

Síndrome de Sjögren (SS), revisión del tema y saliva como método diagnóstico

Janett Carmen Luzmila Riega-Torres^{1*}, Antonio Jaime Villarreal-Gonzalez¹, Luis Ángel Ceceñas-Falcon¹ y Julio Cesar Salas-Alanis²

¹Universidad Autónoma de Nuevo León; ²Universidad de Monterrey, Monterrey, N.L., México

Resumen

El síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad autoinmune crónica cuya principal manifestación clínica es la sequedad oral (xerostomía) y ocular (xerofthalmia), se caracteriza por la infiltración mononuclear progresiva de las glándulas exocrinas y puede afectar una variedad de órganos y sistemas. La prevalencia del síndrome de Sjögren primario (SSp) varía desde el 0.01 hasta el 4.8%. Esta variabilidad refleja diferencias en la definición, aplicación de los criterios diagnósticos, diferencias geográficas y en los grupos de edad. La etiología del SSp es desconocida pero es importante la interacción entre factores genéticos y ambientales (virus, hormonas, vitaminas, estrés). Se han reportado pocos casos de concordancia en gemelos homocigotos y es común que los pacientes con SSp tengan familiares con otras enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso diseminado (LES), artritis reumatoide (AR), enfermedad tiroidea, psoriasis y esclerosis múltiple. Dentro de los hallazgos más comunes está la hipergammaglobulinemia. Los niveles elevados de γ -globulinas contienen autoanticuerpos dirigidos contra antígenos no específicos como el factor reumatoide (FR), anticuerpos antinucleares (ANA), antígenos celulares SSA/Ro y SSB/La. En cuanto al diagnóstico ha habido 11 diferentes criterios publicados para SS desde 1965, ninguno ha sido aprobado por el Colegio Americano de Reumatología (ACR) o Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR), los criterios actuales fueron publicados en 2012. Conjuntamente con el avance progresivo en el conocimiento del proteoma salival humano ha ganado gran aceptación en el SS la posibilidad de usar la saliva como una herramienta útil tanto en el campo diagnóstico como pronóstico, esto debido a que el análisis de las proteínas salivales puede reflejar localmente el estado patológico subyacente de las glándulas salivales, que son el órgano blanco en esta enfermedad.

PALABRAS CLAVE: Sjögren. Saliva. Autoinmunidad. Sialoadenitis. Sicca. Anti SSA/Ro anti SSB/La. β 2-microglobulina.

Abstract

Sjögren's syndrome is a chronic autoimmune disease whose main clinical manifestation is oral dryness (xerostomia) and ocular dryness (xerophthalmia). It is characterized by progressive mononuclear infiltration of the exocrine glands and can affect a variety of organ systems. The prevalence of primary Sjögren's syndrome varies from 0.01 up to 4.8%; this variability reflects differences in definition, application of diagnostic criteria, and geographic differences in age groups. The etiology of primary Sjögren's syndrome is unknown, but the interaction between genetic and environmental factors (viruses, hormones, vitamins, stress) is important. There are few reported cases of concordance in monozygotic twins, and it is common for patients with primary Sjögren's syndrome to have relatives with other autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, thyroid disease, psoriasis, and multiple sclerosis. Among the most common findings is

Correspondencia:

*Janett Carmen Luzmila Riega-Torres
Gonzalitos, 235
Col. Mitras Monterrey, C.P. 64346, Monterrey, N.L., México
E-mail: janettriaga@hotmail.com

Fecha de recepción: 28-01-2015
Fecha de aceptación: 20-04-2015

hypergammaglobulinemia. Elevated levels of γ -globulins contain autoantibodies directed against nonspecific antigens such as rheumatoid factor, antinuclear antibodies, and cellular antigens SS-A/Ro and SS-B/La. Regarding diagnosis, there have been 11 different published criteria for Sjögren's syndrome since 1965; none have been approved by the American College of Rheumatology or the European League Against Rheumatism. The current criteria were published in 2012 jointly with the progressive advance in the knowledge of the human salivary proteome that has gained wide acceptance in Sjögren's syndrome, with the possibility of using saliva as a useful tool in both diagnosis and prognosis in this field because the analysis of salivary proteins may reflect the state of locally underlying disease of the salivary glands, which are the target organs in this disease. (Gac Med Mex. 2016;152:371-80)

Corresponding author: Janett Carmen Luzmila Riega-Torres, janettriaga@hotmail.com

KEY WORDS: Sjögren. Saliva. Autoimmunity. Sialadenitis. Sicca. Anti SS-A/Ro. Anti SS-B/La. β 2-microglobulin.

Introducción

El SS es una enfermedad autoinmune crónica cuya principal manifestación clínica es la sequedad oral (xerostomía) y ocular (xeroftalmia), se caracteriza por la infiltración mononuclear progresiva de las glándulas exocrinas y puede afectar una variedad de órganos y sistemas. Se presenta como una enfermedad aislada llamada SSp o síndrome de Sjögren secundario (SSs) cuando se asocia con otra enfermedad autoinmune como AR, LES, esclerosis sistémica progresiva (ESP), etc.¹.

El SSp afecta fundamentalmente mujeres durante la cuarta y quinta décadas de la vida (proporción mujer-varón 9:1), puede presentarse en todas las edades incluida la infancia; es la segunda enfermedad reumática más frecuente después de la AR².

Epidemiología

La prevalencia del SSp varía desde el 0.01 hasta el 4.8%. Esta variabilidad refleja diferencias en la definición, aplicación de los criterios diagnósticos, diferencias geográficas y en los grupos de edad². Un estudio realizado en Olmsted County, Minnesota, reportó una incidencia anual de SSp diagnosticado por un médico de 4 casos por 100,000 habitantes³. Otro estudio transversal realizado en París en el 2007 identificó a adultos con SSp diagnosticado en base a los criterios del Consenso Americano-Europeo (criterios AECG) y encontró una prevalencia de SSp de 1.52 por 10,000 adultos⁴.

Etiología

La etiología del SSp es desconocida pero es importante la interacción entre factores genéticos y ambientales (virus, hormonas, vitaminas, estrés). Se han reportado pocos casos de concordancia en gemelos

homocigotos y es común que los pacientes con SSp tengan familiares con otras enfermedades autoinmunes como LES, AR, enfermedad tiroidea, psoriasis y esclerosis múltiple. El factor genético en SSp es complejo e involucra genes asociados y no asociados al HLA. De los genes asociados al HLA: *DR* y *DQ* representan la mayor parte y su prevalencia varía entre grupos étnicos. Los alelos *DQA1*05:01*, *DQB1*02:01* y *DRB1*03:01* están asociados con alto riesgo para la enfermedad, mientras que *DQA1*03:01*, *DQA1*05:01* y *DQB1*05:01* se han relacionado con protección⁵.

