añadirse entre ellos los morfométricos y los inmunohistológicos como la cuantificación de inmunoglobulinas IgA, IgG, o IgM, en las células plasmáticas del infiltrado inflamatorio(79). Actualmente se incluyen estudios inmunohistoquímicos con distintos marcadores como moléculas de superficie de adhesión, receptores de citoquinas o quimioquinas, marcadores de apoptosis, etc que son usados en otras

enfermedades donde el diagnóstico es controvertido como algunas enfermedades hematológicas o neoplásicas (80).

V- AFECTACIÓN DE LAS GLÁNDULAS

Para comprobar la xerostomía se realiza la sialometría, que es la medición de flujo salival basal o sea sin estimulación y el estimulado en ml/min. como metodología objetiva para corroborar el síntoma clínico de sequedad bucal.

(78). La tumefacción producida en SS se puede comprobar con la gammagrafía. Consiste en la visualización de las glándulas salivales y estudio de dinámica salival, tras la inyección intravenosa de un isótopo reactivo Tc 99. Tiene desventajas: es costoso y a veces no es tolerado por el paciente debido al tiempo que demora su realización (81). Existen casos de gammagrafías poco alteradas en el curso de SS avanzado y, en el otro extremo alteraciones gammagrafías evidentes sin sintomatología clínica de xerostomía. Esta técnica no tiene valor para el diagnóstico definitivo de un SS, y debe ser utilizada en el contexto diagnóstico dado, ya que una gammagrafía normal no excluye el diagnóstico de SS (82).

VI- AUTOANTICUERPOS

Una de las principales características del SS es la activación policlonal de los linfocitos B que origina la síntesis de una gran variedad de autoanticuerpos, tanto órganoespecíficos como no órganoespecíficos (83). Uno de los criterios de diagnóstico del SS es la existencia de los anticuerpos antinucleares (ANA), Factor reumatoideo, (FR) anti Ro/SSA o anti LA/SSB. La presencia de estos autoanticuerpos contra los antígenos Ro /SSA y La /SSA en el SS, se asocia a un inicio precoz de la enfermedad, mayor duración de la enfermedad, aumento del tamaño de las glándulas salivares, infiltración linfocitaria grave de las glándulas salivares menores o algunas manifestaciones extraglandulares como linfadenopatía, púrpura y vasculitis. Estos autoanticuerpos anti Ro/SSA o anti LA/SSB se describieron por primera vez en 1962 en suero de pacientes con SSp siendo considerados los anticuerpos con mayor especificidad para el diagnóstico (84). Este antígeno Ro/SSA es heterogéneo y contiene partículas

ribonucleicas compuestas por dos polipéptidos de distinto peso molecular 52 y 60 k Da. Desde el punto de vista clínico se ha observado una relación entre el hallazgo de este tipo de anticuerpos y el desarrollo de diversas manifestaciones extraglandulares e inmunológicas presentes en el SSp (85) como vasculitis cutánea, miositis, afectación en el SNC, bloqueo cardíaco congénito, presencia de ANA, FR, Anti La/SSB, anemia y linfopenia .

Se ha analizado la relación de los anti La/SSB con la infiltración linfocitaria en las glándulas salivales y se ha demostrado que las glándulas salivales son lugares de producción local del antígeno de La/SSB en la membrana, lo que podría iniciar una respuesta autoinmunitaria con formación de autoanticuerpos contra dicho antígeno (86). Algunos autores observaron en pacientes con La/SSB, una mayor afección articular, fenómeno de Reynaud, vasculitis cutánea, afección tiroidea, positividad de ANA, FR, Ro/SSA, linfopenia y trombocitopenia (87). Recientemente se valoraron los anticuerpos IgG contra α -fodrina que han demostrado ser muy sensibles y marcadores específicos para el diagnóstico del SSp. De hecho, α -fodrina se expresa específicamente en las glándulas salivales y podría desempeñar un papel en el desarrollo de exocrinopatía.

Aunque estudios mostraron 92% de positividad de anticuerpos IgG contra la α -fodrina en SS se informó que los anticuerpos contra Ro / SSA y La / SSB fueron encontrados en líquido lagrimal y salival a pesar de su ausencia en el suero de pacientes con SS. Por lo tanto, tendría sentido la detección de estos anticuerpos en los sitios en los que podrían ser producidos localmente como en saliva y lágrimas.

OBJETIVOS**-OBJETIVO GENERAL**

Evaluar marcadores de diagnóstico en saliva y cavidad bucal en individuos con xerostomía.

- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Evaluar diferentes parámetros de salud bucal en pacientes con Síndrome de Sjögren.
- 2- Correlacionar el Síndrome de Sjögren con la incidencia y severidad de las alteraciones a nivel de la cavidad bucal.
- 3- Analizar las alteraciones fisicoquímicas de saliva en pacientes con Síndrome de Sjögren.
- 4- Correlacionar de algunas patologías autoinmunes sistémicas de pacientes con alteraciones clínicas a nivel de cavidad bucal.
- 5- Comparar cambios en citologías por impresión, con citologías exfoliativas convencionales de pacientes con Síndrome de Sjögren.
- 6- Correlacionar los resultados obtenidos con estudios histopatológicos en biopsia de glándulas labiales inferiores y ecografías de alta resolución de pacientes con Síndrome de Sjögren.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó con pacientes del Servicio de Reumatología del Sanatorio Allende y Hospital Córdoba. El proyecto, Historia Clínica y modelo de Consentimiento Informado, fueron aprobados por el comité de Ética y Disciplina del Sanatorio Allende y el aval del Hospital Córdoba. En todo el estudio se respetaron las normas de ética para las investigaciones en humanos delineadas por la Declaración de Nüremberg, Helsinki, Tokio y de la Asociación Médica Mundial.

Pacientes

Se realizó un estudio de tipo caso control, en una población de 46 pacientes que acudieron al Servicio de Reumatología del Hospital Córdoba y Sanatorio Allende de la ciudad de Córdoba (República Argentina), entre los períodos de marzo de 2005 y agosto de 2008. Todos los pacientes fueron instruidos sobre los objetivos y alcance del presente estudio, firmando el consentimiento informado antes de iniciar la prueba.

Criterio de inclusión y exclusión

El criterio de inclusión consideró los siguientes aspectos

Edad: pacientes comprendidos entre 21 y 70 años.

- Pacientes con “boca seca” y “ojo seco” No Sjögren (BO)
- Pacientes con Síndrome de Sjögren primario (SSp)
- Pacientes con Síndrome de Sjögren secundario (SSs)
- Sin alteraciones estomatológicas previas.
- Alteraciones mentales: negativo

Los criterios de exclusión fueron:

- Quimioterapia y radioterapia previa que hubieran afectado la región craneofacial.
- Tumores en región de cabeza y cuello.
- Alteraciones metabólicas generales tales como diabetes, hipotiroidismo y otros síndromes sistémicos.
- Pacientes menores de 21 años y mayores de 70 años
- Desórdenes psiquiátricos.
- Pacientes que no acepten firmar el consentimiento informado.
- La población en estudio fue ajustada por la variable medicación en pacientes con medicación xerogénica. El flujo salival se ajustó estadísticamente.

Distribución de la muestra

El diagnóstico clínico de pacientes SSp y SSs se realizó en base a los Criterios internacionales Americanos-Europeos 2002 debiendo cumplir cuatro de los seis criterios para ser considerado SS.

Siguiendo estos Criterios la muestra de 46 pacientes apareados por sexo y edad se distribuyó de la siguiente forma:

CASOS O GRUPOS DE ESTUDIO

1- Pacientes con Síndrome de Sjögren primario (SSp) N°= 12 Sin una enfermedad autoinmune potencialmente asociada; el paciente tiene biopsia o autoanticuerpos positivos y cumple un total de 4 de los 6 criterios. (Anexo I)

2- Pacientes con Síndrome de Sjögren secundario (SSs): N°=9
Pacientes con una enfermedad autoinmune potencialmente asociada; el paciente tiene biopsia o autoanticuerpos positivos y cumple un total de 4 de los 6 criterios.

GRUPO DE CONTROL

1- Pacientes clínicamente sanos con salivación normal (C) N°= 12

Algunos pacientes presentaban xerostomía (sensación subjetiva de boca seca), con flujo salival normal.

2- Pacientes con "boca seca" y "ojo seco" No Sjögren (BO) N°= 13

Pacientes con hiposalivación flujo < a 5 ml por minuto.

Confección de historia clínica.

Se elaboró una historia clínica donde se incluyeron: datos personales y antecedentes fisiopatológicos. También se consideraron otros datos de interés, tales como hábitos (tabaquismo y alcohol), enfermedades metabólicas y consumo de fármacos que pudiesen provocar xerostomía. Se incorporó la ficha odontológica para la evaluación de la cavidad bucal.

Examen clínico de la cavidad bucal.

Constó de una inspección de tejidos duros y blandos de la cavidad bucal. Se evaluaron los siguientes parámetros:

- Pérdida de elementos dentarios (caries o enfermedad periodontal).
- Signos clínicos de alteración de tejidos:
 - a- Gingivitis: Retención de placa bacteriana por posición dentaria incorrecta y/o restauraciones defectuosas.

Se evaluó clínicamente la inflamación o no en tejidos gingivales según criterios de Linde.

Color: rojizo

Dimensiones: Tumefacción

Forma: Edematosa

Consistencia: Blanda

Las variables cualitativas fueron categorizadas del siguiente modo:

0 ausencia

1 presencia

Los resultados se expresaron en porcentaje de pacientes.

- b) Presencia de prótesis fijas, removibles.
- c) Examen estomatológico:

- Candidiasis: Detección clínica de lesión micótica en dorso de lengua de forma eritematosa, enrojecida, con depilación en áreas, ligeramente dolorosas al tacto.

- Micológico: Se realizaron muestras de dorso de lengua para micológico directo y cultivo.

- Directo: La recolección con hisopo estéril en fresco, fijado con alcohol coloreado con May-Grünwald-Giemsa.

Cultivo en un medio CHROM-agar para el aislamiento y la identificación de levaduras con importancia clínica en micología en un periodo de 24 a 48 horas, con base en un amplio contraste de colonias.

- d) Evaluación del tamaño de las glándulas salivales mayores por palpación y por ecografía de alta resolución.

Recolección de muestras de saliva basal y estimulada

Las muestras se efectuaron teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

- a) Horario estipulado: Paciente en ayunas, entre las 9 y 10 horas (AM) considerando el ritmo circadiano de la secreción salival. Paciente en reposo, sentado inclinando ligeramente su maxilar inferior hacia abajo y sin hablar.
- b) Procedimiento: Los pacientes se enjuagaron la boca con agua. Seguidamente, en función de los parámetros antes mencionados, se les solicitó que mantengan su boca cerrada y sin tragar, contando a partir de ese instante diez minutos. Durante este período la saliva formada y acumulada en su cavidad bucal se recolectó en un tubo de centrifuga descartable previamente pesado.

Una vez recolectada la muestra de saliva basal, se dejó reposar al paciente por diez minutos con el objeto de permitir el reposo glandular salival. Luego se suministró una lámina de goma inerte desechable (parafilm M.R.) de 4 cm. por 4 cm., que debió introducir en su boca y masticar sin tragar por espacio de cinco minutos. La saliva así formada se recolectó en un segundo tubo de centrifuga descartable y procesó del mismo modo que en el caso anterior.(86)

Análisis de las muestras:

- Volumen total: expresado en ml/min.

Las muestras de saliva basal y estimulada de cada paciente, fueron trasladadas a -5°C. Posteriormente se pesaron en balanza de precisión (Mettler), para la determinación de la sialometría. Se consideró el flujo de

saliva basal y estimulada en cantidad de mililitros secretados por minuto, asumiendo la equivalencia entre miligramo y mililitro. Seguidamente fueron centrifugadas por espacio de 20 minutos, para purificar el contenido de restos orgánicos y mucus. Se procedió de inmediato a la medición del pH.

Compuestos orgánicos: Se realizó el análisis bioquímico de los compuestos orgánicos: proteínas totales por determinación colorimétrica de Folin Ciocalteu, α amilasa salival, cuantificando la actividad enzimática de la amilasa por el método colorimétrico de Berthelot, (amiloclástico colorimétrico), IgAs por inmunodifusión radial en agar y urea por cuantificación espectrofotométrica (90).

Compuestos inorgánicos:

Se realizó un análisis bioquímico de los compuestos inorgánicos sodio (Na^+), cloro (Cl^-) y potasio (K^+) por fotometría de llama; calcio (Ca^{2+}) mediante método colorímetro directo de Henry, R.J. (91). y fosfato (PO_4^{3-}) por el método colorímetro según técnica de Vanderline (92).

- Dosaje de anticuerpos

La detección de anticuerpos anti-Ro/SSA y anti- La/SSB se realizó por enzimo-inmuno ensayo de origen comercial (Orgentec de procedencia Alemana) Se utilizaron placas previamente inmunizadas con los antígenos SS-A y SS-B. Las muestras fueron diluidas 1:100 en buffer Tris, NaN_3 (0,1% (w/w)) e incubadas con el antígeno. Posteriormente, los componentes séricos inespecíficos se eliminaron mediante lavado (PBS, NaN_3 :0,1% w/w). Se utilizaron anticuerpos anti IgG Ro y anti IgA La humanos conjugados con peroxidasa; la medición se realizó en un lector de ELISA. Las muestras de los pacientes con valores de densidad óptica mayor a la de los estándares fueron consideradas positivas (el promedio de las densidades ópticas de las salivas normales + 2 desviaciones estándar establece el valor tope por arriba del cual una saliva problema se considera positivas. Para la determinación de Factor Reumatoideo (FR) se

realizó la prueba basada en la técnica de ELISA para la detección semicuantitativa de anticuerpos IgG contra la en el suero de pacientes. El antígeno usado es Elisa IgG; es un péptido sintético cíclico con citrulina, de gran sensibilidad y especificidad para detectar anticuerpos en AR; se une el antígeno a la superficie de las placas, uniéndose durante la incubación los anticuerpos anti-CCPI IgG al antígeno que los recubre. El resto de los componentes no unidos se eliminan por lavado, se añade conjugado anti-IgG humana a cada pocillo. En una segunda incubación, el conjugado se une a los anticuerpos presentes y, tras un lavado para eliminar el conjugado sobrante, se añade un sustrato cromogénico, y la actividad enzimática presente en el pocillo debe ser proporcional a la intensidad de color desarrollado. Para anticuerpos ANA se realizó la Técnica de inmunofluorescencia indirecta. Se empleó el conjugado anti-IgG humano marcado con FITC (isotiocianato de fluoresceína), de origen comercial (SIGMA), específico a la cadena G de la inmunoglobulina G humana. El título de anticuerpos IgG de los sueros se estimó mediante diluciones seriadas al doble, con pH 7,2-7,4 se incubó a 37° en cámara húmeda por 30 minutos, se lavó 2 veces con PBS, se agregó 10 ml de conjugado y se incubó a 37°C por 30 minutos con 2 lavados posteriores; finalmente, se hizo el montaje de las láminas con buffer glicerinado, pH 8,5. La lectura se realizó en el microscopio de inmunofluorescencia.

- Citología por impresión

La toma de las muestras se realizó con papel de acetato de celulosa activado (Milipore Hawp 304). Se cortan tiras de un cm; se colocan sobre la superficie de la mucosa bucal en el surco vestibular superior derecho se mantiene presionado 3 segundos sin mover el papel. Se fijó en alcohol 96°. La tinción de las muestras se realizó con la técnica de Papanicolau modificada. No se coloreó con orange debido a que teñía el fondo del papel no pudiendo observar claramente las células (89).

- Citología exfoliativa

La toma de la muestra se realizó con cepillo Recolector citológico (citobrush).

Se obtuvieron células del surco vestibular superior derecho. Se colocaron en un portaobjeto y se utilizó técnica de tinción PAP para su coloración (93-94).

Método Original de Coloración de Papanicolaou:

1. Alcohol etílico 96° 15 Seg.
2. Alcohol etílico 70° 15 Seg.
3. Alcohol etílico 50° 15 Seg.
4. Agua Destilada 15 Seg.
5. Hematoxilina de Harris 3 Min.
6. Agua corriente.
9. Alcohol etílico 50° 15 Seg.
10. Alcohol etílico 70° 15 Seg.
11. Alcohol etílico 96° 15 Seg.
12. O G 6 (orange) 2 Min.
13. Alcohol etílico 96°.
14. Alcohol etílico 96°
15. EA 50 Eosina 3 Min
16. Alcohol etílico 96°
17. Alcohol etílico 100°
18. Xilol
19. Montaje: Con Bálsamo de Canadá y cubrir con cubreobjetos de vidrio de la medida adecuada para cobertura total de la muestra.

- Análisis histopatológico de biopsias en glándulas salivales labiales

Se evierte el labio inferior y se realiza una incisión de 1 ½ a 1 cm de la línea media. Al estar sometido el labio a presión, se extruyen por la herida los lóbulos de las glándulas salivales labiales, de las que se extraen 3 ó 4. La herida se sutura y la pieza extirpada se sumerge en formol 10-20 % para su análisis posterior. Para el análisis de las biopsias de glándulas labiales se realizó de

acuerdo a la Clasificación de Chisholm Masson, para el grado III se completó con la clasificación de Daniels y Whitcher.

CLASIFICACIÓN DE CHISHOLM MASSON (1968 con modificación de 1993) (95)

GRADO 0

Sin infiltrado linfocitario. Glándula salival normal

GRADO I

Infiltrado linfocitario leve, difuso. Sialoadenitis crónica leve.

GRADO II

Infiltración moderada de linfocitos aislados o la presencia de un solo foco con menos de 50 linfocitos. Sialoadenitis crónica moderada.

GRADO III

Un foco de 50 linfocitos por lobulillo. Sialoadenitis crónica severa. Puede verse atrofia acinar, fibrosis periductal y conductos dilatados.

CLASIFICACIÓN DE DANIELS Y WHITCHER (1994)

GRADO III

- Por lo menos 1 foco de 50 linfocitos
- 2 a 3 focos
- 4 a 6 focos
- 7 a 12 focos

- Diagnóstico Ecográfico

Se realizaron ecografías de alta resolución en parótida y submaxilar en los diferentes grupos experimentales con aparatología de última generación (Voluson 730 Expert) que posibilitan un diagnóstico ecográfico.

La graduación se basó en: grado de homogeneidad, tamaño de glándula y definición de bordes.

GRADO 0: Glándula normal

GRADO I: Pequeñas áreas hipoecoicas, con bandas ecogénicas. Tamaño de glándula discretamente aumentado. Borde mal definido.

GRADO II: Áreas hipoecoicas de 2 a 6 mm, con bandas ecogénicas. Aumento de tamaño glandular, bordes no visibles.

GRADO III: Áreas hipoecoicas > 6mm, bandas ecogénicas y zonas calcificadas. Grado avanzado de distorsión glandular.

- Análisis Estadísticos

La descripción estadística de los datos se realizó mediante la media \pm el error estándar cuando las variables eran cuantitativas y mediante su frecuencia relativa en porcentaje cuando las variables eran cualitativas. La comparación entre los grupos se realizó mediante Test "T" de Student para datos independientes cuando se comprobaron los supuestos distribucionales de normalidad e independencia de los errores, caso contrario se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon con un nivel de confianza del 95%. Se realizaron pruebas de especificidad y sensibilidad.

RESULTADOS

En relación al sexo, en la figura 1 se observa que en el grupo control, el 20% corresponde al sexo masculino y 80% femenino; el 10% al masculino y 90% de sexo femenino en SSp. En el grupo Bo y SSs el total de los pacientes fueron de sexo femenino (Fig. 3). En los registro de la edad no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos. (Fig. 4)

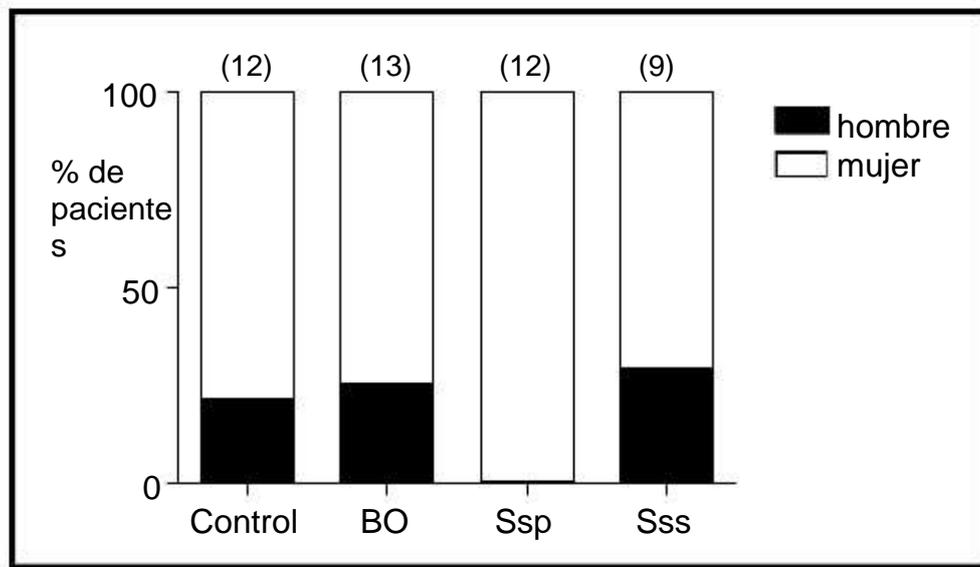


Figura 3: Diferencias en el sexo de los distintos grupos de estudio.

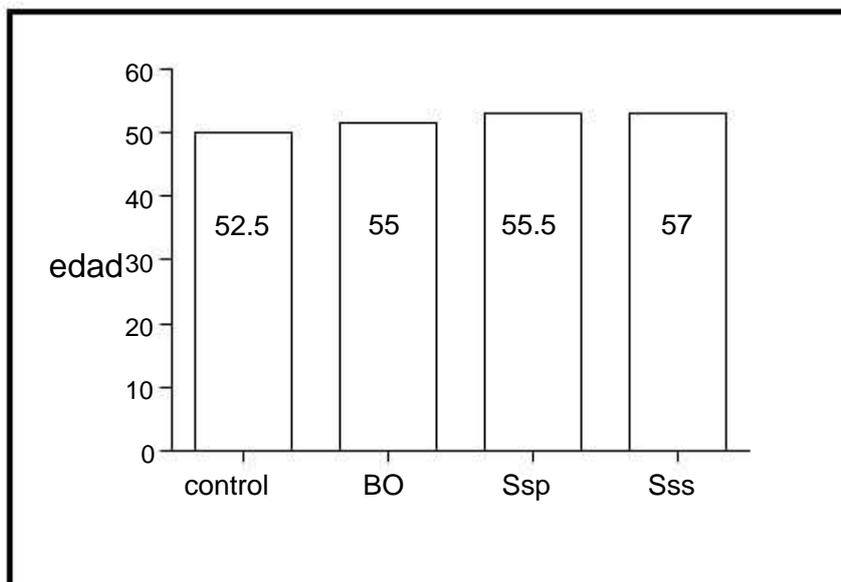


Figura 4. Promedio de edad de los pacientes en los distintos grupos de estudio.

Edad (años)	C	BO	Ssp	Sss
Valor promedio	52,5 (49-56)	55 (48-60)	55,5 (51-60)	57 (55-62)

Tabla IV: Rango y Promedio de edad de los pacientes en los diferentes grupos de estudio.

FLUJO SALIVAL BASAL

En la figura 5 observamos una disminución estadísticamente significativa del flujo basal de los pacientes con BO, SSp y SSs en relación al grupo C.

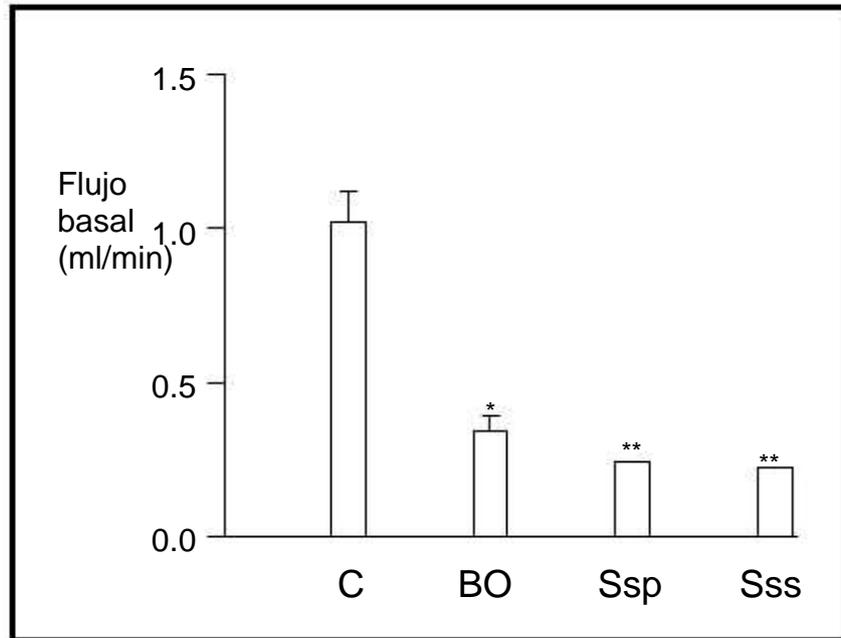


Figura 5: Flujo basal en los diferentes grupos de estudio. C: control; BO: boca y ojo seco; SSp: Sjögren primario; SSs: Sjögren secundario: P<0.05: BO vs C; P<0.01: SSp y Ss vs C.

GRUPO	FLUJO BASAL (ml/min) media ± ES
Control	1,02 ± 0,1
BO	0,30 ± 0,05
SSp	0,20 ± 0,003
SSs	0,20± 0,005

Tabla V: Valores medios de flujo salival. Test no paramétrico de Wilcoxon.

COMPUESTOS INORGÁNICOS

En la figura 6 y 7 se analizaron los componentes inorgánicos salivales, Potasio aumenta significativamente en SSs con respecto a SSp, BO y C ($p < 0.05$) El Cl⁻ se incrementa significativamente en SSs con respecto a SSp, BO y C ($p < 0.05$) El Cl⁻ se incrementa significativamente en SSp y SSs en relación a C y BO. El calcio no presentó diferencias mientras que el fosfato se incrementa significativamente en SSs (K⁺); Sodio (Na⁺); Cloro (Cl⁻), Calcio (Ca²⁺) y Fosfatos (PO₄³⁻). El sodio aumenta significativamente en SSs con respecto a SSp, BO y C ($p < 0.05$) El Cl⁻ se incrementa significativamente en SSp y SSs en relación a C y BO.

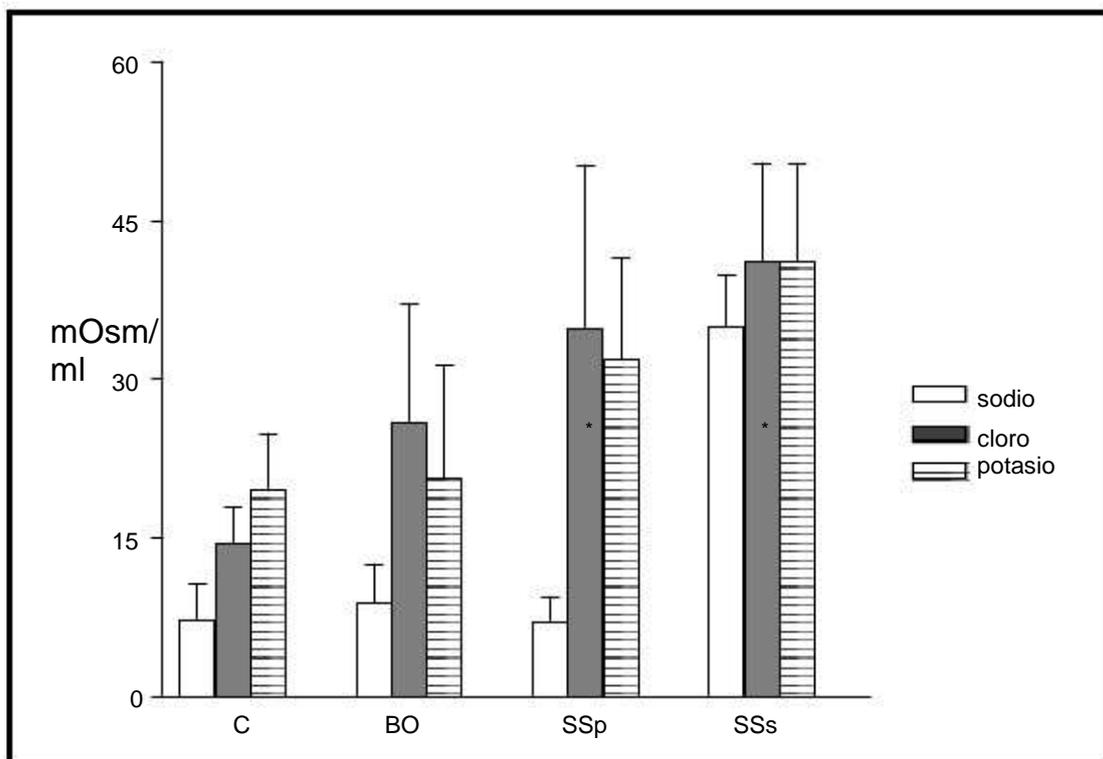


Figura 6: Valores de sodio, cloro y potasio en los diferentes grupos experimentales. C: control; BO: boca y ojo seco; SSp: Sjögren primario; SSs: Sjögren secundario. (*): $P > 0.05$: Sodio SSs vs C, BO y SSp; (*): $P < 0.05$: sodio SSs vs C, BO y SSp; Cloro SSp y SSs vs C y BO.

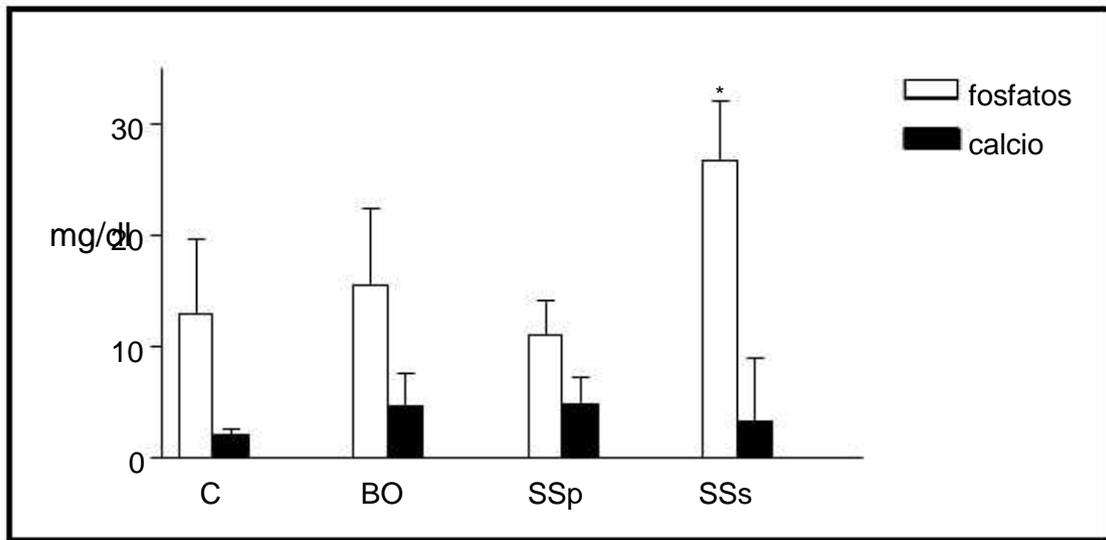


Figura 7: Valores de Calcio y Fosfatos en los diferentes grupos experimentales. C: control; BO: boca y ojo seco; SSp: Sjögren primario; SSs: Sjögren secundario.: Fosfatos SSs vs demás grupos experimentales.

Grupo	CL ⁻ (mOml/ml)	Na ⁺ (mOml/ml)	Ca ⁺² (mg/dl)	K ⁺ mOml /l)	PO ³⁻ (mg/dl)
Control	14. ± 3	7. ± 3.	2 ± 1	19 ± 5	13 ± 6
BO	26 ± 11	9 ± 3	5 ± 3	21 ± 10	15 ± 6
SSp	35 ± 25	7 ± 2	5 ± 2	32 ± 9	11 ± 2
SSs	41. ± 9	35 ± 5	3 ± 5	41 ± 9	27 ± 7

Tabla VI: Valores de iones salivales en los diferentes grupos estudiados.