Dentro de los factores genéticos no asociados al HLA se ha ligado con susceptibilidad a la vía del interferón α (IFN α) a través del factor regulador de interferón 5 (FRI5) que codifica la transcripción del IFN tipo I y a la señal de transducción-activación de transcripción 4 (STAT4) que induce la diferenciación de los linfocitos T en subtipos Th1 (otros genes no HLA que codifican para interleucina 6 (IL6) no se han relacionado significativamente con predisposición, pero sí con manifestaciones extraglandulares y severidad de la enfermedad). Genes que codifican IL16 se han relacionado con manifestaciones extraglandulares y severidad de la enfermedad, pero no con la predisposición^{6,7}.

Dentro de los factores ambientales implicados los virus son considerados como los principales candidatos en el desarrollo de autoinmunidad en SSp, ya sea por invasión local, inducción de migración linfocítica o por mimetismo molecular. A pesar de que no se ha encontrado una correlación estricta en SSp y un virus particular, se ha hallado material genético del virus *Cocxsakie* en biopsias de glándula salival menor (GSM) de pacientes con SSp, y otros estudios han encontrado evidencia de ADN del virus Epstein-Barr (VEB) en células epiteliales. Así mismo otros virus implicados son el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y el virus de la hepatitis C (VHC)⁸.

Se ha implicado a diversos componentes del sistema endocrino en el desarrollo y expresión clínica del

SSp al evidenciarse hipoactividad en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, ya sea por un defecto hipofisiario y/o disfunción glandular adrenal. Se hallaron anticuerpos anti 21-hidroxilasa (OH) en el suero de aproximadamente una quinta parte de pacientes con SSp en asociación con activación de células B e hipofunción adrenal. Como resultado de esta hipofunción adrenal existe una disminución en los niveles de andrógenos, particularmente dehidro epiandrosterona (DHEA-S). Las células epiteliales glandulares sufren apoptosis ante la disminución de andrógenos y estrógenos, ya que el remodelado del tejido glandular salival está bajo control androgénico y la deficiencia androgénica en estos pacientes puede explicar las alteraciones observadas en la arquitectura glandular. En ausencia de una acción compensatoria, el estado menopáusico puede conducir hacia un proceso apoptótico detonando una respuesta inmune aberrante. Otra hormona neuroendocrina como la prolactina se encontró elevada en 16-46% de pacientes con SSp⁹.

Se ha estudiado el papel de las vitaminas como moduladores inmunológicos, especialmente la asociación entre los niveles de vitamina D y las manifestaciones clínicas de la enfermedad, no encontrándose diferencias entre pacientes y controles sanos pero sí se relacionó la deficiencia de vitamina D (≤ 15 ng ml⁻¹) con manifestaciones neurológicas y la presencia de linfoma en pacientes con SSp^{10,11}.

Los pacientes con SSp experimentan niveles altos de estrés psicológico con una gran cantidad de eventos negativos en su vida en ausencia de respuestas adaptativas satisfactorias para confrontar el estrés. La falta de soporte social puede contribuir al riesgo relativo para el desarrollo de la enfermedad¹².

La estimulación intrínseca de las células epiteliales glandulares por un agente causal desconocido puede conducir a su activación, incremento de la apoptosis y presentación de neo-antígenos al sistema inmune. Estos eventos conducen a la acumulación de células T y B de memoria, perpetuación de la respuesta inmunológica por autoantígenos liberados de las células apoptóticas.

El sello histopatológico en el SSp es la presencia de agregados de células mononucleares alrededor de los ductos y acinos de las glándulas exocrinas principalmente salivales y lagrimales con deterioro progresivo de la función secretoria.

Por mucho tiempo se consideró a los infiltrados linfocíticos como la principal causa de disfunción secretoria observada en el SSp, sin embargo la asociación entre síntomas clínicos y el nivel de destrucción glandular junto con hallazgos derivados de modelos animales

sugiere la existencia de vías alternativas que contribuyen a esta disfunción como son la inducción de apoptosis de glándulas epiteliales, alteraciones en la distribución de aquaporinas o inhibición de neuro-transmisión por anticuerpos antimuscarínicos¹³.

Las glándulas exocrinas están compuestas por células epiteliales ductales y células acinares con función secretoria. Existen cambios en estas células en modelos animales de SSp en ausencia de linfocitos funcionales y se ha propuesto a las células epiteliales glandulares como los principales componentes en la generación de respuesta autoinmune al exhibir un fenotipo activado debido a que expresan altas cantidades de HLA-DR, moléculas co-estimuladoras (CD80, CD86, CD40), moléculas de adhesión (ICAM-1), receptores de respuesta innata como receptores tipo Toll y factor activador de células B (BAFF). Las células epiteliales acinares también expresan autoantígenos provenientes del citoplasma representando una vía por medio de la cual estos son presentados al sistema inmune^{14,15}.

La composición celular de los infiltrados en la GSM depende fuertemente de la severidad de la lesión histopatológica: los linfocitos T CD4+ predominan en lesiones leves tempranas y los linfocitos B son los predominantes en los estadios avanzados de la enfermedad¹⁶.

Manifestaciones clínicas locales

Manifestaciones orales

El involucro de las glándulas salivales mayores y GSM conduce a disminución de la secreción salival, lo que se manifiesta como xerostomía (boca seca o *sicca* oral) con incremento de infecciones bucales, friabilidad de la mucosa y caries dental por pérdida de la lubricación y capacidades antimicrobianas de la saliva. Es común la candidiasis oral manifestada como lesiones mucosas eritematosas, fisuras linguales, atrofia de las papilas filiformes y queilitis angular. Puede ocurrir crecimiento asintomático y autolimitado de las glándulas parótidas o de otras glándulas salivales mayores, pero en caso de ser persistente debe vigilarse cuidadosamente hasta excluir infecciones y más importante el desarrollo de linfoma¹⁷. La xerostomía puede ser evaluada por diferentes métodos diagnósticos como gammagrafía, sialografía de glándula parótida, sialometría, sialoendoscopía y biopsia de GSM. Esta última es tomada del labio inferior y se considera diagnóstica si existe infiltración linfocítica en áreas periductales o perivasculares en la examinación histológica^{18,19}.

Manifestaciones oculares

La infiltración linfocítica de las glándulas lagrimales conduce a disminución del flujo lagrimal (xeroftalmia) y a alteraciones en la composición química del fluido lagrimal con daño al epitelio corneal y conjuntival conocido como queratoconjuntivitis seca (QCS), que se manifiesta como sensación de cuerpo extraño en los ojos, irritación, fotosensibilidad y alteraciones visuales. Las complicaciones incluyen ulceraciones corneales, queratitis bacteriana e infecciones oculares^{17,20}.

Las pruebas objetivas para evaluar la xeroftalmia consisten en la prueba de Schirmer, que se usa para medir la producción lagrimal en 5 minutos.