COMPUESTOS ORGÁNICOS

El análisis de los compuestos orgánicos reveló un aumento en las proteínas totales en BO, SSp y SSs en relación a C. Los niveles de urea se comportaron diferente, observándose una disminución en SSs en relación a los demás grupos experimentales. La IgA mostró un incremento significativo sólo en SSs.

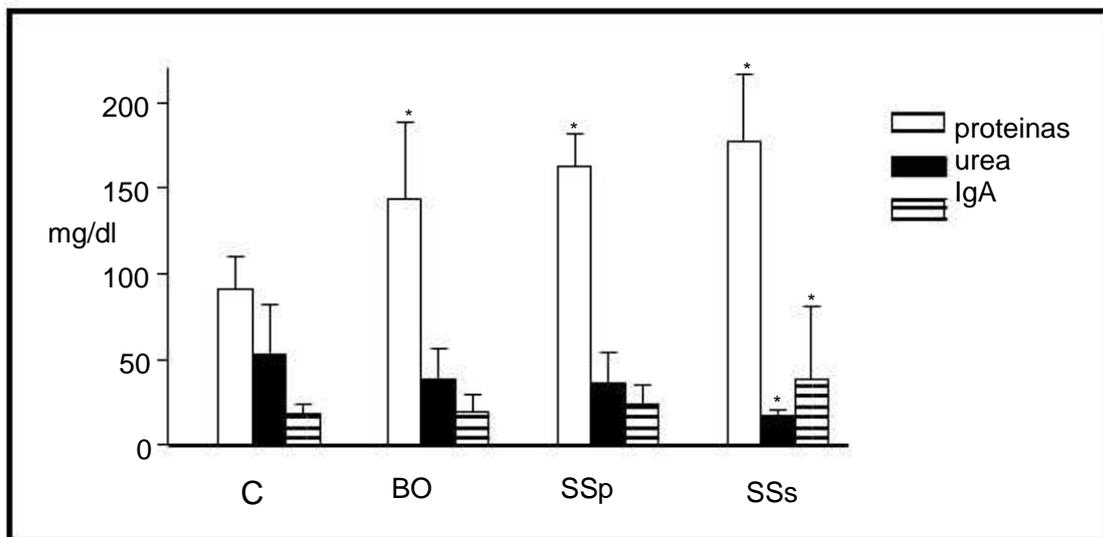


Figura 8: Valores de proteínas totales, urea e IgA en los distintos grupos de estudio. Proteínas totales BO, SSp y SSs en relación a C; Urea SSs vs C, BO y SSp; IgA SSs vs C, BO y SSp.

Grupo	PROTEÍNAS (mOsm/ml)	UREA (mOsm/ml)	IgA (mOsm/dl)
Control	91 ± 19	52±29	18 ± 6
BO	143± 45	39 ±18	20±11
SSp	163 ± 35	36±19	24 ± 12
SSs	177 ± 43	17± 3	38 ± 43

Tabla VII: Valores medios en los distintos grupo de estudio. C: control: BO boca seca ojo seco; SSp: Sjögren primario; SSs: Sjögren secundario.

CARACTERIZACIÓN DE VARIABLES RELACIONADAS A SALUD BUCAL

El Figura 9 muestra que un elevado porcentaje de pacientes con diagnóstico de BO, SSp y SSs utilizaban prótesis (BO: 77%), (SSp :100%) y (SSs :83%)

El número de pacientes con Candidiasis se incrementa de la misma manera: (BO: 69%), (SSp: 66%) y (SSs: 66%). Se observó más porcentaje de pacientes con gingivitis en C y BO (42% y 38 % respectivamente) en relación a SSp y SSs. (Tabla VIII)

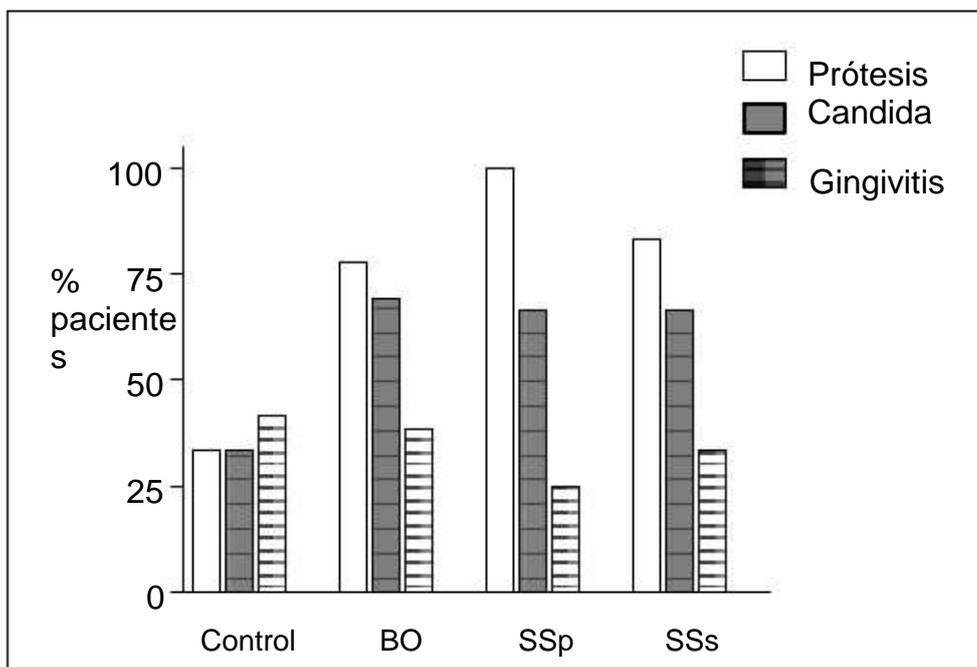


Figura 9: Variables de salud Bucal según % de pacientes en los distintos grupos experimentales.

PACIENTES	PROTESIS %	CANDIDA %	GINGIVITIS
C (n=12)	33.3	33.6	41.7
BO (n=13)	77.8	69.2	38.5
SSp (n=13)	100	66.7	25
SSs (n=9)	83.3	66.7	33.6

Tabla VIII: Porcentajes de pacientes / variables de salud bucal.

ANTICUERPOS EN SUERO Y SALIVA

En los controles, el análisis de los anticuerpos en suero FR, ANA, ENA Ro/SSA, fueron negativos en la totalidad de los pacientes. Se registró porcentaje de casos positivos para anticuerpos FR, ANA anti Ro/SSA y La/SSB en suero para los grupos SSs y BO (Tabla IX).

En saliva los anticuerpos que mostraron positividad fueron FR, Ro/SSA, La/SSB en SSp, ANA Ro/SSA, La/SSB en SSs. Por otra parte, al realizar las comparaciones estadísticas entre los diferentes grupos de estudio, en función de la positividad para los anticuerpos medidos en suero y saliva, se observaron diferencias altamente significativas para el anticuerpo Ro y La entre los pacientes con SSp y SSs vs los C ($p < 0.0001$). (Figura 9 y 10)

ANTICUERPOS EN SUERO

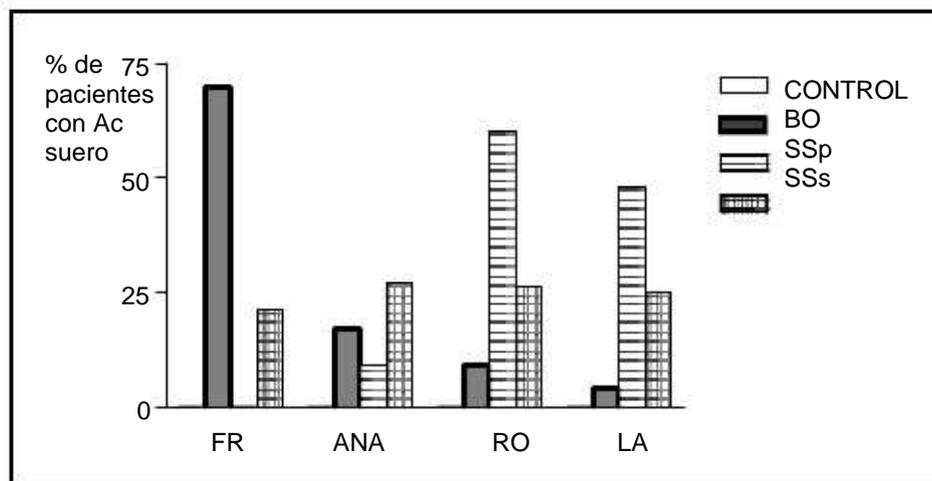


Figura 8: Porcentaje de pacientes con anticuerpos positivos en suero.

ANTICUERPOS EN SALIVA

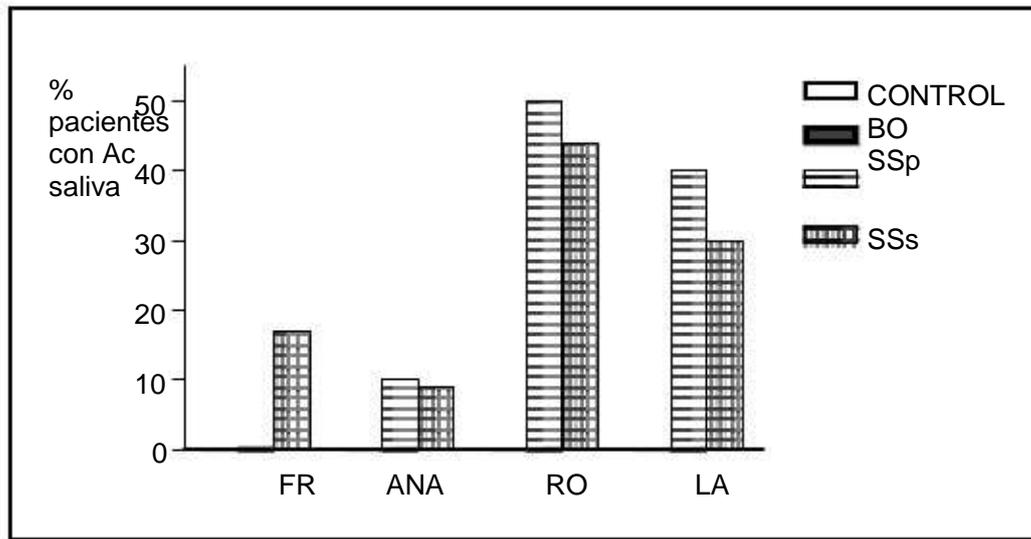


Figura 11: Porcentaje de pacientes con anticuerpos positivos en saliva SSp: Síndrome de Sjögren primario; SSs: Síndrome de Sjögren secundario, BO: Boca y Ojo Seco C: control.

PORCENTAJES DE ANTICUERPOS

Origen	SUERO		SALIVA	
	FR %	ANA %	FR %	ANA %
C (n=12)	0	0	0	0
BO (n=13)	70	30	0	0
SSp (n=14)	0	0	10	0
SSs (n=13)	25	22	0	0

Tabla IX: Diferencias porcentuales de anticuerpos FR, ANA en suero y saliva SSp: Síndrome de Sjögren primario; SSs: Síndrome de Sjögren secundario, BO: Boca y Ojo Seco C: control.

Origen	SUERO		SALIVA	
	Ro/SSB %	La/SSB %	Ro/SSA %	La/SSB %
Grupo C (n=12)	0	0	0	0
BO (n=13)	10	5	0	0
SSp (n=14)	78	70	55	46
SSs (n=13)	70	65	48	40

Tabla X: Diferencias porcentuales de anticuerpos Ro/ SSA La/SSB en suero y saliva.

PRUEBAS DE ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD

Se realizaron las pruebas de especificidad y sensibilidad, tomando la biopsia como parámetro de referencia. Encontramos que al evaluar la sensibilidad y especificidad del anticuerpo Ro en suero en relación con biopsia (Gold Standard), existe una alta especificidad (1) y una sensibilidad aceptable. (0,71) Es decir que, mediante la medición del anticuerpo Ro en suero se pueden detectar los verdaderos negativos (sanos o sin SS) y con un 30% de error los verdaderos positivos (enfermos). De esta manera, se puede considerar que la medición de Ro en suero puede ser útil como una metodología diagnóstica, particularmente para determinar quiénes no tienen la enfermedad. Al evaluar la sensibilidad y especificidad del anticuerpo Ro en saliva en relación a biopsia (Gold Standard), se observa que la misma no es específica (0) y presenta una sensibilidad más bien baja (0,59). Por lo cual no es una prueba que resulte sustitutiva de la biopsia para diagnóstico de SS. Al comparar la medición del anticuerpo Ro en saliva en relación a Ro suero se obtiene una especificidad (0,50) y sensibilidad (0,67). En comparación el anticuerpo La medido en suero o en saliva en relación con la biopsia no presenta especificidad (0), en tanto la sensibilidad observada es baja (0,57), por lo cual es poco aconsejable como prueba diagnóstica sustitutiva de la biopsia para determinar SS. (Tabla XI)

Anticuerpo	Muestra	Gold Standard	Especificidad	Sensibilidad
RO	suero	Biopsia	1,00	0,71
	saliva	Biopsia	0,00	0,59
		RO suero	0,50	0,67
LA	suero	Biopsia	0,00	0,57
	saliva	Biopsia	0,00	0,41
		LA suero	0,61	0,55

Tabla XI: Especificidad y Sensibilidad de anticuerpos Ro, La, (Gold standard Biopsia)

ECOGRAFÍAS DE ALTA RESOLUCIÓN DE GLÁNDULA PARÓTIDA Y SUBMAXILAR

De acuerdo al análisis de la graduación de las ecografías se observó en pacientes controles sanos grado 0, normales (Fig.11), en BO grado 0 - I alteración leve a moderado (Fig.12) y pacientes con SSp y SSs grado 2-3 alteración grave con grado avanzado de distorsión glandular (Fig.13,14, 15).

Grado 0

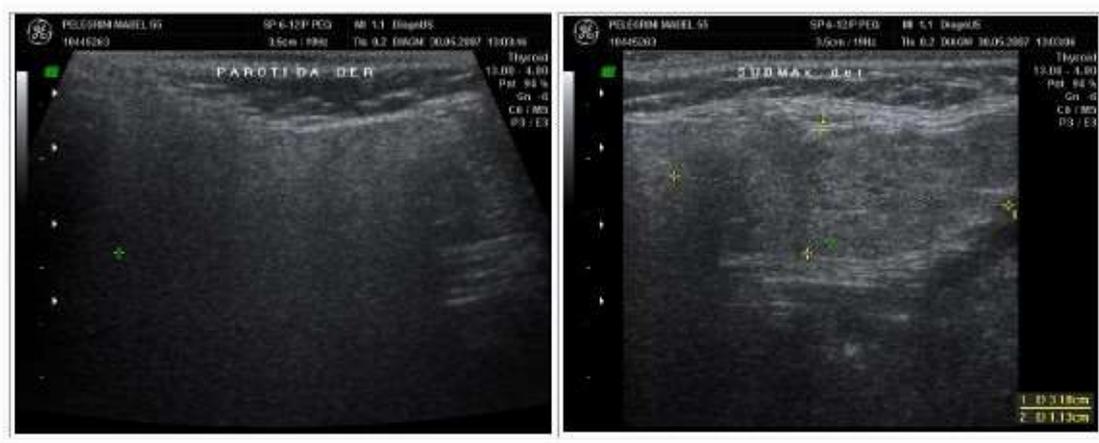


Figura 11: Pacientes C. Glándula normal.

Grado I: Pequeñas áreas hipoeoicas, con bandas ecogénicas, Tamaño de glándula discretamente aumentado. Borde mal definido.



Figura 12: Pacientes BO grado I alteración leve a moderado

Grado II: Áreas hipoecoicas de 2 a 6 mm, con bandas ecogénicas, aumento de tamaño glandular, bordes no visibles.



Figura 13: Pacientes SS grado 3 alteración grave con grado avanzado de distorsión glandular.

Grado III: Áreas hipoecoicas de >6 mm, bandas ecogénicas y zonas calcificadas. Grado avanzado de distorsión glandular.