La prueba verde lisamina (puntuación de Van Bijsterveld) evalúa los daños estructurales en la superficie del ojo, la córnea y la conjuntiva se tiñen con este colorante verde en caso de haber daño en el epitelio. Cada área del ojo (nasal, central, temporal) se pondera de forma semicuantitativa de 0 a 3, dependiendo de la extensión de la tinción de la superficie. La suma de las diferentes puntuaciones constituye la puntuación van Bijsterveld, que se sitúa entre 0 y 9 para cada ojo. Se considera diagnóstico una puntuación igual o mayor a 4²¹.

Manifestaciones sistémicas

Existen manifestaciones sistémicas en el 30 a 70% de los pacientes antes o después del diagnóstico de SSp²²⁻²⁵. Es común la presencia de autoanticuerpos circulantes anti-Ro y anti-La en comparación con un grupo de pacientes con enfermedad local aislada²⁶.

Hasta 70% de los pacientes pueden experimentar fatiga con una correlación moderada entre depresión y fatiga. Una posible explicación es que ambas comparten un mecanismo biológico subyacente²⁷.

Aproximadamente la mitad de los pacientes con SSp experimentan síntomas como artralgias y/o artritis en el curso de su enfermedad y pueden ocurrir antes del inicio de los síntomas glandulares. Otras manifestaciones incluyen rigidez matutina, cuadros tipo fibromialgia. Existe una poliartropatía típica no erosiva que afecta principalmente pequeñas articulaciones que conduce ocasionalmente a una artropatía de Jaccoud. El involucro muscular es principalmente en forma de mialgias. Se han descrito cuadros de debilidad muscular proximal de inicio insidioso y/o miopatía inflamatoria leve (polimiositis o miositis por cuerpos de inclusión)^{17,20}.

Existe resequeidad de la piel conocida como «xerosis», acompañada de prurito; otras manifestaciones raras son el eritema anular y lesiones tipo pernio.

La vasculitis cutánea afecta 5-10% de los pacientes en forma de púrpura palpable, se relaciona con hiper-gamaglobulinemia con involucro de vasos de mediano y pequeño calibre y considerada como un marcador pronóstico adverso para el desarrollo de linfoma. Otras manifestaciones raras de la vasculitis cutánea son pápulas, úlceras y lesiones urticariales de predominio en extremidades inferiores²¹.

La infiltración linfocítica de la laringe, tráquea y glándulas bronquiales exocrinas conduce a resequeidad del árbol respiratorio que se manifiesta como una tos seca irritativa y persistente. Las pruebas de función pulmonar revelan patrón obstructivo de las vías aéreas pequeñas. En la tomografía computada de alta resolución (TACAR) aparece como un engrosamiento segmentario de los bronquios y en la radiografía de tórax como un «pulmón sucio». Las biopsias transbronquiales revelan infiltración mononuclear peribronquial y/o peribronquiolar²⁸.

La enfermedad pulmonar intersticial (EPI) es rara y se manifiesta como disnea, tos, estertores bilaterales e infiltrados intersticiales en tele de tórax; los hallazgos más comunes en la TACAR son atenuaciones en vidrio despolido, nódulos pequeños subpleurales, opacidades lineales no septales, engrosamiento septal interlobular y panal de abeja en áreas subpleurales. Los patrones histológicos más frecuentes son: Neumonía intersticial no específica (NINE), neumonía intersticial usual (NIU), neumonía organizada (NO) y neumonía intersticial linfocítica (NIL). Se debe excluir linfoma en caso de hallar nódulos pulmonares y linfadenopatía hiliar y/o mediastinal. Los derrames pleurales son muy raros en el SSp pero comunes cuando se asocia a otras enfermedades reumáticas²⁹.

Las complicaciones cardíacas como miocarditis o pericarditis en SSp son muy raras.

Existe disfagia debido a la sequedad de la faringe, el esófago o por alteración de la motilidad esofágica, puede acompañarse de náuseas y dolor epigástrico. El patrón histológico típico es la gastritis atrófica crónica con infiltración linfocítica; es frecuente la hiperamilasemia, aunque muy rara vez es expresión de una pancreatitis aguda o crónica. La hepatitis autoinmune se diagnostica en el 1.7 y el 4%, mientras que la colangitis autoinmune (con cambios histológicos similares a la etapa I de la cirrosis biliar primaria) en el 5-10% de los pacientes junto con anticuerpos antimitocondriales (AMA)³⁰.

En 5% de los pacientes con SSp existe involucro renal clínicamente significativo, principalmente nefritis intersticial (NI) por infiltración linfocítica del intersticio con inicio temprano o antes de la aparición de los síntomas de resequeidad. La presentación clínica más frecuente de la NI es la acidosis tubular distal (tanto de tipo I como II).

La enfermedad glomerular de tipo membranosa o membrano-proliferativa (GMN) es rara en pacientes con SSp y está mediada por depósito de complejos inmunes en el contexto de una vasculitis sistémica que se asocia con bajos niveles de complemento y crioglobulinemia mixta, puede aparecer tardíamente en la enfermedad con incremento de la morbilidad y mortalidad³¹.

Puede ocurrir ocasionalmente cistitis intersticial con nicturia, poliaquiuria y dolor suprapúbico o perineal. La biopsia revela inflamación de la mucosa y submucosa con infiltración linfocítica y de células cebadas²⁰.

La enfermedad tiroidea ocurre en cerca del 20% de los pacientes con SSp a través de tiroiditis autoinmune (principalmente tiroiditis de Hashimoto y en menor frecuencia enfermedad de Graves), más de 50% tienen hipotiroidismo subclínico. Los autoanticuerpos contra peroxidasa tiroidea (anti-TPO) y tiroglobulina (anti-TG) se pueden utilizar como predictores para el desarrollo de enfermedad tiroidea⁹.

Las manifestaciones neurológicas varían entre 2 a 60%, la principal es la polineuropatía predominantemente sensorial (ataxia sensorial o neuropatía dolorosa de fibras pequeñas)^{23,32}. Otras manifestaciones menos frecuentes son: Polineuropatía sensitivo-motora, polirradiculopatía, mononeuritis múltiple, neuropatías craneales (neuralgia del trigémino) y neuropatía autonómica (pupila de Adie e hipotensión ortostática).

El compromiso del sistema nervioso central es mucho menos común con cambios tipo esclerosis múltiple, convulsiones, mielitis transversa, meningitis aséptica, neuritis óptica, encefalopatía difusa y demencia³³.

Existe dispareunia en un 40% de las mujeres postmenopáusicas secundaria a pérdida de lubricación en comparación con 3% de los controles sanos³⁴.

Hallazgos de laboratorio

Generales

El hallazgo más común es la hipergammaglobulinemia. Los niveles elevados de γ -globulinas contienen autoanticuerpos dirigidos contra antígenos no específicos como el FR, ANA, antígenos celulares SSA/Ro, SSB/La y anticuerpos dirigidos contra antígenos específicos de órgano como células ductales salivales, AMA, anticuerpos anti células glandulares tiroideas y antígenos de la mucosa gástrica³⁵.

Existe anemia, elevación de la velocidad de sedimentación globular (VSG) con niveles de proteína C-reactiva (CRP) normal, debido posiblemente a los niveles elevados de IFN tipo I que reprime su producción^{20,36}, además

de citopenias (linfopenia, trombocitopenia y neutropenia) que correlacionan con manifestaciones extraglandulares. La neutropenia se ha propuesto como un marcador pronóstico adverso para el desarrollo de linfoma³⁷.

Puede existir hipokalemia y acidosis hiperclorémica debido a involucro renal por acidosis tubular distal³¹.

Se pueden detectar niveles altos de inmunoglobulina monoclonal en 10 a 15% de los pacientes con SSp, dependiendo de la técnica utilizada. Aproximadamente en el 20% existen crioglobulinas en su suero³⁸. El FR y las crioglobulinas juegan un papel importante en la patogénesis del SSp, ya que han demostrado ser indicadores de aumento en el riesgo de linfoma. Los niveles de complemento pueden estar disminuidos, especialmente C4, ya sea por estar genéticamente pre-determinado o secundario a su consumo (complejos inmunes o crioglobulinemia²⁰).

Auto-anticuerpos específicos

El FR se encuentra positivo en el 40-50% de los pacientes con SSp, este es un autoanticuerpo que se une a la porción Fc de la IgG³⁵. Los ANA se encuentran positivos en el 50-90% de los pacientes. Se detectan por inmunofluorescencia indirecta en células Hep-2 y exhiben un patrón moteado. Anti-SSA/Ro y anti-SSB/La son los 2 anticuerpos más útiles para establecer el diagnóstico de SSp. Anti-SSA/Ro está presente en el 50 a 90% de los pacientes con SSp². Estos autoanticuerpos no son específicos de SSp, ya que se pueden encontrar en 30 a 50% de los pacientes con LES. Los anticuerpos anti-SSB se detectan exclusivamente en pacientes con anti-SSA. Anti-SSB son más específicos de SSp, ya que se detectan en 30 a 60% de los pacientes con SSp pero en solo el 20-30% de los pacientes con LES. Los autoanticuerpos anti-SSA/Ro se pueden unir a varios epítopos antigénicos expresados por dos proteínas de distintas masas moleculares, 52 y 60 kDa. Parece que el perfil de reactividad puede diferir para los pacientes con SSp (reactividad aislada anti-SSA de 52 kDa) y aquellos con LES (reactividad anti-SSA de 60 kDa). La presencia de anticuerpos anti-Ro (SSA) y/o La (SSB) se asocia a inicio de la enfermedad precoz, mayor duración de la enfermedad, inflamación recurrente de las glándulas parótidas, esplenomegalia, linfadenopatía y vasculitis en pacientes con SSp²¹. Linfocitos B secretores de anticuerpos anti-SSA y anti-SSB están presentes en los infiltrados mononucleares de las glándulas exocrinas, a menudo asociados con los linfocitos T específicos para epítopos SSA/SSB, por lo tanto SSA y SSB podrían convertirse en inmunogénicos debido a su localización anormal en el

citoplasma o a la expresión aumentada en la membrana de las vesículas apoptóticas en las células epiteliales³⁵.

Otros autoanticuerpos

Los anticentrómero (ACA) se encuentran en un número limitado de pacientes con SSp y se caracterizan por una mayor prevalencia de fenómeno de Raynaud y disfagia comparado con los pacientes ACA negativos³⁹. En 41 de los 43 pacientes con SSp se hallaron anticuerpos contra la proteína del citoesqueleto α -fodrina en contraste con sujetos sanos o pacientes con otras enfermedades autoinmunes. Un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) comercial fue desarrollado posteriormente para el diagnóstico de estos autoanticuerpos, sin embargo dada su baja sensibilidad y especificidad se impide el uso de esta prueba con fines diagnósticos³⁵. Los autoanticuerpos dirigidos contra receptores de acetilcolina M3R (principal tipo de receptor muscarínico detectado en las glándulas salivales) se han descrito también en pacientes con SSp; estos anticuerpos se han relacionado con la inhibición de la transmisión neuro-glandular, lo que resulta en *sicca* y características extraglandulares del SSp relacionadas con disfunción autonómica²¹. Los AMA considerados como marcador diagnóstico para cirrosis biliar primaria (CBP) están presentes en el 6,6% de los pacientes con SSp. El 92% de los pacientes con SSp con afectación hepática con características histológicas de colangitis crónica similares a las observadas en la etapa I de CBP tienen AMA positivos²⁰.

Diagnostico

Si bien ha habido 11 diferentes criterios diagnósticos publicados para SS desde 1965, ninguno ha sido aprobado por el ACR o la EULAR⁴⁰.

A través de los años, se han propuesto varios conjuntos de criterios para la clasificación del SS, pero ninguno de ellos ha sido ampliamente adoptado por la comunidad científica hasta que en el año de 1993 surgieron los Criterios Europeos preliminares de clasificación. Estos criterios de clasificación han sido empleados en gran medida tanto en la práctica clínica como en estudios observacionales y de intervención durante muchos años. En el 2002 los criterios europeos preliminares volvieron a ser examinados por un Comité conjunto estadounidense y europeo. El resultado de esta revisión fueron los criterios-AECG, que introdujeron normas más claramente definidas para clasificar a los pacientes con SSp o Ss, y proporcionan criterios de exclusión más precisos^{41,42}.

Estudios recientes basados en dichos criterios muestran prevalencias de 0.1% con intervalos de confianza de rangos de < 0.1-0.4^{43,44}.

Estos son los criterios de clasificación propuestos en el 2002 (Tabla 1⁴¹).

Básicamente el diagnóstico de Sjögren primario se realiza en pacientes que presentan signos y síntomas de sequedad oral y ocular, y que resultaron positivos para los anticuerpos del antígeno anti-SSA o anti-SSB, o que tienen positiva una biopsia de glándula salival y que no tienen ninguna otra enfermedad autoinmune de base⁴⁵.

El SS se encuentra en todas partes del mundo. Las diferencias regionales no han sido muy exploradas. Hay una gran preponderancia por el sexo femenino, con una relación mujer: hombre de aproximadamente 9:1. La enfermedad se puede encontrar en todos los grupos de edad, pero generalmente comienza entre las edades de 40 y 60 años y rara vez se observa en niños y adolescentes¹⁷.