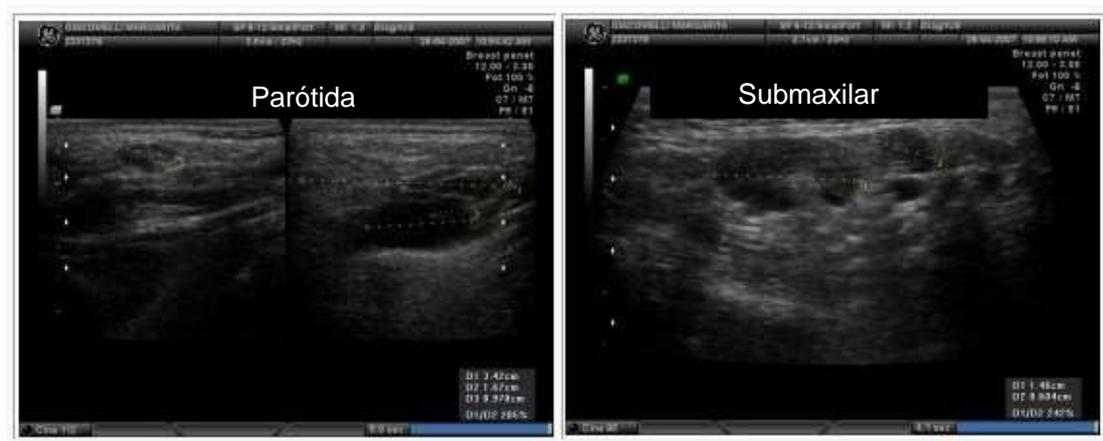


Figura 14: Pacientes SS grado 3 alteración grave con grado avanzado de distorsión glandular.

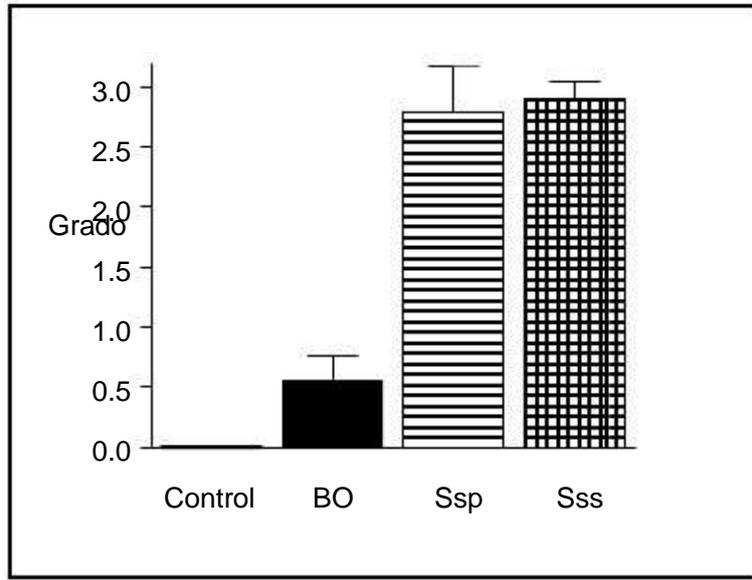


Figura 15: Graduación de ecografías de alta resolución en los diferentes grupos de estudio.

CITOLOGÍAS EXFOLIATIVA Y DE IMPRESIÓN

El análisis de las muestras con ambas técnicas de citología permitió la observación de parámetros semejantes como tipos de células, color, tamaño y cantidad. No obstante, la citología por impresión permitió apreciar la forma de células y núcleos con más claridad así como la presencia de neutrófilos polimorfonucleares. El diagnóstico de las citologías fue basado en una valoración morfológica que incluyó tipo celular predominante, núcleos, agrupación y plegamiento celular. Ambas técnicas nos permitieron observar en C células epiteliales pavimentosas aisladas regulares en tamaño y cantidad, basófilos, núcleos centrales picnóticos. (Figura N° 16-17). En muestras pertenecientes a BO se registraron células aisladas, agrupadas y plegadas, con citoplasma de predominio eosinófilo y sin alteraciones nucleares (Fig.18 -19) Mientras que en SS observamos células frecuentemente agrupadas y plegadas, con predominio basófilo, núcleo aumentado de tamaño y cromatina más densa (Fig. 20-21)

CITOLOGÍA EXFOLIATIVA

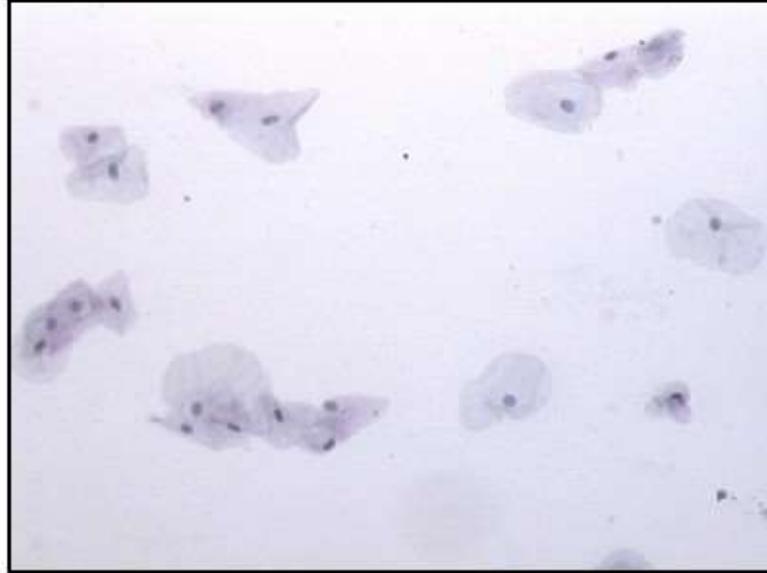


Figura 16 Citología exfoliativa normal (C) células epiteliales pavimentosas aisladas regulares en tamaño y cantidad, basófilos, núcleos centrales picnóticos PAP 10x



Figura 16: Citología exfoliativa normal (C) epiteliales pavimentosas aisladas regulares en tamaño y cantidad, basófilos, núcleos centrales picnóticos PAP 20x

CITOLOGÍA POR IMPRESIÓN



Figura 17: Citología por impresión normal (C) células epiteliales pavimentosas aisladas regulares en tamaño y cantidad, basófilos, núcleos centrales picnóticos. Coloración PAP modificada 10x



Figura 17: Citología por impresión normal (C) células epiteliales pavimentosas aisladas regulares en tamaño y cantidad, basófilos, núcleos centrales picnóticos. PAP modificada 40 X

CITOLOGÍA EXFOLIATIVA

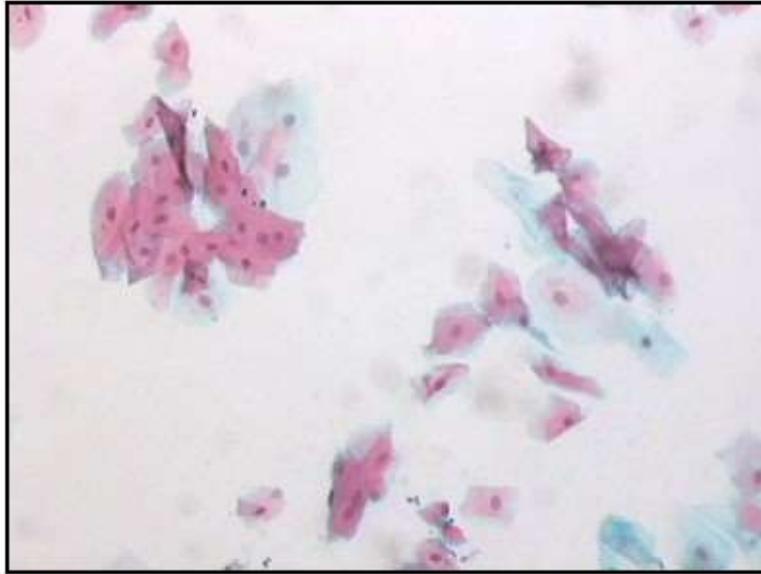


Figura 18: Citología exfoliativa BO Células aisladas agrupadas y plegadas, con citoplasma predominio eosinófilo presencia de algunas células cianófilas, sin alteraciones nucleares.

Coloración PAP 10 X



Figura 18: Citología exfoliativa BO. Coloración Células aisladas agrupadas y plegadas, con citoplasma predominio eosinófilo presencia de algunas células cianófilas, sin alteraciones nucleares. Coloración PAP 20 X.

CITOLOGÍA POR IMPRESIÓN

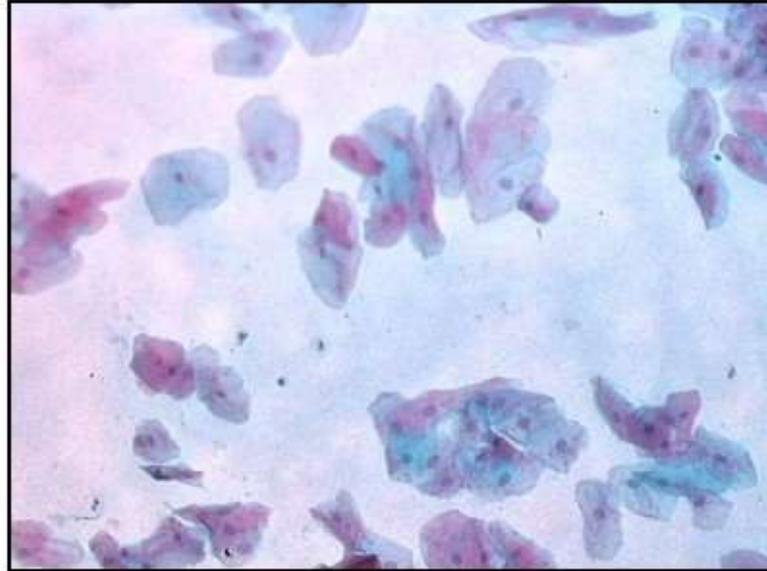


Figura 19: Citología por impresión BO - Células superficiales aisladas agrupadas y plegadas, con citoplasma eosinófilo y cianófilas sin alteraciones nucleares. Coloración PAP modificada

10X

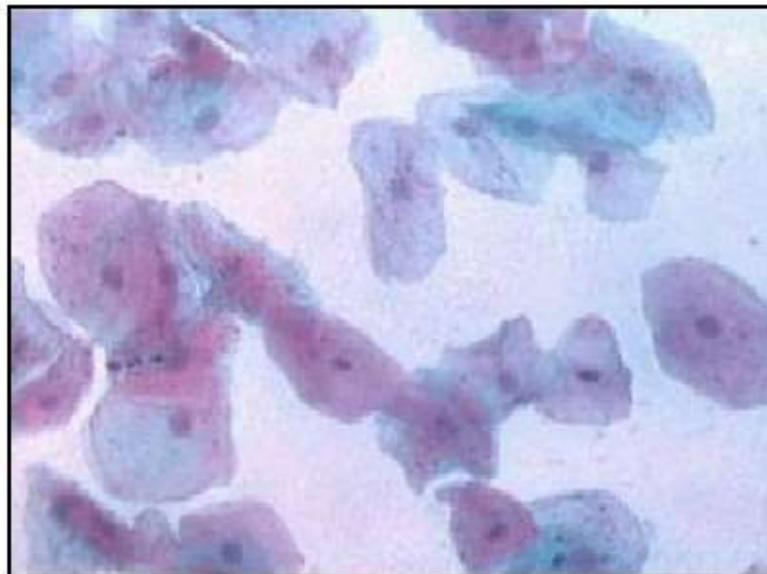


Figura 19: Citología por impresión BO .Células superficiales aisladas agrupadas y plegadas, con citoplasma eosinófilo y cianófilas sin alteraciones nucleares. Coloración PAP modificada

20x

CITOLOGÍA EXFOLIATIVA

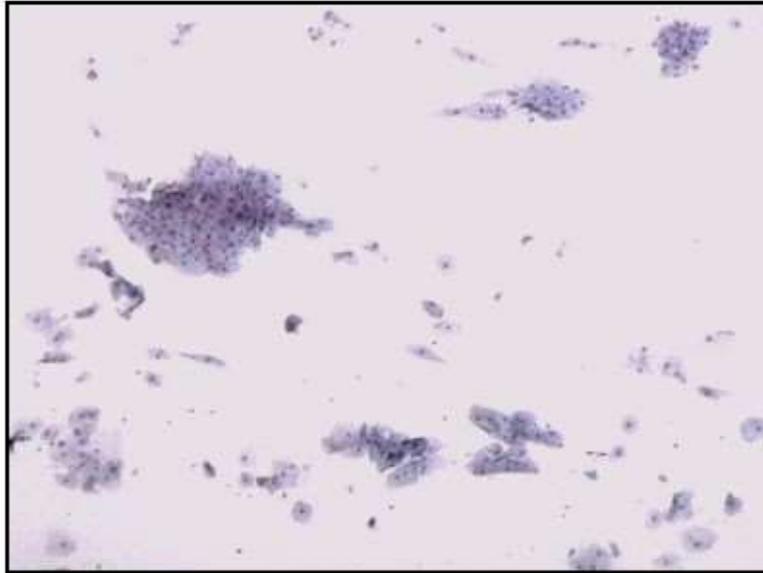


Figura20: Citología exfoliativa SS células epiteliales frecuentemente agrupadas y plegadas, con predominio basófilo, núcleo aumentado de tamaño. Coloración PAP 10X

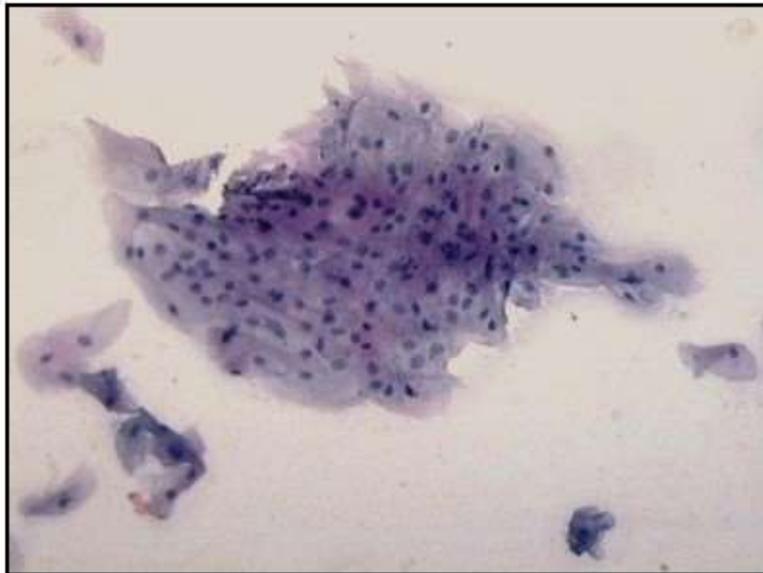


Figura 20: Citología exfoliativa SS células epiteliales frecuentemente agrupadas y plegadas, con predominio basófilo, núcleo aumentado de tamaño. Células epiteliales en colgajo y aisladas PAP 20 X

CITOLOGÍA POR IMPRESIÓN

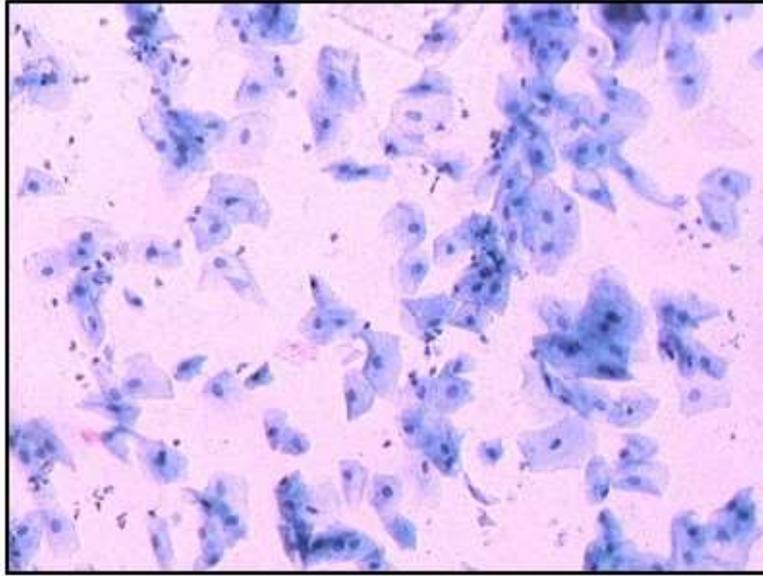


Figura 21: Citología por impresión SS células frecuentemente agrupadas y plegadas, con predominio basófilo, núcleo aumentado de tamaño coloración PAP modificada 10x



Figura 21: Citología exfoliativa SS SS células frecuentemente agrupadas y plegadas, con predominio basófilo, núcleo aumentado de tamaño coloración PAP modificada 20x

BIOPSIAS DE GLÁNDULAS LABIALES

De acuerdo al análisis anatómopatológico de las biopsias salivales labiales se observó que en pacientes controles sanos (C) fueron grado 0: Glándula salival normal , sin infiltrado linfocitario (Fig.22); en pacientes BO, la clasificación es entre 0 - I, con infiltrado leve a moderado, sialoadenitis crónica leve (Fig.23). Pacientes SS Grado II Infiltración moderada de linfocitos aislados o la presencia de un solo foco Con menos de 50 linfocitos. Sialoadenitis crónica moderada (Fig.24), Grado 3: sialoadenitis crónica severa con 50 o más linfocitos por campo (Fig.25). En la figura 26 se observa el aumento significativo de grado II y III en SSp y SSs con respecto a BO y C.