Los criterios-AECG del 2002 tienen una mejor especificidad que su predecesor, ya que requieren evidencia de autoinmunidad de serología anti-SSA/B positiva o sialoadenitis focal linfocítica con puntuación ≥ 1 en una biopsia de glándula salival labial. Sin embargo, han sido criticados por incluir pruebas subjetivas (síntomas), medidas psicológicas que carecen de especificidad y pruebas diagnósticas alternativas que no son equivalentes. Por lo que era necesario la realización de nuevos criterios, por lo que se creó la Alianza de Colaboración Clínica Internacional de Sjögren (SICCA), la cual es financiada por el Instituto Nacional de la Salud para desarrollar nuevos criterios de clasificación para el SS, para definir mejor el fenotipo SS y almacenar datos y muestras biológicas clínicas para apoyar la futura investigación. Ellos proponen nuevos criterios de clasificación para el SS, siguiendo las directrices del ACR para la medida de lo posible, una condición que requiere múltiples especialidades clínicas para el diagnóstico⁴⁰.

En el año 2012 se propusieron estos nuevos criterios de clasificación para el SS, los cuales incluyen (Tabla 2⁴⁰).

La prueba rosa de bengala generalmente se lleva a cabo por un oftalmólogo; se instila 1% de colorante rosa de Bengala y se evalúa la integridad de la superficie ocular por cuantitativamente ponderar la tinción de la conjuntiva. El colorante rosa de Bengala manchará las células desvitalizadas de la córnea y epitelio conjuntival. La prueba identificará queratoconjuntivitis *sicca* cuando los síntomas oculares son mínimos^{46,47}.

Una biopsia positiva se define como al menos uno de los focos de denso infiltrado inflamatorio que contiene al menos 50 por linfocitos 4 mm² ⁴⁶ (Fig. 1).

Tabla 1. Criterios de clasificación de Síndrome de Sjögren propuestos en el 2002

Síntomas oculares (por lo menos uno de los siguientes):

- Todos los días, persistentes, ojos secos molestos por más de tres meses.
- Sensación recurrente de arena o grava en los ojos.
- El uso de sustitutos de lágrimas más de tres veces por día.

Síntomas orales (por lo menos uno de los siguientes):

- Sensación diaria de sequedad en la boca por más de tres meses.
- Inflamación de las glándulas salivales recurrente o persistente en la edad adulta.

Los signos oculares (resultados positivos de al menos una de las siguientes pruebas):

- Prueba de Schirmer.
- Prueba de rosa de Bengala o de otra prueba de tinción ocular.

Histopatología (biopsia positiva de una glándula salival).

Implicación de la glándula salival (resultados positivos de al menos una de las siguientes pruebas):

- Colección de todo el flujo salival no estimulado (menos de 1.5 ml en 15 minutos).
- Sialografía parotídea mostrando la presencia de sialectasia difusa.
- Gammagrafía salival mostrando retardo en la captación, la reducción de la concentración, y la excreción retardada de trazador.

Presencia de anticuerpos a los antígenos:

- Anti-SSA (Ro)
- Anti-SSB (La)

Clasificación del síndrome de Sjögren primario se requiere:

- Cuatro de seis criterios, entre ellos una biopsia de glándula salival menor o anticuerpos positivos SSA/SSB.
- O tres de los cuatro criterios objetivos (criterios de 3 a 6)

Clasificación del síndrome de Sjögren secundario:

- Exige una enfermedad del tejido conectivo establecida y uno de los síntomas *sicca* (criterios 1 o 2), además de 3 de los cuatro criterios objetivos (artículos 3, 4, 5).

Exclusiones:

- Incluyen radioterapia previa a la cabeza y cuello, linfoma, sarcoidosis, enfermedad de injerto contra huésped, e infección con el virus de la hepatitis C, o VIH, el uso de los fármacos anticolinérgicos.*

*Vitali C, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. Ann Rheum Dis, 2002;61(6):554-8.

Estos nuevos criterios de clasificación SICCA desarrollados a partir de los datos recolectados a través del registro de medidas estandarizadas surgieron mediante el análisis de 1,362 pacientes en un estudio multicéntrico y multidisciplinario, hacen una redefinición del síndrome ya que son fáciles de aplicar, aunque puede ser necesaria la participación de al menos dos especialidades clínicas, se basan exclusivamente en pruebas objetivas. Una serie de ejercicios de validación indican un mejor rendimiento de la clasificación en relación con las alternativas existentes, haciéndolos más adecuados para su aplicación en situaciones en las que errores de clasificación pueden presentar riesgos para la salud⁴⁰.

Métodos proteómicos están ampliando nuestra capacidad para determinar los cambios en la expresión proteica, la tecnología utilizada ha evolucionado rápidamente en los últimos diez años, lo que permite cuantificación más precisa de las proteínas expresadas⁴⁸.

Tabla 2. Criterios de clasificación de Síndrome de Sjögren propuestos en el 2012

La clasificación de SS es aplicable a individuos con signos/síntomas sugestivos de SS. Dos de 3 de los siguientes hallazgos objetivos:

Anticuerpos:

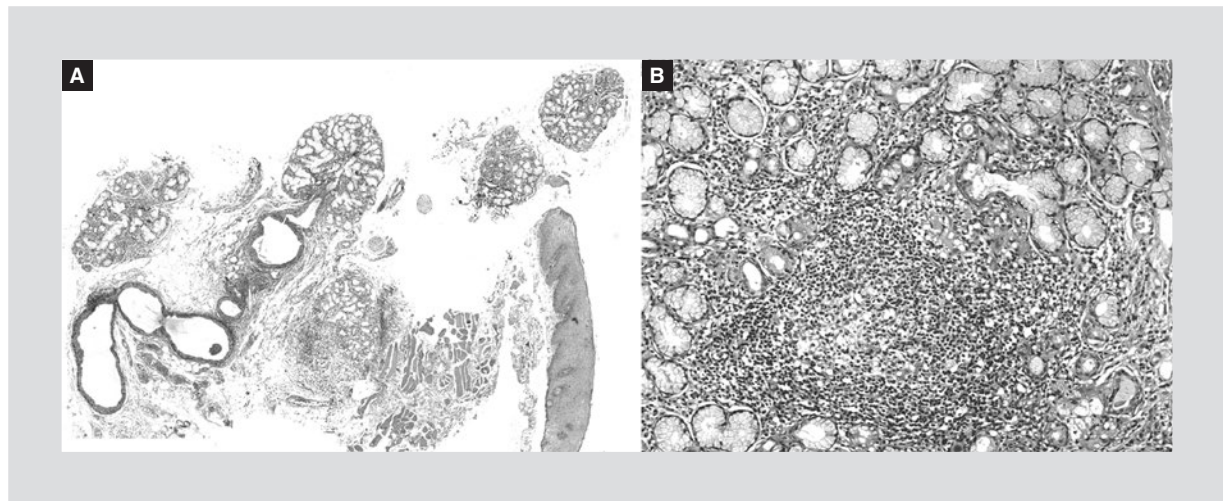
- Anti-Ro (SSA)
- Anti-La (SSB)
- FR y ANA positivos (a títulos de al menos 1:320)

Biopsia de glándula salival menor, con sialoadenitis linfocítica focal con > 1 foco/4 milímetros cuadrados.

Queratoconjuntivitis seca, con un puntaje por tinción ≥ 3 (asumiendo que actualmente el paciente no recibe tratamiento tópico para glaucoma, y que NO tiene antecedente de cirugía corneal o blefaroplastia los últimos 5 años).

Que se haya excluido: Historia de radiación de cabeza y cuello, VIH, VHC, sarcoidosis, síndrome IgG4, enfermedad injerto contra huésped, amiloidosis.

*Shiboski SC. Art Care Res. 2012;64(4):475-87.



Figuras 1. Biopsia de glándula salival menor en donde se observa: **A:** destrucción y atrofia glandular con sustitución por tejido graso y **B:** infiltración linfocítica periductal y periacinar.

El diagnóstico de SS es complejo y en ocasiones no se puede hacer fácilmente debido a que no existe un signo, síntoma o prueba patognomónica para diagnosticar la enfermedad; por muchos años el diagnóstico careció de estandarización, y esto ha sido superado por los diversos sets de criterios diagnósticos, los cuales han ido ganando aceptación^{40,42}.

Saliva como herramienta diagnóstica

La saliva humana es un fluido con diversas funciones biológicas esenciales para el mantenimiento de la salud bucal, su reciente uso en el diagnóstico de diversas enfermedades como en la enfermedad por el VIH, enfermedades cardíacas, diversos tipos de carcinoma y su posible papel como indicador de enfermedades autoinmunes ha demostrado que puede ser una herramienta útil para el diagnóstico en el campo clínico⁴⁹. La saliva total es una mezcla de secreciones de los tres pares de glándulas salivales mayores (parótida, submandibular, sublingual), de las GSM situadas debajo de la mucosa oral, y de constituyentes del fluido gingival, así como muchos otros contaminantes microbianos de la boca y de las células descamativas del epitelio bucal. Las contribuciones de las diferentes glándulas salivales a la conformación de la saliva total son variables dependiendo del grado de estimulación y de las diferentes horas del día y muchos trabajos se han enfocado al estudio en la saliva total⁵⁰⁻⁵² y ductal^{53,54}, lo que ha conducido al análisis completo del proteoma salival que nos puede brindar pistas importantes para el entendimiento de la patogénesis de enfermedades sistémicas.

La amplia variedad de moléculas presentes en las secreciones salivales coloca a la saliva como una fuente atractiva de biomarcadores aunado a ventajas como es su fácil recolección, almacenamiento y transporte a bajo costo; a diferencia del plasma no se coagula y es un método no invasivo que reduce así la disconformidad en el paciente cuando es necesaria la toma de muestras repetidas. La saliva en comparación con la sangre puede demostrar marcadores más sensibles y específicos para diagnóstico de enfermedades orales⁵⁵.

Las proteínas y péptidos salivales se han estudiado con diferentes técnicas bioquímicas, como cromatografía líquida, electroforesis en gel, espectrografía de masas, inmunoensayos y ELISA^{50,51}.

En los últimos 40 años se han identificado diversidad de proteínas y péptidos salivales con un amplio rango de propiedades funcionales como inmunoglobulinas con actividad antimicrobiana (lysozima, lactoferrina, sialoperoxidasa, histatinas y defensinas), lubricantes y de protección física como las mucinas, proteínas ricas en prolina con funciones de precipitación de químicos dañinos de la dieta y otras proteínas salivales que están sujetas a la actividad proteolítica de proteasas salivales y bacterianas en la boca⁵⁶. En una revisión de Hu, et al. se reveló el descubrimiento de aproximadamente 1,380 proteínas detectadas usando diferentes técnicas, aunque solo 100 de estas estaban presentes en abundancia⁵⁷.

Conjuntamente con el avance progresivo en el conocimiento del proteoma salival humano, ha ganado gran aceptación en el SS la posibilidad de usar la saliva como una herramienta útil tanto en el campo diagnóstico como pronóstico, esto debido a que el análisis de las proteínas salivales puede reflejar localmente el

estado patológico subyacente de las glándulas salivales, que son el órgano blanco en esta enfermedad. Se han realizado diversos estudios aplicando diversas técnicas usando tanto saliva estimulada como saliva no estimulada (saliva total), la mayoría de estos estudios preliminares en los que se usan diversos métodos se han enfocado en la búsqueda de biomarcadores diagnósticos con el fin de validar y tipificar un panel proteómico salival para la detección temprana no invasiva del SS^{58,66}. Los datos obtenidos de estos estudios indican que las proteínas secretorias de origen acinar están reducidas, mientras que las proteínas inflamatorias están aumentadas cuando se compararon con sujetos controles sanos^{58,64}. El incremento de proteínas inflamatorias tiende a correlacionar con inflamación crónica y daño persistente de las glándulas salivales en el microambiente oral. El aumento de la expresión de β 2-microglobulina, cadena ligera de inmunoglobulina Y y κ , se piensa que es un reflejo de la activación y el incremento de la síntesis de inmunoglobulina intraglandular. La disminución de las proteínas secretorias se atribuye al daño y disfunción de las células acinares y a la presencia de procesos de fragmentación, los cuales pueden estar relacionados a un desequilibrio de expresión entre proteasas e inhibidores de proteasa⁶⁷. De todas las proteínas que se han caracterizado en la saliva de pacientes con SS, Hu, et al. han realizado la validación preclínica de β 2-microglobulina, α -enolasa y cathepsina D en pacientes con SSp en comparación con pacientes con SSs a LES y controles sanos, usando el método de ELISA y Western blotting, así como tres biomarcadores RNAm usando la reacción en cadena de la polimerasa (RCP)⁶¹. En el 2011 Baldini, et al. estudiaron 180 pacientes con SSp, SSs a AR y esclerodermia limitada, controles sanos y pacientes con xerostomía sin enfermedad autoinmune en los cuales se realizó un análisis proteómico usando electroforesis en doble dimensión, espectrometría de masas, Western blot y ELISA. En este estudio se encontraron diferencias significativas en precursores de α -amilasa, anhidrasa carbónica VI, β 2-microglobulina, deshidrogenasa 3 fosfato gliceraldehído (G3PDH), proteína de unión a ácidos grasos epidérmicos (E-FABP), cadena ligera de inmunoglobulina k (IGK-cadena ligera) en la saliva de pacientes con SSp en comparación a voluntarios sanos y controles con xerostomía sin SS⁵⁸.