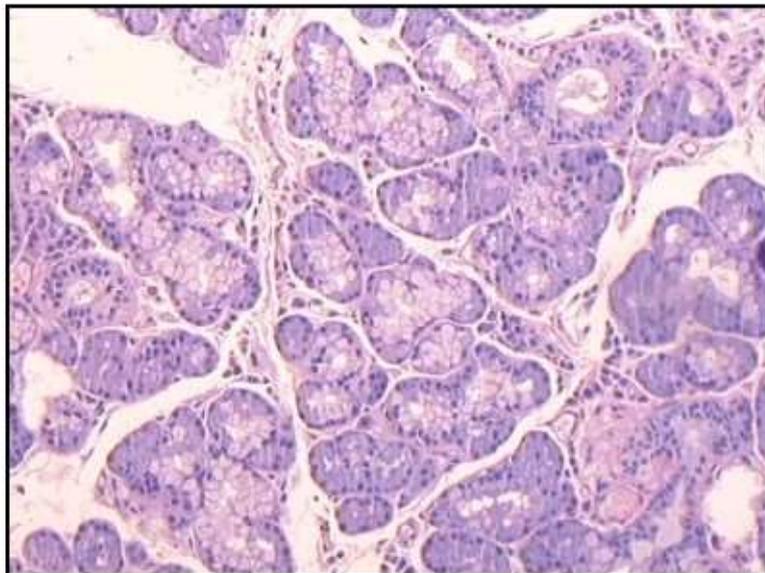
GRADO 0

Figura 22: Biopsia de glándula salival labial normal C, sin infiltrado linfocitario. Coloración HE

10X

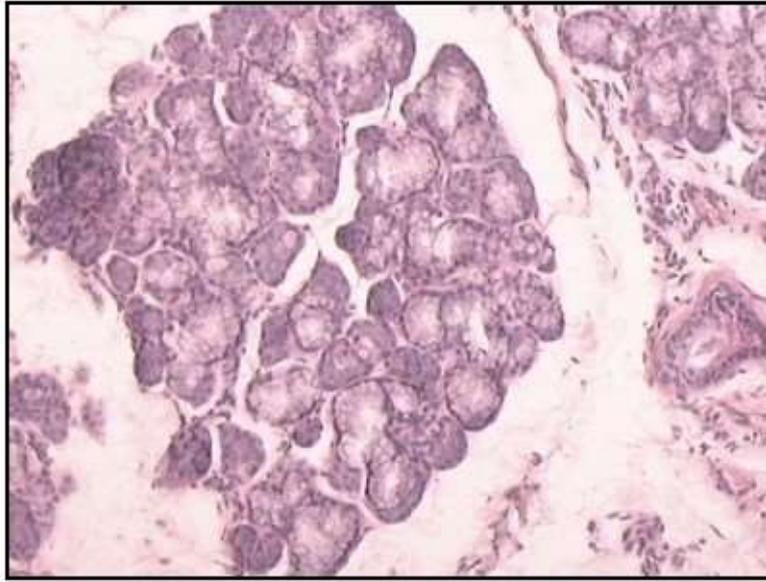


Figura 22: Biopsia de glándula labial C, sin infiltrado linfocitario. Coloración HE 20X

GRADO I

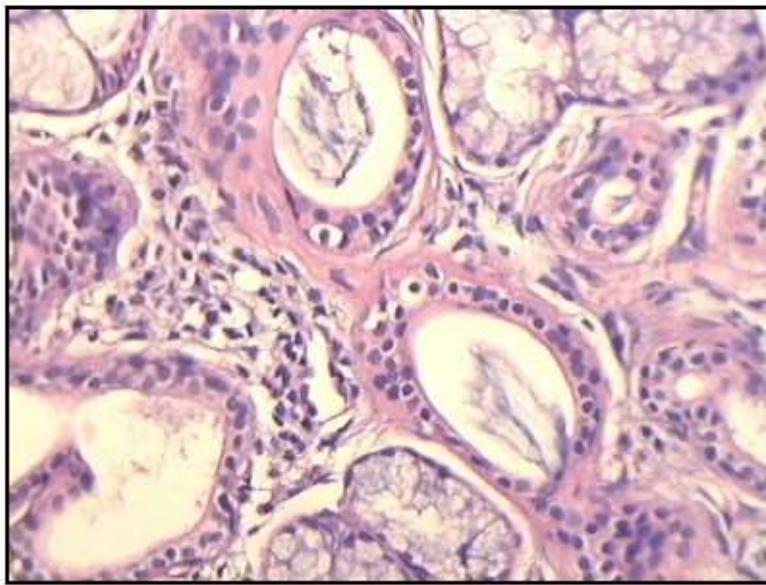


Figura 23: Biopsia de glándula labial Infiltrado linfocitario leve, difuso. Sialoadenitis crónica leve. Coloración HE 20X

GRADO II

GRADO II

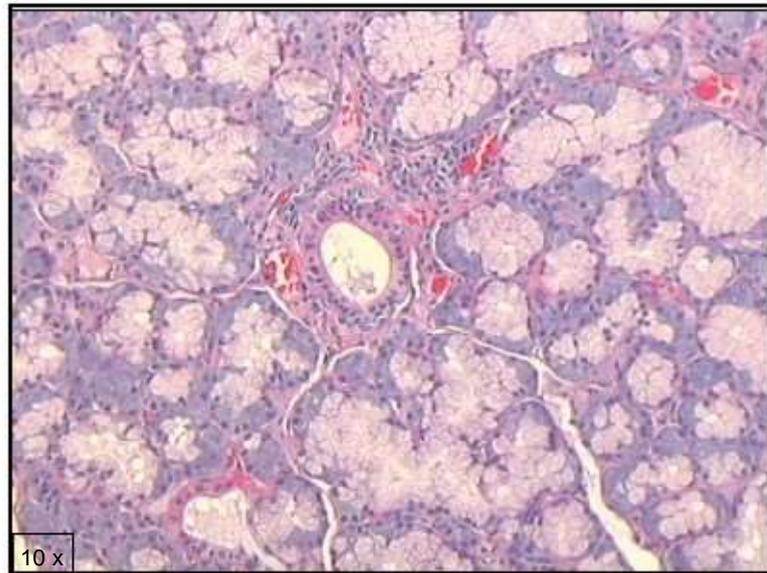


Figura 23: Biopsia de glándula labial. Infiltración moderada de linfocitos aislados o la presencia de un solo foco. Con menos de 50 linfocitos. Sialoadenitis crónica moderada 10X

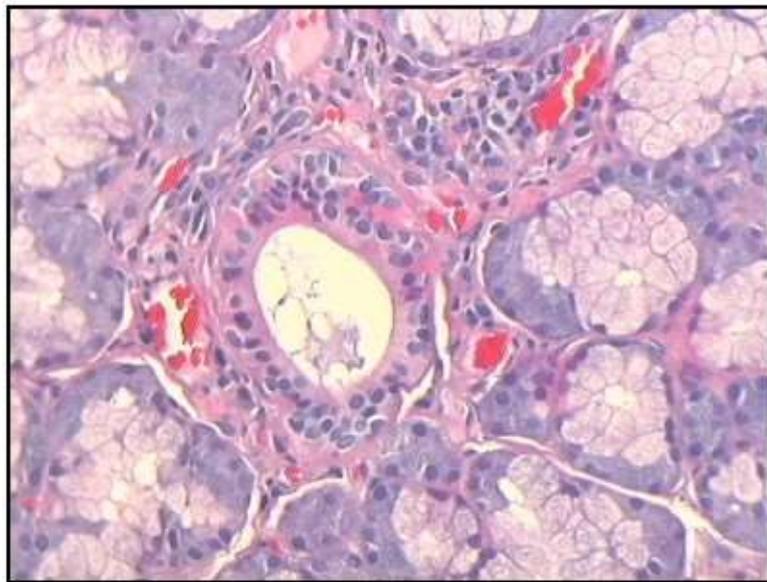


Figura 24: Biopsia de glándula labial. Infiltración moderada de linfocitos aislados o la presencia de un solo foco. Con menos de 50 linfocitos. Sialoadenitis crónica moderada HE 20 X

GRADO III

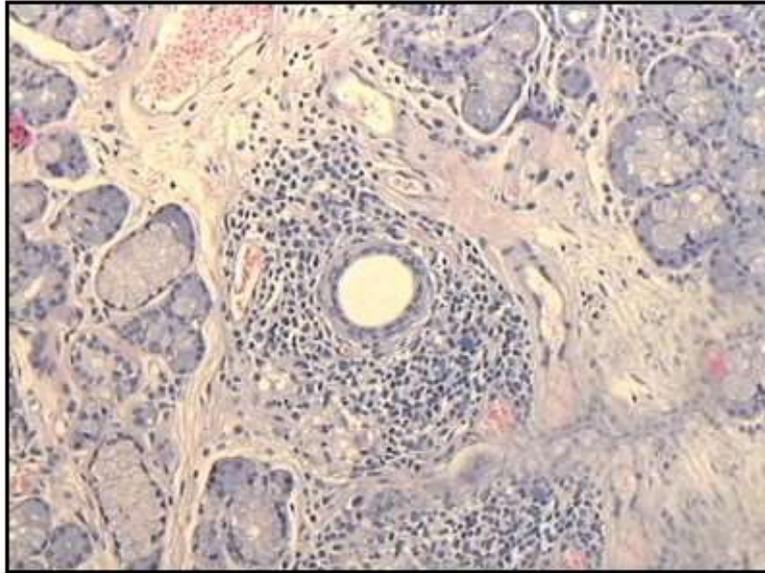


Figura 25: Biopsia de glándula salival labial SS. Un foco de 50 linfocitos por lobulillo
Sialoadenitis crónica severa. HE 10 X.

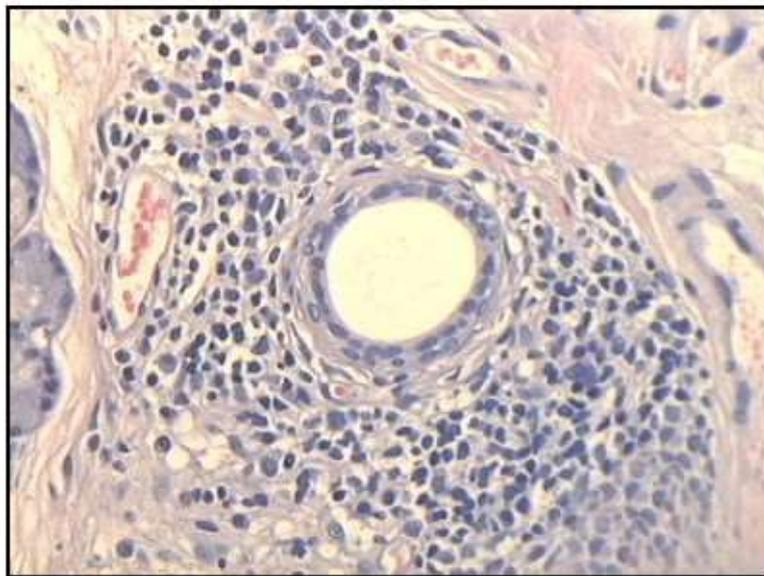


Figura 25: Biopsia de glándula salival labial SS. Un foco de 50 linfocitos por lobulillo
Sialoadenitis crónica severa HE 20 X.

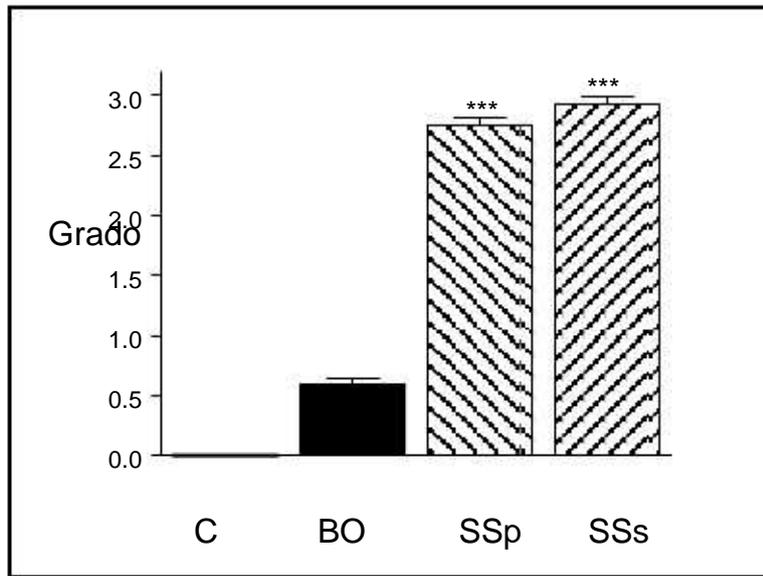


Figura 26: Graduación de biopsias en los diferentes grupos de estudio

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluaron marcadores de diagnóstico en saliva y cavidad bucal de individuos con Síndrome de Sjögren.

El SS, también llamado en ocasiones «síndrome seco», es una enfermedad autoinmune que produce la inflamación de determinadas glándulas del organismo. Se alteran secreciones como la saliva, lágrimas, las secreciones mucosas de la faringe, la tráquea y las secreciones vaginales. Es crónico y de diagnóstico tardío (93). Este síndrome puede aparecer a cualquier edad, aunque lo más frecuente es que la enfermedad se inicie entre los 40 y los 60 años; los pacientes más afectados son mujeres (94). La muestra del presente trabajo incluyó pacientes mujeres menopáusicas o premenopáusicas, con una media de edad de 53 años, que padecían de hiposialia y reunían al menos cuatro de los criterios necesarios para el diagnóstico del SS.

El mantenimiento del equilibrio de la función bucal depende de la sensación de bienestar experimentada por la persona. Gupta y col. informaron que para el diagnóstico de hiposalivación, es importante basarse en la historia del paciente y en el examen clínico (95).

La xerostomía no indica necesariamente una sequedad objetiva de la mucosa, sino la “sensación subjetiva” de boca seca (96).

Así, en el presente trabajo se presentaron dentro de los pacientes controles, algunos con xerostomía (sensación subjetiva de boca seca) a pesar de mantener un flujo de salivación normal. En otros casos, la sensación de xerostomía se presentó asociada a una disminución del flujo basal inferior a la mitad, en relación al grupo control, con salivación normal. En los pacientes BO y SS, se registró xerostomía asociada a hiposalivación, con un flujo salival $< 0.5 \text{ ml x min}$, siendo menor aún el de los SSp, lo que coincide con otros autores (23).

Podemos concluir, basados en nuestra experiencia, la necesidad de efectuar la medición del flujo salival basal y estimulado, por medio de la sialometría, técnica que confirma el diagnóstico del grado exacto de salivación del paciente. Es sabido que los electrolitos son secretados dentro de la boca por las glándulas salivales, aunque la exudación de suero desde la mucosa oral

injurizada también contribuye a las concentraciones de electrolitos encontradas en la saliva (97). La concentración de electrolitos en el grupo con salivación normal (C), coincidió con los resultados de otros autores (98). Si bien estudios previos documentaron un ligero incremento de las concentraciones salivales de sodio en los pacientes con hiposalivación, los resultados del presente trabajo permiten afirmar que el aumento es significativo sólo en pacientes con SSs. Por el contrario, el cloro aumentó significativamente en todos los grupos con hiposalivación: BO, SSp y SSs. Este incremento significativo del sodio y cloro podría deberse a una disminución en la reabsorción de ambos iones en los ductos, principalmente el conducto estriado de las glándulas salivales. Al respecto, algunos autores afirman que este deterioro es un reflejo de la gravedad de la enfermedad (99). Se observó un incremento considerable de los niveles salivales de potasio en todos los grupos con hiposalivación. Cabe acotar que el pasaje hacia la saliva de potasio proviene del plasma, en el cual su concentración es cinco veces superior a la del K + salival. Es posible que en SS, esta alteración obedezca a un defecto relacionado con los mecanismos de excreción ductal (100-101). Actualmente algunos autores sostienen que las modificaciones de estos electrolitos y por efecto de la xerostomía podrían explicar la presencia de lesiones de la mucosa (100).

En referencia al calcio, encontramos un pequeño aumento en grupos con hiposalivación. Tal como ocurre con el potasio y, en coincidencia con otros autores, la concentración plasmática de calcio constituye una fuente salival factible, frente a una mucosa dañada, con una correlación positiva entre el sangrado gingival y el calcio en saliva (102). No encontramos una explicación para las diferencias estadísticas observadas en las tasas de fosfato salival entre SSp y SSs, no existiendo datos explicativos en la literatura relacionada con el tema. Sin embargo otros autores destacan la importancia del fosfato salival en pacientes con hiposalivación de diferente origen, por la notable contribución de este electrolito en la remineralización del esmalte así como agente tampón en situación de bajo flujo salival (103-104). En general, nuestros hallazgos en la concentración salival de los electrolitos analizados ponen en manifiesto que los trastornos son más acentuados en Ssp, y SSs. Esto podría

conferir algún valor a la determinación de electrolitos en saliva como marcadores de SS.

En relación a los componentes orgánicos, se detectaron aumentos significativos de proteínas totales analizadas en saliva de pacientes con hiposalivación. Este aumento proteico se correlaciona con la disminución de urea encontrada sobre todo en SSs. Si bien en este estudio no se realizó electroforesis de saliva que permitiera evaluar cuáles proteínas estaban elevadas, es factible que ocurra una situación similar a la hipergamaglobulinemia policlonal encontrada en suero, reflejo directo de la hiperactividad linfocitaria característica de la enfermedad (105,106,107). La inmunoglobulina A secretoria mostró un aumento significativo en SSs. Algunos estudios en pacientes con SS demuestran aumentos en saliva de IgA, lisozima, lactoferrina que actuarían como marcadores de inflamación glandular (108). Se ha demostrado que la IgA tiene un papel importante en la etiopatogenia del SS (109). En el caso de SS podría interpretarse que, a pesar del daño glandular a nivel de conductos, los acinos permanecerían intactos para su función de secreción de proteínas en la saliva primaria.

En relación a las manifestaciones bucales la hiposalivación se pudo asociar con un alto índice de candidiasis, falta de elementos dentarios y presencia de prótesis. Estudios previos han demostrado que pacientes con SS tienen gran cantidad de caries, usualmente son lesiones ubicadas en la superficie cervical de los dientes, lo que produce una gran pérdida de piezas dentales. A pesar de la buena higiene bucal, en estos pacientes se ha descrito un número más alto de microorganismos cariogénicos y acidófilos, tales como los *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* (110 - 111).

Es razonable creer que los cambios en la secreción salival así como las modificaciones en la composición proteica en SS, promueven el crecimiento de los microorganismos asociados a las condiciones más frecuentes encontradas en cavidad oral como caries, gingivitis, candidiasis, infecciones de mucosas entre otras (112).

Está bien documentado que la presencia de autoanticuerpos en suero, como ANA, FR y anti-Ro/SSA no son específicos para la SS, si bien el hallazgo de

los Ro/SSA y La/SSB constituyen uno de los criterios de diagnóstico internacional de la enfermedad (62). En nuestro estudio en los C, el análisis de los anticuerpos en suero FR, ANA, ENA Ro/ SSA, fueron negativos en la totalidad de los pacientes. Por el contrario, se registraron porcentajes de casos positivos para anticuerpos FR, ANA anti Ro/SSA y La/SSB en suero para los grupos SSs y BO.

En saliva los anticuerpos que mostraron positividad fueron FR, Ro/SSA, La/SSB en SSp, ANA, Ro/SSA y La/SSB en SSs. Por otra parte, al realizar las comparaciones estadísticas entre los diferentes grupos de estudio, en función de la positividad para los anticuerpos medidos en suero y saliva, se observaron diferencias altamente significativas para el anticuerpo Ro y La entre los pacientes con SSp y SSs. Estos resultados nos permitirían sugerir que la presencia de estos anticuerpos en saliva, podrían ser un marcador orientador de la causa de hiposalivación. Las pruebas de especificidad y sensibilidad, tomando la biopsia como parámetro de referencia, (Gold Standard) permitieron demostrar que existe una alta especificidad y una sensibilidad aceptable entre el anticuerpo Ro en suero y la biopsia, pudiendo considerar que la medición de Ro en suero puede ser útil como metodología diagnóstica, no invasiva orientadora, particularmente para determinar quiénes no tienen la enfermedad. Estos resultados coinciden con otros autores que demuestran una alta especificidad y sensibilidad de los anticuerpos Ro/ SSA, y La/ SSB en suero (113). Yavuz et al. sugieren que estos autoanticuerpos pueden contribuir a la patogenia de la afección de la glándula salival y lagrimal y por lo tanto son útiles para el seguimiento de la gravedad de la afección glandular en pacientes con SS (82). Nuestra evaluación de la sensibilidad y especificidad del anticuerpo Ro y La en saliva en relación con biopsia fue baja, por lo tanto no sería aconsejable como prueba diagnóstica sustitutiva de la biopsia para determinar SS.

La citología se aplica al diagnóstico de las enfermedades orales desde que Papanicolaou y Traut demostraron su validez para el diagnóstico de las neoplasias del cérvix uterino (90). Desde ese momento, la citología comenzó a practicarse en la cavidad oral como un método de diagnóstico citopatológico.

Actualmente, ésta técnica se realiza para diagnosticar algunas afecciones de la mucosa bucal como lesiones precancerosas, así como para la caracterización de marcadores de riesgo oncogénico en la cavidad bucal (114-115).

La citología por impresión fue utilizada por primera vez en ojo por Egbert et al, siendo modificada posteriormente por otros autores con la finalidad de establecer una mejor correlación entre la citología de impresión y la evolución clínica de la severidad del ojo seco (116). Cada grado de severidad clínica se corresponde con el mismo grado de metaplasia escamosa de la conjuntiva (117, 118,119). En nuestro estudio, se realizaron ambas técnicas, exfoliativa y por impresión, en la mucosa bucal. Con la técnica por impresión aplicada en cavidad bucal se corroboraron sus virtudes, por ser una técnica sencilla, indolora, no invasiva, que permite diseñar el tamaño del frotis, mantiene la morfología de las células superficiales de la mucosa bucal, la relación célula con célula, y otros componentes celulares como los inflamatorios. De acuerdo a los resultados del presente trabajo, si bien se observaron diferencias cualitativas en los pacientes SS, no podrían ser utilizadas como un marcador de importancia diagnóstica. No se descarta la factibilidad de poderlas aplicar en patologías tanto sistémicas como bucales.

Actualmente se realizan estudios como gammagrafías, sintigrafías o sialografías para el diagnóstico de SS (120-121). Son costosos e invasivos, por lo tanto poco usados (122). En este estudio, los cambios patológicos de las glándulas salivares mayores, se analizaron a través de ecografías de alta resolución. Se pudieron establecer relaciones directas entre los hallazgos ecográficos y ciertos síntomas clínicos tales como la severidad de la xerostomía, el agrandamiento de las glándulas salivales mayores y la presencia positiva de anticuerpos Ro/SSA y La/SSB. Está demostrado que el examen histopatológico de las glándulas salivales menores está muy extendido para el diagnóstico de SS. La investigación de los cambios histopatológicos de las glándulas salivales labiales en SS, se lleva a cabo a través de una biopsia de glándula labial debido al riesgo que significa hacer una biopsia en una glándula salival mayor. Sin embargo, Daniels informó que la severidad de la infiltración linfocitaria periductal de las glándulas labiales no siempre refleja cambios

patológicos de las glándulas salivales mayores, tales como reducción del índice de flujo salival parotídeo y agrandamiento de las glándulas submandibulares y parótida (122). Para realizar un preciso diagnóstico de SS es necesario investigar los cambios patológicos presentes en las glándulas mayores (124). Esta técnica diagnóstica sería útil ya que permite detectar áreas de inflamación glandular, presenta una buena correlación con los resultados de la biopsia y se trata de una técnica económicamente accesible y no invasiva

En las biopsias labiales encontramos en pacientes BO un infiltrado linfocitario difuso leve, mientras en SSp y SSs se observó una infiltración linfocitaria con focos de 50 o más linfocitos en 4 mm², con severa distorsión glandular.. En la práctica diaria, el problema real consiste en valorar si la sialoadenitis de las GSM observada en SS es específica o no de esta enfermedad. Existen estudios necrópticos que demuestran una baja incidencia de sialoadenitis grado IV en pacientes fallecidos por SS u otras enfermedades autoinmunes (125). Algunos autores afirman que el análisis inmuno-histo-químico del infiltrado inflamatorio de la glándula salival labial puede ayudar no solo a comprender los mecanismos patogénicos implicados en el inicio, persistencia y posterior destrucción del sistema glandular exocrino; sino también en otras causas de sialoadenitis no relacionadas con SS (126,127). Los hallazgos de los marcadores de nuestro estudio, son orientativos e inocuos, y podrían significar una primera aproximación al diagnóstico del Síndrome de Sjögren.

CONCLUSIONES

- ❖ La xerostomía no se relaciona necesariamente con la hiposalivación; se observaron pacientes con sensación de boca seca sin un flujo salival disminuido.
- ❖ La modificación en los componentes inorgánicos (Na^{2+} , Cl^- , K^+) sugiere una alteración en los mecanismos de transporte iónico ductal.
- ❖ Se observó una correlación entre la sensación de boca seca y el aumento de la concentración de proteínas totales
- ❖ La disminución de urea observada en saliva se correlaciona con el incremento de proteínas.
- ❖ Se observaron aumentadas IgAs sólo en SSs en relación a SSp y controles.
- ❖ En pacientes con hiposalivación la candidiasis fue la afección estomatológica más frecuente y la mayoría eran portadores de prótesis totales. (83%)
- ❖ La saliva representa un medio importante de valor diagnóstico para SS, dada la presencia de cantidades dosables de Ac específicos Ro y LA comparable con el suero.
- ❖ Es importante el estudio de anticuerpos en saliva y suero lo que permite un primer diagnóstico en las causas de la hiposalivación.

- ❖ Los hallazgos ecográficos están estrechamente vinculados a los síntomas clínicos, y se correlacionan con los desórdenes inmunológicos encontrados en suero y saliva.

Consideramos que es importante la difusión de este Síndrome, y orientar al profesional médico y odontólogo para realizar las derivaciones que permitan la detección temprana y / o tratamientos adecuados de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Raspa Martín G, Gonzales Lagunas J, Patología de las Glándulas salivares. En: El Manual de odontología Editors: Echeverria Garcia JJ Cuenca Sala E, Editor.: Masson Barcelona: 1995;pp.415-28.
2. Gary LE, Paul LA. Tumor of de salivary Gland .Atlas of tumor Pathology 1996; pp.7: 6.
3. Gómez de F ME, Campos MA .Glándulas salivares: En Histología y Embriología bucodental. Bases estructurales de patología, el diagnóstico, la terapéutica y la prevención odontológica.Ed. Panamericana. Madrid. España.1999
4. Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. Oral Dis.2002; 8: 117-29.
5. Ericsson Y. Clinical investigations of the salivary buffering action. Acta Odontol Scand 1959; 17:131-65.
6. Edgar WM. Saliva: it's secretion, composition and functions. Br Dent J 1992; 172:305-312.
7. Sun-Hee Won, Hong-Seop Kho, Young-Ku Kin, Sung-Chang Chung, Sung-Woo Lee. Analysis of residual saliva and minor salivary gland secretions. Arch Oral Biol (2001); 46: 619-624.
8. Turner RJ, Paulais M, Manganel M, Lee SI, Moran A, Melvin JE. Ion and water transport mechanisms in salivary glands Crit Rev Oral Biol Med. 1993; 4: 385-91.
9. Sreebny LM. Saliva in Elath and disease: An appraisal and update. Ind Dent J.2000; 50:140-161.
10. Manolopoulou J, Mulatero P, Maser-Gluth C, Rossignol P, Spyroglou A, Vakrilova Y, Petersenn S, Zwermann O, Plouin PF, Reincke M, Bidlingmaier M Saliva as a medium for aldosterone measurement in repeated sampling studies. Steroids. 2009 ;74:853-8.

11. Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjögren's syndrome. *BMC Clin Pathol* 2005; 5: 4.
12. Brandtzaeg P. Do salivary antibodies reliably reflect both mucosal and systemic immunity? *Ann NY Acad Sci.* 2007;10:288-311.
13. Mandel ID. Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1980; 12: 321-66. 1980.
14. Bardow A, Madsen J, Nauntofte B. The bicarbonate concentration in human saliva, does not exceed the plasma level under normal physiological conditions. *Clin Oral Invest* 2000; 40:45-53.
15. Zelles T, Purushotham KR, Macauley SP, Oxford GE, Humphreys-Beher MG. Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *J Dent Res* 1995;4:1826-32
16. Melvin JE, Yule D, Shuttleworth T, Begenisich T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Annu Rev Physiol* 67:445-69, 2005.
17. Proctor GB, Carpenter GH, Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton Neurosci* 30:133(1):3-18, 2007.
18. Ship JA, Fox PC, Baum BJ, How much saliva is enough? Normal function defined. *JADA* 1991; 122:63-9.
19. Baum BJ. Neurotransmitter control of secretion. *J. Dent. Res.* 1987, 66 628-32.
20. Dawes C. Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance and the sensation of dry mouth in man. *J Dent Res* 1987; 66: 648-53.
21. Rice DH. Advances in diagnosis and management of salivary glands diseases. *The West J Med* 1984; 140: 238-249...
22. Dawes C. How much saliva is enough for avoidance of xerostomia Caries *Indian J Dental Res.* 2004; 38: 236-40.
23. Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome,

- xerostomia and/or gustatory disturbances. Arch Oral Biol 2004; 49: 515-22.
24. Billings RJ, Proskin HM, Moss ME. Xerostomia and associated factors in a community-dwelling adult population. Community Dent Oral Epidemiol 1996; 24:312-16
 25. Girja KP, Sundaran BS, Krishnan P, and Devi CS: Biochemical changes of saliva in tobacco chewer's tobacco smokers, alcohol consumers, leucoplakia and oral cancer patients. Indian J Dental Res 2002; 13:102-107.
 26. Edgar WM: Saliva: Ist Secreción, composition and functions. Br Dent J 1992; 172; 305-12.
 27. Ramasastry SS, Stofman GM, Patterson GT, Normal and abnormal physiology of salivary gland secretion. En: Management of salivary gland lesions Edirtors: Granick MS, Hanna DC. Ed: Williams and Wilkins, Baltimore 1992;15-37.
 28. Bergdahl M, Bergdahl J. Burning mouth syndrome: prevalence and associated factors. J Oral Pathol Med 1999; 28:350-4.
 29. Sun-Hee Won, Hong-Seop Kho, Young-Ku Kin, Sung-Chang Chung, Sung-Woo Lee. Analysis of residual saliva and minor salivary gland secretions. Arch Oral Biol .2001. 46: 619-624.
 30. Leber T, Ueber die Entstehung der Netzhautablosung. Ver Versamml Ophical Ges Stuttg.1982; 14:165.
 31. Mikulicz, j.Ueber eine eigenartige symmetrische Erkrankung der tranen und Mundspeicheldrusen. Medical Classic 1937; 2:165.
 32. Sjogren H. Zur Kenntnis der keratoconjunctivitis sicca.II Allgemeine Symptomatologie und Atiologie. Acta Ophtalmol (Kbh) 1935; 13:1.
 33. Hadden WB, On "dry mouth" or supresión of the salivary and bucal secretions. Trans Clin Soc London 1888; 21:76.
 34. Block KJ, Bunim JJ, Sjogren´s síndrome and its relations to connective tissue diseases. J Chron Dis 1963;73:915.
 35. Pillemer SR, Matterson EL, Jacobsson LT, et al. Incidence of physician-diagnosed primary Sjögren syndrome in residents of