La β 2-microglobulina fue aislada en 1968 por Berggard y Bearn; es una proteína no glucosilada con un peso molecular de 11,800 y se ha identificado como una cadena ligera invariante de los antígenos de histocompatibilidad clase HLA-A, HLA-B y HLA-C; este

complejo se encuentra en la superficie de todas las células nucleadas. La superficie de monocitos y linfocitos es particularmente rica en β 2-microglobulina, su síntesis y expresión linfocítica están aumentadas por estimulación con mitógenos o IFN. Como resultado del reciclado del HLA la β 2-microglobulina es disociada en su forma libre en el fluido intersticial y se ha sugerido que la medición de esta proteína en saliva es un método simple de cuantificar la extensión del daño glandular en pacientes con SS⁶⁸. Algunos reportes muestran el incremento de la expresión de β 2-microglobulina en saliva de pacientes con SS^{58,61,69-72}. Hu, et al. indican que esta proteína es un marcador altamente sensible y específico para distinguir a pacientes con SS⁷¹ y se puede usar como prueba diagnóstica suplementaria no invasiva⁶⁸. No se ha estudiado la presencia de esta proteína en la saliva de pacientes mexicanos con SS, por lo que este estudio determinará los niveles de β 2-microglobulina salival en una población de pacientes con SS en comparación con un grupo control sano sin enfermedad autoinmune.

Bibliografía

1. Peri Y, Agmon-Levin N, Theodor E, Shoenfeld Y. Sjogren's syndrome, the old and the new. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2012;26(1):105-17.
2. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. The geoepidemiology of Sjogren's syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):A305-10.
3. Pillemer SR, Matteson EL, Jacobsson LT, et al. Incidence of physician-diagnosed primary Sjogren syndrome in residents of Olmsted County, Minnesota. *Mayo Clin Proc*. 2001;76(6):593-9.
4. Maldini C, Seror R, Fain O, et al. Epidemiology of primary Sjogren's syndrome in a French Multi-Racial/Ethnic area. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013.
5. Cruz-Tapias P, Rojas-Villarraga A, Maier-Moore S, Anaya JM. HLA and Sjogren's syndrome susceptibility. A meta-analysis of worldwide studies. *Autoimmun Rev*. 2012;11(4):281-7.
6. Kimoto O, Sawada J, Shimoyama K, et al. Activation of the interferon pathway in peripheral blood of patients with Sjogren's syndrome. *J Rheumatol*. 2011;38(2):310-6.
7. Halkkonen J, Pertovaara M, Anttonen J, Pasternack A, Hurme M. Elevated interleukin-6 plasma levels are regulated by the promoter region polymorphism of the IL6 gene in primary Sjogren's syndrome and correlate with the clinical manifestations of the disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40(6):656-61.
8. Triantafyllopoulou A, Moutsopoulos H. Persistent viral infection in primary Sjogren's syndrome: review and perspectives. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;32(3):210-4.
9. Mavragani CP, Fragoulis GE, Moutsopoulos HM. Endocrine alterations in primary Sjogren's syndrome: an overview. *J Autoimmun*. 2012;39(4):354-8.
10. Toubi E, Shoenfeld Y. The role of vitamin D in regulating immune responses. *Isr Med Assoc J*. 2010;12(3):174-5.
11. Szodoray P, Horvath IF, Papp G, et al. The immunoregulatory role of vitamins A, D and E in patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(2):211-7.
12. Karaiskos D, Mavragani CP, Makaroni S, et al. Stress, coping strategies and social support in patients with primary Sjogren's syndrome prior to disease onset: a retrospective case-control study. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(1):40-6.
13. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjogren's Syndrome. *Annu Rev Pathol*. 2013 Sep 18.
14. Manoussakis MN, Kapsogeorgou EK. The role of intrinsic epithelial activation in the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *J Autoimmun*. 2010;35(3):219-24.
15. Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome or autoimmune epithelitis? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;32(3):199-200.
16. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjogren's syndrome. *J Autoimmun*. 2010;34(4):400-7.
17. Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjogren syndrome. *Arch Intern Med*. 2004;164(12):1275-84.