- primary Sjogren´s syndrome in Residents of Olmsted Country, Minnesota Mayo Clin Proc 2001; 76: 593-9.
36. Whaley K, Williamson J, Wilson T et al. Sjogren´s syndrome and autoimmunity in a geriatric population. Age and ageing 1972; 1: 197-206.
37. Strand V, Talal N. Advances in the diagnosis and concept f Sjogren´s Syndrome (autoimmune exocri-nopathy) Bull Rheum Dis 1980; 30:1046-52.
38. Moutsopoulos HM, Talal N. Immunological abnormalities in Sjögren's syndrome. En: Clinical and immunological aspects. Edited: Talal N, Moutsopoulos HM, Kassan SS. Ed. Heidelberg Springer Verlag; 1987 pp258-265.
39. Moutsopoulos HM. Sjogren´s syndrome: Autoimmune epithelitis. Clin Immunol Immunopathol.1994; 72:162-5.
40. Fox RI, Robinson CA Curd JG, et al: Sjögren´s syndrome. Proposed criteria for classification. Arthritis Rheum.1986; 29:577-585.
41. Pedersen AM, Reibel J, Nordgarden H, HO Bergem, Jensen JL, Nauntofte B: Primary Sjögren's syndrome: salivary gland function and clinical oral findings. Oral Dis 1999; 5:128-138
42. Tsubota K. Reflex tearing in dry eye not associated with SS. En: lagrimal Gland, tear film and dry eyes syndromes. Editor: Sullivan M Ed. Plenum Press, New York, USA. 1998; 903-907.
43. Schein OD, Muñoz B, Tielsch Jm, et, al. Prevalence of dry eye among the elderly. Am j Ophthalmology. 1997; 124:221-232: 723-728.
44. Cohen-Brown G, Ship JA. Diagnosis and treatment of salivary gland disorders. Quintessence International. 2004; 35:108-123.
45. Wang ZY, Morinobu A Kanagawa, S, et al, polymorphisms of the mannose binding lectin gene in patients with Sjogren´s Syndrome. Ann Rheum Dis.2001; 60:483-486.
46. Mariette X .Sjogren´s syndrome: relation avec les infections virales. Press Med 1993; 22:569-571.

47. Walter SE, Jacobson JD, Roles of prolactin and gonadotropin-releasing hormone in rheumatic disease. *Rheum. Dis Clin North Am* 2000; 26:713-6.
48. Masago R, Sonomi AM, Talal M, Jimenez Zuluaga F, Hashimi IA, Moody M, Allen Lau C, Ammon B, Brayer J, Humphreys-Beher MG, Howard D. Elevated Proapoptotic Bax and Caspase 3 Activation in the NOD.scid Model of Sjögren's Syndrome Arthritis & Rheumatism 2001;4:693-702.
49. Taiym S, Haghghat BS, Al-Hashimi BN. A comparison of the hormone levels in patients with Sjögren's syndrome and healthy controls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97:579-83.
50. Wahren M, Solomin L, Pettersson I, Isenberg D. Autoantibody Repertoire to Ro/SSA and La/SSB Antigens in Patients with Primary and Secondary Sjögren's syndrome *Journal of Autoimmunity*. 1996; 9: 537-544.
51. Hammi AR, Ibtisam H, Al-Hashimi, Nunn M E, Zipp M. Assessment of SS-A and SS-B in parotid saliva of patients with Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med* .2005;34: 198-203.
52. Haines JL, Pericak-Vance MA. Overview of mapping common and genetically complex disease genes. En: *mapping in complex human diseases* editors Haines JL, Pericak-Vance MA ed. Wiley-liss Canada: 1999; p.283-93.
53. Peronnard JM, Charron L, Beaudet F, Couture F, Vasculitic neuropathy in rheumatoid disease s and Syndrome de Sjögren's *neurology* 1982; 32: 839-45.
54. Gardiner P, Ward C, Allison A, et al. Pleuropulmonary abnormalities in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*.1993;82: 831
55. Coll J, Rives A, Griño MC, Setoain J, Vivancosm J, Balcells A. Prevalence of Sjögren's in autoimmune disease. *Ann Rheum Dis*1987; 146: 286-9.
56. Fox RI, Stern M, Michelson P, Update in Sjögren's syndrome. *Curr Opin Rheumatology*.2000; 12: 391-8.

57. Bassini N, Savoldi S, Franceschini F, et al Clinical and morphological features of kidney involvement in primary Sjögren's syndrome
Nephrol Dial Transpl 2001;16:2328-36.
58. Khamma D, Vinters HV, Brahn E, Angiocentric T cell lymphoma of the central nervous system in patient with Sjögren's syndrome. J Rheumatol 2002; 29: 1548-50.
59. Valls-sole j, G28: 786- 90raus F, Font J Pou a, Tolosa ES. Normail proprioceptive trigeminal afferents in patients with Sjogren's síndrome and sensory neuronopathy. Ann Neurol.1999; 28: 786- 90.
60. Kruszka P, O'Brian RJ. Diagnosis and management of Sjögren's syndrome. Am Fam Physician. 2009; 79:465-470.
61. Fox RI, Robinson C, Curd JC, Michelson p, Kosin F, Howell FV. Sjögren's syndrome: proponed criteria for classification. Arthritis Rheum 1986;29:577-85
62. Manthorpe R, Oxholm p, Prause JU, Copenhagen criteria for Sjögren`s syndrome. Scan J Rheumatol 1996; 61 (suppl) 19-21
63. Vitali C, Moutsopoulos HM Bombardieri S et al The European community Study group on diagnostic criteria for sjogren's syndrome. Sensitivity and specificity of test for ocular and oral involent in Sjogren's Syndrome Ann Rheum Dis. 1994;53:637-647
64. Vitali C. Bombardieri S. Carsons D Fox. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised versión of the European criteria proponed by the American- European consensus Group. Ann Rheum. Dis 2002- 61:554-558.
65. VersuraP, Cellini M, Torregiani A, Profazio V, Caramazza R. Dryness Symptoms, diagnostic protocol and therapeutic management: A reporton 1200 patients Ophthalmic res. 2001; 33: 221-7.
66. Klaeger AJ, Witcher JP, Daniels TE, Tear Lysozime activity in frozen Schimer strips and salivary gland biopsy as parameters of lacrimal gland function. Ocul Immunol Inflamm 1999; 7:3-6.

67. Da last S, Moncada A, Priori R, Velesini G, Pivetti- Pezzi P.
Lactoferrin tear test in the diagnosis of syndrome de Sjogren´s. Eur J Ophthalmol 1996;;41:284-6.
68. Rivas L, Rodríguez JJ, Álvarez MI, MA Oroza, J Murube. Correlation between impression cytology and tear function parameters in Sjögren syndrome. Acta Ophthalmol 1993; 71: 353-359.
69. Rivas L, Álvarez MI, Rodríguez JJ y Murube J. Ophthalmological tests in patients with keratoconjunctivitis sicca with and without association of primary Sjögren's syndrome. J Ophthalmol 1995; 4: 306-310.
70. Rivas L. Diagnosis through other assays. En: Dry Eye a systematic approach to therapy. Editors: Murube J y Rolando M (ed.) CibaVision. Suiza. 2000, pp. 101-114.
71. Brum JG, Jacobsen H, Kloster R, et al. Use of a sicca symptoms questionnaire for the identification of patients with Sjogern´s syndrome in a heterogeneous hospital population with various rheumatic diseases. Clin Exp Rheumatol 1994; 12:649-52.
72. Ava J, Wu D. Optimizing Dry Mouth. Treatment for individuals with SS. Dis Clin Am. 2008; 34:1001-1010.
73. Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth síndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. Arch Oral Biol 2004; 49 : 512-22
74. Bodeutsch C, De wilde PC, Katar L, et al. Quantitative immunohistologic criteria are superior to the lymphocytic focus score criterion for the diagnosis of Sjogren´s syndrome. Arthritis Rheum 1992; 35: 1075-87.
75. Daniels TE. Sjogren´s syndrome: Clinical spectrum and current diagnostic controversias. Adv. Dent Res 1996;10:3-8
76. Wang SL, Hao T, Li J et al. Investigation of de clinical value of total saliva flow rates. Arch oral Biology. 1998; 43:39-43.

77. Martínez-Lázaro R, Cortes-Blanco A, Velilla J. A pilot study of the salivary scintigraphy diagnostic performance in a Spanish population with Sjogren's syndrome diagnosed by the European criteria. *Ann Rheum. Dis.* 2001;60: 302-3
78. García Carrasco M, Ramos Casals M, Cervera R. Síndrome de Sjogren En: Enfermedades autoinmunes sistémicas y reumáticas. Editors. Rojas- Rodríguez J, Garcia Carrasco M, Cervera R, Font J. Ed. Doyma. Barcelona.1997.
79. Anderson JR, Gray KJ Beck JS, Buchanan WU, Mc Elhinney AJ. Precipitating antibodies in the connective tissue diseases. *Ann Rheum. Dis* 1962; 21:360-9.
80. Jonsson R, Haga HJ, Gordon TP. Current concepts on diagnosis, autoantibodies and therapy in Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 2000; 29: 341-348.
81. Youinou P, Mariette X. Immunopathology of Gougerot-Sjogren syndrome. *Rev Prat* 2001 31; 51: 165-170.
82. Tzioufas AG, Hantoumi I, Polihronis M, Xanthou G, Moutsopoulos HM. Autoantibodies to La/SSB in patients with primary Sjogren's syndrome (SSp) are associated with up regulation of La/SSB mRNA in minor salivary gland biopsies. *J Autoimmun.*1999; 13: 429-34.
83. Ramos Casals M, Font J, García- Carrasco M et al. Sjogren's syndrome: Hematologic patterns of disease expression in 380 patients. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 281-92.
84. Lang N, Caton J. Taller mundial de periodoncia. De revista de la Fundación de Juan José Camarro.1996.
85. Yavuz S, Toker E, Bicakcigil M, Mumcu G, Cakir S. Comparative Analysis of Autoantibodies Against α -Fodrin in Serum, Tear Fluid, and Saliva from. Patients with Sjögren's Syndrome .*J Rheumatol* 2006; 33:1289–92.
86. Henry RJ. *Química Clínica; Principios y Técnicas.* Barcelona: Jims; 1968

87. Vanderlinde, R, Kowalski, P. Clin. Biochem. 4:76, 1971) (Martinek, RC. J. Am. Med. Technol. 32:337, 1970.
88. Barberis I, Pájaro M, Godino S, Pascual L, Daniele M. Diagnóstico Microbiológico de Vaginosis Bacteriana. Acta Bioquím Clín Latinoam 2002; 36: 541-5.
89. Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear. The Commonwealth Fund, New York, 1943; 1–47.
90. Papanicolaou GN. A survey of the actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. Ann Intern Med 1949; 31: 661–74.
91. Witte T, Matthias T, Arnett FC, et al. IgA and IgG autoantibodies against α fodrin as markers for Sjögren's syndrome. J Rheumatol 2000;27:2617-20
92. Ruffati A, Ostuni PA, Grypiotis P, et al. Sensitivity and specificity for primary Sjögren's syndrome of IgA and IgG anti- α fodrin antibodies detected by ELISA. J Rheumatol 2004; 31:504-7.
93. Hershkovich O, Nagler RM. Biochemical analysis of saliva and taste acuity evaluation in patients with burning mouth syndrome, xerostomia and/or gustatory disturbances. Arch Oral Biol 2004; 49: 512-22.
94. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome. J Clin Pathol 1968; 21: 656-660. Fox RI, Kang HI (1993). Sjögren's syndrome. En: Kelly et al. (ed). Textbook of Rheumatology. 4.^a Edición, vol. 1. WB Sainders Company. Philadelphia. 1993; 931-942.
95. Busamia B, Gonzales Moles MA, Mazzeo M, Linares J, Demarchi M, Gobbi C, Albiero E, Finkelberg A. Assessing the determination of salivary electrolytes and anti-Ro and anti-La antibodies for the diagnosis of Sjögren's syndrome. 2009 Med Oral Patol Oral Cir Bucal.
96. Almstahl A. Wikstrom M. Electrolytes in stimulated whole saliva in individuals with hyposalivation of different origins. Oral Biología 2003; 48: 337-44334.

97. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF, Inmunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 1985. 2:235-54.
98. Fox RI. Sjogren's syndrome. *Lancet*. 2005;366:321-31
99. Ramos-Casals M, Font J. Primary Sjogren's syndrome: current and emergent etiopathogenic concepts. *Rheumatology (Oxford)*. 2005; 44:1354-67.
100. Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Font J. Primary Sjogren's syndrome: new clinical and therapeutic concepts. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:347-54
101. Gupta A, Epstein JB, Sroussi H. Hyposalivation in elderly patients. *J Can Dent Assoc* 2006; 72: 841-6.
102. Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjögren's syndrome. *Arch Intern Med*. 2004;164:1275-84
103. Kreuzer W, Heidland A, Hennemann H, Wigand ME, Knauf H. Mono- and divalent electrolyte patterns, pCO₂ and pH in relation to flow rate in normal human parotid saliva. *Europ J Clin Invest*. 1972; 2: 398-406.
104. Sewon LA, Karjalainen SM, Soderling E, Lapinleimu H, Simell O.M Associations between salivary calcium and oral health. *J Clin Periodontol*. 1998; 25: 915-9
105. Margaix-Muñoz M, Bagán JV, Poveda R, Jiménez Y, Sarrión G. Sjögren's syndrome of the oral cavity. Review and update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;14:325-30
106. Bradshaw DJ, Marsh PD. Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Caries Res*. 1998; 32: 456-62.
107. Skopouli F, Dafni U, Ionnidis et al. Clinical evolution, and morbidity and mortality of Primary Sjögren's Syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2000; 29: 296-304.

108. Malaviya AN, Kaushik P, Budhiraja S, et al. Hypergammaglobulinemic purpura of Waldenström: Report of 3 cases with a short review. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18:518-22
109. Ramos – Casals, Fernandez M, Garcia-Carrasco C. Prevalencia y significado clínico de la hipergammaglobulinemia en pacientes con SSp. *Rev Esp Reumatol* 2001; 8 (supple):147.
110. Brown LR, Dreizen S, Daly TE, Drane JB, Handler S, Riggan LJ, et al. Interrelations of oral microorganisms, immunoglobulins, and dental caries following radiotherapy. *J Dent Res.*1978; 57: 882-93.
111. Almstahl A. Wikstrom M. Kronel U. Microflora in oral ecosystems in primary Sjogren Syndrome. *J Rheumatol.* 2001;28:1007-1013
112. Tishler M, Yaron I, Shirazi I, Yaron M. Saliva: an adicional tool in Sjögren´s syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1997; 27: 173-9.
113. Berra A, Reina S, Sterin- Borda L (Rol de la IgA Salival en la Etiopatogenia del Síndrome de Sjögren *Revista de la Facultad de Odontología (UBA) • Año 2004 • Vol. 19 • N° 46*
114. Pourman N, Wahren-Herlenius M, Gunnarsson I, et al. Ro/SSA and La/SSB specific IgA Autoantibodies in serum of patients with Sjögren´s síndrome and Systemc lupus erythematosus. *Ann Rheum. Dis.*1999;58: 623-9
115. Brunotto M., Zarate A. Cismondi A, Fernandez MC, Noher de Halac RI. Valuation of exfoliative cytology as prediction factor in oral mucosa lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2005; 10: 92-102.
116. Nayar AK, Sundharam BS Cytomorphometric analysis of exfoliated normal buccal mucosa cells. *Indian J Dent Res.* 2003; 14:87-93
117. Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol* 1977; 81: 798-801
118. Jajarm HH, Mohtasham N, Rangiani A.J Evaluation of oral mucosa epithelium in type II diabetic patients by an exfoliative cytology method..*J Oral Sci.* 2008; 50:335-40.
119. Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology* 1985; 92: 728-733.

120. Samarkos M and Moutsopoulos HM. Recent advances in the management of ocular complications of Sjögren's syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2005;5:327–332.
121. Daniels TE, Whitcher JP. Association of patterns of labial salivary gland inflammation with keratoconjunctivitis sicca, Analysis of 618 with suspected Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1994;37:869-77-
122. Kohn WG, Ship JA, Atkinson JC, Patton LL, Fox PC. Salivary gland ^{99m}Tc-scintigraphy: a grading scale and correlation with major salivary flow rate. *J Oral Pathol Med* 1992; 21:70-74.
123. Rubin H, Holt M. Secretory sialography in diseases of the major salivary glands. *Am J Roentgenol* 1957;77: 575-98
124. Chikui T, Okamura K, Tokumori K, Nakamura S, Shimizu M, Koga M, Yoshiura K. Quantitative analyses of sonographic images of the parotid gland in patients with Sjögren's syndrome. *Ultrasound Med Biol.* 2006 ;32:617-22
125. Kolkowski EC, Reth P, Pelusa F, et al Th 1 predominance and perforin expression in minor salivary gland from patients with primary Sjogren's syndrome's Autoimmun. 1999; 13: 155-62.
126. Segerber-Konttinen M. Focal adenitis in lacrimal and salivary gland. A post mortem study. *Scand JRheumatol* 1988;17:379-85

ANEXO

HISTORIA CLÍNICA

Apellido nombre.....DNI.....

Nº H.C.....Fecha de Nacimiento.....Sexo....Edad....Raza.....

Domicilio.....TEL.....Ocupación.....

Fecha 1º consulta...../...../..... Médico

ENFERMEDAD ACTUAL

Motivo de la consulta.....
.....

Tiempo de aparición.....

Tratamientos realizados.....

Evolución.....
.....
.....
.....

ANTECEDENTES GENERALES

Diabetes.....	Compensado.....	No compensado.....
Alérgico:		
Medicamentos	Cuales	
Anestésicos	Cuales	
Alimentos	Otros.....	
Artritis Reumatoidea	Tiempo de evolución	
Lupus	Tipo	Tiempo de evolución
Esclerodermia o CREST	Tiempo de evolución	
Síndrome de Sjögren´s	Tiempo de evolución	
Vasculitis	Tiempo de evolución	
Polimiositis o dermatomiositis	Tiempo de evolución	
Amiloidosis	Tiempo de evolución	
Hepatitis C	Tiempo de evolución	
HIV Sida	Tiempo de evolución	
TBC activa	Tiempo de evolución	
Patología Cardiovascular	Cual	
Alteraciones Hepáticas	Cual	
Antecedentes Hemorrágicos	Cual	
Antecedentes hormonales		
..... Menstruación	Embarazo	meses
Anticonceptivos		
Menopausia	Reemplazo hormonal	Tiempo
PSA	Normal	Alta
		Baja

ANTECEDENTES SISTEMICOS ACTUALES

Toma Medicamentos?.....Cuales.....

Se Agita al caminar, subir escaleras?.....

Se enfría con frecuencia?.....Manos.....Pies....Cambio de color.....

Siente ojos secos (arenilla, ardor, rojizos, picazón) hace cuanto tiempo.....

Usa gotas o lágrimas artificiales? Usa lentes de contacto?.....Cuantas horas?

Siente la boca seca?.....Hace cuanto tiempo.....usa medicamentos o saliva artificial?.....

Tubo o tiene glándulas salivares agrandadas de tamaño.....

Duerme bien?..... Cuantas Horas.....

Fuma..... Cuantos.....Frecuencia.....

Toma bebidas alcohólicas?.....Ocasionalmente.....Cuanto.....

ANTECEDENTES HEREDITARIOS

Padre vive SINO

Causa de muerte.....

Madre vive SINO

Causa de muerte.....

Algún familiar padece diabetes..... Quien.....

Algún familiar padece alergias Quién..... A que.....

Índice 0: Margen gingival libre.
 Índice1 : Tártaro supragingival.
 Índice 2: Tártaro subgingival.
 Índice 3: Presencia de abundante tártaro en la superficie dentaria.

Índice de placa en la lengua.

0: sin placa.
 1: parece limpia pero sale saburra con explorador.
 2: placa visible.
 3: abundante placa.

Hábitos traumatizantes:
 Deglución atípica SI/NO
 Bruxismo SI/NO
 Mordisqueo SI/NO Lugar.....
 Succión SI/NO
 Movimientos parafuncionales SI/NO

Prótesis traumatizantes: Removible  Sup.
 Inf.

Prótesis fija  Sup.
 Inf.

EXAMEN ESTOMATOLÓGICO

Descripción de lesiones estomatológicas. Localización

Diagnóstico clínico.....

 Diagnóstico Histopatológico.....

EXÁMEN RADIOLÓGICO

Fecha.../.../..... Ecografía
 Otras

Hallazgos.....

.....
.....
.....

Diagnóstico.....

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

PLAN DE TRATAMIENTO

EVOLUCIÓN Controles

Fecha...../...../.....

.....
.....
.....

Fecha...../...../.....

.....
.....
.....

Fecha...../...../.....

.....
.....
.....

Fecha...../...../.....

.....
.....
.....

LABORATORIO

- Citológico
- Hematocrito
- Recuento de plaquetas
- Pruebas de hemostasia
- Eritrosedimentación
- Pruebas Serológicas.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
COMITÉ DE ÉTICA SANATORIO ALLENDE.

TITULO DEL ESTUDIO: Cambios salivales y bucales como
posibles marcadores de Síndrome de Sjögren.

DIRECTOR Ana Beatriz Finkerberg
DOCTORANDO: Od. Beatriz Busamia

INSTITUCIÓN: Sanatorio Allende.
Córdoba. Capital

Ud. ha sido invitada a participar de un estudio de investigación sobre manifestaciones producidas en boca en Síndrome de Sjögren. En los ensayos clínicos solo se permite el ingreso de pacientes que desean tomar parte en el estudio. Antes que usted acepte participar en este estudio de investigación, es importante que lea y entienda la siguiente explicación acerca del propósito del estudio y de los procedimientos que llevara a cabo. Si tiene dudas acerca del estudio o de sus derechos como participante, asegúrese de aclararlas antes de tomar parte en esta investigación clínica.

Este documento describe el propósito, la cantidad de pacientes que participaran, los procedimientos a realizar, los beneficios, los posibles riesgos, los inconvenientes y las precauciones que están asociadas con este estudio.

INTRODUCCION

La saliva es de vital importancia en la protección de los tejidos orales duros y blandos y la prevención de enfermedades de la cavidad bucal. Los individuos que tienen alterada la secreción salival padecen de hiposialia, que afecta la salud del sistema estomatognático.

Diversas investigaciones aducen causas multifactoriales que participan del desarrollo y la severidad en la cavidad oral en patologías autoinmunes.

OBJETIVOS

- 1- Evaluar diferentes parámetros de salud bucal en pacientes con patologías autoinmunes.
- 2- Correlacionar enfermedades autoinmunes con la incidencia y severidad de las alteraciones a nivel de la cavidad bucal.
- 3- Analizar las alteraciones fisicoquímicas y serológicas de saliva en pacientes con patologías autoinmunes (SS) y su relación con las manifestaciones bucales.
- 4- Correlacionar patologías autoinmunes sistémicas del paciente con alteraciones clínicas a nivel de cavidad bucal.
- 5- Comparar cambios histomorfométricos en citologías por impresión, con citologías exfoliativas convencionales en pacientes con patologías autoinmunes.
- 6- Correlacionar los resultados obtenidos con estudios Inmunohistoquímicos.
- 7- Comparar el diagnóstico por imagen de pacientes con Enfermedades autoinmunes con las otras variables estudiadas

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizará en una población de pacientes con patologías autoinmunes que ingresen al Servicio Reumatología del Sanatorio Allende, durante el periodo 2006-2007. El criterio de exclusión para el estudio comprende: Pacientes que no acepten el consentimiento informado, pacientes menores de 18 años, (se aceptan con consentimiento firmado por padres o tutores autorizados) y mayores de 70 años, quimioterapia o radioterapia que afecten la región craneofacial previa, tumores en región de cabeza y cuello, desórdenes psiquiátricos, alteraciones metabólicas generales como diabetes, hipotiroidismo, etc. Síndromes generales y aquellos que presenten manifestaciones asociadas a la cavidad bucal. Luego de obtenido el

consentimiento informado (se adjunta modelo), se procederá a la Evaluación Clínica de la cavidad oral en base a ficha clínica adjunta.

1 - Evaluación clínica de la cavidad oral:

Constará de una inspección de tejidos duros y blandos de la cavidad oral, analizando los siguientes items: elementos con caries, movilidad, presencia de prótesis fijas, removibles e implantes, inflamación gingival, índice de sangrado, mucosa yugal, lengua (borde anterolateral, dorso), paladar duro y toma de saliva en las diferentes etapas. Se remarcará la importancia de la higiene oral como medida tendiente a reducir la frecuencia y severidad de las complicaciones más frecuentes.

2 - Recolección de muestras de saliva basal y estimulada:

2 - a - Recolección de saliva basal espontánea:

La misma se efectuará teniendo en cuenta a modo de constante los siguientes parámetros:

- Horario estipulado: Paciente en ayunas o a la primera o segunda hora posterior al desayuno (considerando el ritmo circadiano de la secreción salival)
- Paciente en reposo, sentado sin hablar.

- Procedimiento: El paciente se enjuaga la boca con agua, seguidamente en función de los parámetros antes mencionados, se le solicita que mantenga su boca cerrada y sin tragar contando a partir de ese instante cinco minutos. Durante este período la saliva formada y acumulada en su cavidad bucal se recolecta en un tubo de centrífuga descartable, que inmediatamente se conservará a $-18C^a$ para su posterior análisis. Las tomas se realizarán en grupos con sicca en las distintas etapas del tratamiento, considerándolas al inicio como grupo control.

2 - b - Recolección de saliva estimulada:

Una vez recolectada la muestra de saliva basal, el paciente reposará durante diez minutos con el objeto de efectuar la recolección de saliva estimulada.

A tal fin se suministrará al paciente un cuadrado de parafilm de 4cm por 4cm, que deberá introducir en su boca y masticar sin tragar por espacio de cinco minutos. La saliva así formada se recolectará en un segundo tubo de centrífuga descartable y procesado del mismo modo que en el caso anterior.

Análisis de las muestras:

- Volumen total: expresado en ml/min.
- Compuestos orgánicos: Proteínas totales, Amilasa salival, sIgA, urea
- Compuestos inorgánicos: fósforo, calcio, Na, K y Cl.

d-Citología por impresión: se tomarán muestras en fondo de surco vestibular superior derecho e izquierdo con papel de impresión de acetato.

e-Análisis histológico de biopsias en glándulas salivales labiales inferiores.

f--Evaluación de resultados obtenidas con diagnóstico por imagen a través de ecografías de alta resolución de glándulas salivales

No existe ninguna contradicción absoluta ni relativa para participar de este ensayo clínico.

AUTORIZACION PARA REVISAR LOS RIESGOS, CONFIDENCIALIDAD Y ACCESO Y LA INFORMACION

Su médico en el estudio, y el personal que colabora con él, reunirá información acerca de Usted; su nombre no figurará en ningún momento ya que será reemplazado por un código.

Los registros médicos de su participación en este estudio serán confidenciales.

CONSENTIMIENTO DE PACIENTE

Me han sido proporcionados detalles sobre el ensayo clínico, como se desarrollara el mismo, y los riesgos que se pudieran ocasionar.

Entiendo que mi participación en este estudio es voluntaria. Comprendo que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello ponga en riesgo mi atención médica futura.

Al firmar este formulario voluntariamente no estoy renunciando a ninguno de mis derechos legales.

He leído y comprendido la información contenida en este formulario de consentimiento. Me han dado la oportunidad de hacer las preguntas que considere necesarias, las que fueron contestadas a mi entera satisfacción en un lenguaje comprensible.

Recibiré una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento informado.

.....
.....
Nombre del paciente
Fecha

.....
Firma del paciente

.....
.....
Nombre del investigador o sub. Investigador
Fecha

.....
Firma



Córdoba, 29 de septiembre de 2005

Dr. Eduardo Albiero
Investigador Principal
Sanatorio Allende

De nuestra mayor consideración:

Por medio de la presente, nos dirigimos a Ud. con el fin de poner en su conocimiento que el Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud del Sanatorio Allende se ha reunido para evaluar el protocolo del estudio **“Estudio prospectivo descriptivo sobre manifestaciones orales en el Síndrome de Sjogren’s”**.

Habiendo evaluado y analizado Protocolo

Este Comité resuelve autorizar la realización del estudio en ésta institución al no encontrar conflictos éticos que impidan su realización.

Para evaluar el estudio se tuvo en cuenta información sobre:

*Relevancia y extensión de la información brindada: Con este estudio se intenta determinar el compromiso oral de Síndrome de Sjogren’s que es complejo, diverso y frecuente. No obstante su reconocimiento temprano y manejo preventivo adecuado permitirá una mejor calidad de vida y beneficio para el paciente. Un conocimiento profundo acerca del efecto de esta patología sobre la cavidad oral resulta de gran interés para desarrollar estrategias que permitan la prevención, eliminación o disminución de sus efectos deletéreos.

*Forma de recolección de datos en relación a objetivos, análisis estadístico y eficiencia científica: Objetivos: Evaluar diferentes parámetros de salud oral en pacientes con el Síndrome de Sjogren’s. Correlacionar Síndrome de Sjogren’s con la incidencia y severidad de las alteraciones a nivel de la cavidad bucal. Analizar las alteraciones fisicoquímicas de la saliva en pacientes con síndrome de Sjogren’s y su relación con las manifestaciones orales. Evaluar cambios celulares y bioquímicos en biopsias de pacientes con Síndrome de Sjogren’s. Correlacionar los resultados de biopsias con diagnóstico por imágenes.

*Potencial de extraer información con la menor exposición de los sujetos. El estudio se realizará en una población de 40 pacientes que ingresan al Sanatorio Allende durante el período 2005/2006 con diagnóstico de Síndrome de Sjogren’s con indicación para la realización de una biopsia de glándula salival menor.

Hipólito Yrigoyen 384 - (5000) - Córdoba - Rep. Argentina
Tel.: (0351) 426-9200 - Fax: (0351) 426-9209
e-mail: direccion@sanatorioallende.com



*Justificación de los riesgos e inconvenientes predecibles con los beneficios para el sujeto. No existe riesgo alguno en la determinación del estudio de la cavidad bucal ni con el resto del trabajo prospectivo.

*Justificación de los riesgos e inconvenientes predecibles con los beneficios para la sociedad. No existe riesgo alguno en la determinación del estudio de la cavidad bucal ni con el resto del trabajo prospectivo.

*Adecuación del investigador al proyecto propuesto según experiencia en el tema. **El Dr. Eduardo Albiero es médico especialista en Reumatología con experiencia clínica en el Síndrome de Jorgren's . Posee varios estudios multicéntricos por lo que su experiencia en el manejo de los protocolos de investigación es vasta.**

*Adecuación del lugar de realización considerando los recursos que dispone. **El Sanatorio Allende, es adecuado para la realización del estudio prospectivo.**

*Adecuación de la supervisión médica y seguimiento de los sujetos: El control médico y seguimiento lo realiza el investigador principal encontrándose en condiciones de realizarlo.

*Adecuación de las previsiones para monitorear el curso de investigación: Si

*Adecuación de la información a ser brindada al paciente, representantes, testigos, etc.

*Medios para dar la información y el consentimiento. El consentimiento informado es correcto pero con la salvedad de que a menores (entre 18 y 21 años) deberá obtenerse la autorización del padre ó tutor.

*Seguridades de que los participantes tendrán durante la investigación toda la información relevante disponible: Estará disponible como detalla en el punto siguiente.

*Previsiones para responder a las preguntas y requerimientos de los participantes durante el estudio: Pueden agregar en el Consentimiento el siguiente texto: **"Puede requerirse mayor información al Investigador ó a este Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud, y solicitar información al T.E. 4269212"**

*Previsiones de compensación de daños.

*Seguro de responsabilidad del investigador. El Dr. Albiero cuenta con seguro de responsabilidad civil.

*Requisitos de confidencialidad: Adecuado

Sin otro particular, lo saluda atentamente.

DR. CARLOS MARTÍNEZ GANO
DIRECTOR MÉDICO
SANATORIO ALLENDE
Bv. P. ESPAÑA