18. Daniels TE. Labial salivary gland biopsy in Sjogren's syndrome. Assessment as a diagnostic criterion in 362 suspected cases. *Arthritis Rheum.* 1984;27(2):147-56.
19. Shacham R, Puterman MB, Ohana N, Nahlieli O. Endoscopic treatment of salivary glands affected by autoimmune diseases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69(2):476-81.
20. Tzioufas AG, Mitsias DI, Moutsopoulos HM. Sjögren's Syndrome. En: Hochberg MC, editor. *Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier; 2008.
21. Athanasios G, Tzioufas CPM, Mariette X. Sjögren's syndrome and lymphoproliferations in autoimmune diseases. *Eular On-line Course on Rheumatic Diseases.* 2007-2011: module n°22.
22. Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjogren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2000;29(5):296-304.
23. Garcia-Carrasco M, Ramos-Casals M, Rosas J, et al. Primary Sjogren syndrome: clinical and immunologic disease patterns in a cohort of 400 patients. *Medicine (Baltimore).* 2002;81(4):270-80.
24. ter Borg EJ, Risselada AP, Kelder JC. Relation of systemic autoantibodies to the number of extraglandular manifestations in primary Sjogren's Syndrome: a retrospective analysis of 65 patients in the Netherlands. *Semin Arthritis Rheum.* 2011;40(6):547-51.
25. Seror R, Bootsma H, Bowman SJ, et al. Outcome measures for primary Sjogren's syndrome. *J Autoimmun.* 2012;39(1-2):97-102.
26. Ramos-Casals M, Solans R, Rosas J, et al. Primary Sjogren syndrome in Spain: clinical and immunologic expression in 1010 patients. *Medicine (Baltimore).* 2008;87(4):210-9.
27. Tincafi A, Andreoli L, Cavazzana I, et al. Novel aspects of Sjogren's syndrome in 2012. *BMC Med.* 2013;11:93.
28. Papiiris SA, Maniati M, Constantopoulos SH, Roussos C, Moutsopoulos HM, Skopouli FN. Lung involvement in primary Sjogren's syndrome is mainly related to the small airway disease. *Ann Rheum Dis.* 1999;58(1):61-4.
29. Hatron PY, Tillie-Leblond I, Launay D, Hachulla E, Fauchais AL, Wallaert B. Pulmonary manifestations of Sjogren's syndrome. *Presse Med.* 2011;40(1 Pt 2):e49-64.
30. Ebert EC. Gastrointestinal and hepatic manifestations of Sjogren syndrome. *J Clin Gastroenterol.* 2012;46(1):25-30.
31. Goules A, Masouridi S, Tzioufas AG, Ioannidis JP, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Clinically significant and biopsy-documented renal involvement in primary Sjogren syndrome. *Medicine (Baltimore).* 2000;79(4):241-9.
32. Pavlakis PP, Alexopoulos H, Kosmidis ML, et al. Peripheral neuropathies in Sjogren's syndrome: a critical update on clinical features and pathogenetic mechanisms. *J Autoimmun.* 2012;39(1-2):27-33.
33. Chai J, Logigian EL. Neurological manifestations of primary Sjogren's syndrome. *Curr Opin Neurol.* 2010;23(5):509-13.
34. Mulherin DM, Sheeran TP, Kumararatne DS, Speculand B, Luesley D, Situnayake RD. Sjogren's syndrome in women presenting with chronic dyspareunia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997;104(9):1019-23.
35. Routsias JG, Tzioufas AG. Sjogren's syndrome--study of autoantigens and autoantibodies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007;32(3):238-51.
36. Enocsson H, Sjowall C, Skogh T, Eloranta ML, Ronnblom L, Wettero J. Interferon-alpha mediates suppression of C-reactive protein: explanation for muted C-reactive protein response in lupus flares? *Arthritis Rheum.* 2009;60(12):3755-60.
37. Baimpa E, Dahabreh IJ, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. Hematologic manifestations and predictors of lymphoma development in primary Sjogren syndrome: clinical and pathophysiologic aspects. *Medicine (Baltimore).* 2009;88(5):284-93.
38. Tzioufas AG, Boumba DS, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Mixed monoclonal cryoglobulinemia and monoclonal rheumatoid factor cross-reactive idiotypes as predictive factors for the development of lymphoma in primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 1996;39(5):767-72.
39. Bournia VK, Diamanti KD, Vlachoyiannopoulos PG, Moutsopoulos HM. Anticentromere antibody positive Sjogren's Syndrome: a retrospective descriptive analysis. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(2):R47.
40. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjogren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012;64(4):475-87.
41. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjogren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum.* 1993;36(3):340-7.
42. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(6):554-8.
43. Bowman SJ, Ibrahim GH, Holmes G, Hamburger J, Ainsworth JR. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjogren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scand J Rheumatol.* 2004;33(1):39-43.
44. Alamanos Y, Tsifetaki N, Voulgari PV, Venetsanopoulou AI, Siozos C, Drosos AA. Epidemiology of primary Sjogren's syndrome in north-west Greece, 1982-2003. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(2):187-91.
45. Fox RI. Sjogren's syndrome. *Lancet.* 2005;366(9482):321-31.
46. Kim J. The use of vital dyes in corneal disease. *Curr Opin Ophthalmol.* 2000;11(4):241-7.
47. Vivino FB KW. Sjogren's syndrome: clinical picture and diagnostic tests. *J Musc Med.* 1995;12(3):40-52.
48. Vanarsa K, Mohan C. Proteomics in rheumatology: the dawn of a new era. *F1000 Med Rep.* 2010;2:87.
49. Lee YH, Wong DT. Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent.* 2009;22(4):241-8.
50. Huang CM. Comparative proteomic analysis of human whole saliva. *Arch Oral Biol.* 2004;49(12):951-62.
51. Hu S, Xie Y, Ramachandran P, et al. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. *Proteomics.* 2005;5(6):1714-28.
52. Guo T, Rudnick PA, Wang W, Lee CS, Devoe DL, Balgley BM. Characterization of the human salivary proteome by capillary isoelectric focusing/nanoreversed-phase liquid chromatography coupled with ESI-tandem MS. *J Proteome Res.* 2006;5(6):1469-78.
53. Hu S, Denny P, Xie Y, et al. Differentially expressed protein markers in human submandibular and sublingual secretions. *Int J Oncol.* 2004;25(5):1423-30.
54. Denny P, Hagen FK, Hardt M, et al. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. *J Proteome Res.* 2008;7(5):1994-2006.
55. Hu S, Yu T, Xie Y, et al. Discovery of oral fluid biomarkers for human oral cancer by mass spectrometry. *Cancer Genomics Proteomics.* 2007;4(2):55-64.
56. Oppenheim FG, Salih E, Siqueira WL, Zhang W, Helmerhorst EJ. Salivary proteome and its genetic polymorphisms. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1098:22-50.
57. Huq NL, Cross KJ, Ung M, Myroforidis H, Veith PD, Chen D. A review of the salivary proteome and peptidome and saliva-derived peptide therapeutics. *Int J Pept Res Therapeut.* 2007;13:547-64.
58. Baldini C, Giusti L, Ciregia F, et al. Proteomic analysis of saliva: a unique tool to distinguish primary Sjogren's syndrome from secondary Sjogren's syndrome and other sicca syndromes. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(6):R194.
59. Fleissig Y, Deutsch O, Reichenberg E, et al. Different proteomic protein patterns in saliva of Sjogren's syndrome patients. *Oral Dis.* 2009;15(1):61-8.
60. Giusti L, Baldini C, Bazzichi L, et al. Proteome analysis of whole saliva: a new tool for rheumatic diseases--the example of Sjogren's syndrome. *Proteomics.* 2007;7(10):1634-43.
61. Hu S, Gao K, Pollard R, et al. Preclinical validation of salivary biomarkers for primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2010;62(11):1633-8.
62. Hu S, Wang J, Meijer J, et al. Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2007;56(11):3588-600.
63. Peluso G, De Santis M, Inzitari R, et al. Proteomic study of salivary peptides and proteins in patients with Sjogren's syndrome before and after pilocarpine treatment. *Arthritis Rheum.* 2007;56(7):2216-22.
64. Ryu OH, Atkinson JC, Hoehn GT, Illei GG, Hart TC. Identification of parotid salivary biomarkers in Sjogren's syndrome by surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and two-dimensional difference gel electrophoresis. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45(9):1077-86.
65. Ito K, Funayama S, Hitomi Y, et al. Proteome analysis of gelatin-bound salivary proteins in patients with primary Sjogren's syndrome: identification of matrix metalloproteinase-9. *Clin Chim Acta.* 2009;403(1-2):269-71.
66. Gallo A, Baldini C, Teos L, Mosca M, Bombardieri S, Alevizos I. Emerging trends in Sjogren's syndrome: basic and translational research. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(5):779-84.
67. Baldini C, Gallo A, Perez P, Mosca M, Alevizos I, Bombardieri S. Saliva as an ideal milieu for emerging diagnostic approaches in primary Sjogren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(5):785-90.
68. van der Geest SA, Markusse HM, Swaak AJ. Beta 2 microglobulin measurements in saliva of patients with primary Sjogren's syndrome: influence of flow. *Ann Rheum Dis.* 1993;52(6):461-3.
69. Kalk WW, Vissink A, Spijkervet FK, Bootsma H, Kallenberg CG, Nieuw Amerongen AV. Sialometry and sialochemistry: diagnostic tools for Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(12):1110-6.
70. Michalski JP, Daniels TE, Talal N, Grey HM. Beta2 microglobulin and lymphocytic infiltration in Sjogren's syndrome. *N Engl J Med.* 1975;293(24):1228-31.
71. Pedersen AM, Bardow A, Nauntofte B. Salivary changes and dental caries as potential oral markers of autoimmune salivary gland dysfunction in primary Sjogren's syndrome. *BMC Clin Pathol.* 2005;5(1):4.
72. Tishler M, Yaron I, Shirazi I, Yaron M. Saliva: an additional diagnostic tool in Sjogren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1997;27(3):173-9.