



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD.

FACULTAD DE MEDICINA. UNIDAD DE POSGRADO.

CAMPO DEL CONOCIMIENTO DE LAS CIENCIAS MÉDICAS

**ÁCIDOS GRASOS OMEGA EN SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO:
SIGNIFICADO CLÍNICO Y ASOCIACIÓN CON INFLAMACIÓN.**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A:

CARLOS YAIR CASTREJÓN MORALES

T U T O R:

M. en C. GABRIELA AURORA HERNÁNDEZ MOLINA

DPTO. DE REUMATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA. INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN.

CIUDAD DE MÉXICO. ENERO DE 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

1. Resumen -----	2
2. Marco teórico -----	4
3. Planteamiento del problema y justificación -----	14
4. Hipótesis -----	15
5. Objetivo -----	15
6. Materiales y métodos -----	16
7. Análisis estadístico -----	23
8. Resultados -----	23
9. Discusión -----	35
10. Conclusión -----	40
11. Referencias bibliográficas -----	42
12. Anexos -----	49

RESÚMEN

Los ácidos grasos omega (AG ω) son moduladores naturales de la inflamación.

Objetivo. Evaluar el consumo y niveles séricos de AG ω en pacientes con Síndrome de Sjögren primario (SSP), y correlacionarlos con síntomas sicca, pruebas de ojo y boca seca, actividad sistémica de la enfermedad y un panel de quimiocinas y citocinas inflamatorias.

Métodos. Se incluyeron 99 pacientes con diagnóstico de SSP de acuerdo a los criterios ACR/EULAR. Los niveles séricos de AG ω 3: ácido linolénico (ALN), ácido docosahexaenoico (ADH) y AG ω 6: ácido linoleico (AL), ácido araquidónico (AA), se determinaron por cromatografía de gases. Se aplicó cuestionario de frecuencia de alimentos de recordatorio de un día y se utilizó el software Food Processor. Se evaluó el flujo salival no estimulado, prueba de Schirmer, tinciones oculares, OSDI (cuestionario de resequeidad ocular), ESSPRI (evaluación de síntomas resequeidad, dolor y fatiga) y ESSDAI (evaluación de actividad). En una submuestra de pacientes se midió CXCL8, CXCL10, CCL2, IL-22 e IL-21 en saliva y CXCL8, CXCL10, CCL2 y CXCL9 en lágrimas por luminometría.

Resultados. La edad media fue 56.12 ± 13.7 años, 94.4% mujeres, mediana de duración de enfermedad 10 años. El consumo estimado de AG ω 3 y AG ω 6 fue 0.43 gr/día y 3.0 gr/día, respectivamente. Los niveles de ALN fueron 6.6 μ g/ml, ADH 26 μ g/ml, suma AG ω 3 25.4 μ g/ml, AL 168.5 μ g/ml, AA 34 μ g/ml, y la suma AG ω 6 205 μ g/ml. Hubo una correlación negativa entre ALN y OSDI ($\rho=-0.42$, $p=0.01$) y ESSDAI ($\rho=-0.26$, $p=0.03$); así como con ADH y ESSDAI ($\rho=-0.30$, $p=0.01$). En lágrimas observamos una correlación positiva entre AA y CXCL9 ($\rho=0.48$, $p=0.04$), mientras

que en saliva encontramos correlación negativa entre ALN, ADH y la suma AG ω 3 (LNL+ADH) con CCL2. Asimismo, se observó una correlación negativa entre la suma AG ω 6 (AL+AA) e IL-21, y de la relación ω 6/ ω 3 con IL-22.

Conclusión. Los pacientes con SSP tienen deficiencia en el consumo de AG ω . Documentamos menor sintomatología ocular, menor puntuación del ESSDAI y menores niveles de CCL2 en los pacientes con mejores niveles séricos de AG ω 3. Nuestro estudio sugiere que los bajos niveles de ω -3 en estos pacientes, participan en la perpetuación del estado de inflamación crónica.

PALABRAS CLAVE

Ácidos grasos libres, omega 3, omega 6, Síndrome de Sjögren,

MARCO TEÓRICO

El síndrome de Sjögren primario (SPP) es una enfermedad autoinmune crónica que afecta predominantemente a mujeres de la 4ª a 5ª décadas de la vida en una relación M:H de 10:1 y está caracterizada principalmente por afección de las glándulas salivales y lacrimales. Histopatológicamente se manifiesta por infiltrados focales de linfocitos, células plasmáticas y células B, predominantemente alrededor de las células ductales y con formación de agregados similares a centros germinales. La respuesta inmune va dirigida hacia antígenos expresados en el tejido epitelial, estas células expresan moléculas de HLA clase II, los cuales son inducidas para su expresión por el interferón- γ (IFN- γ) y el factor de necrosis tumoral- α (FNT- α), estos últimos producidos localmente por células T activadas. La respuesta inmune dirigida hacia el tejido epitelial ocasiona lesión y finalmente disfunción glandular, generando el cuadro clínico característico de la enfermedad. Sin embargo cabe mencionar que las manifestaciones clínicas no solo se limitan a glándulas, sino también puede haber afección sistémica mediante el depósito y formación de complejos inmunes y un estado inflamatorio persistente.¹

En estos pacientes, se ha reportado una prevalencia de dislipidemia del 22.5-76.7% (hipercolesterolemia 34% e hipertrigliceridemia 28%). Aunque pocos estudios han evaluado esta comorbilidad, se ha descrito que los pacientes con SSP e hipercolesterolemia tienen mayor prevalencia de anticuerpos anti-La/SSB y menores niveles de C4. Asimismo, se ha reportado menores niveles de HDL, correlación inversa entre los niveles de colesterol y la producción de

inmunoglobulina IgG y mayores niveles de VSG en los pacientes con SSP y dislipidemia².

Por otra parte, se sabe de otras moléculas lipídicas, entre las que se encuentran los ácidos grasos omega (ω), los cuales tienen un rol importante en la inflamación. Sin embargo, la participación de estas moléculas lipídicas dentro de la fisiopatogenia y síntomas *sicca* de los pacientes con SSP ha sido aún poco evaluada.

Ácidos grasos

Los ácidos grasos (AG) son ácidos monocarboxílicos de cadena larga, normalmente entre 8 y 22 carbonos. Los AG presentes en el organismo se encuentran en su forma saturada, principalmente como ácido palmítico o en la forma insaturada debido a la presencia de dobles ligaduras, y éstos a su vez pueden clasificarse como monoinsaturados y poliinsaturados (AGPI). Existen 2 AGPI considerados como esenciales ya que solo se obtienen de la dieta y no pueden ser sintetizados; estos son el ácido linoleico (AL, 18:2) y ácido alfa linolénico (ALN, 18:3), ambos pertenecen a la familia n-6 o n-3 respectivamente o también conocidos como ω -6 o ω -3. El ácido araquidónico (AA, 20:4) es el principal producto de la familia ω -6, y se sintetiza a partir de AL, mientras que el ácido eicosapentanoico (AEP, 20:5) y ácido docosahexaenoico (ADH) son productos del ALN, siendo los principales productos de la familia ω -3 y, de estos últimos, derivan moléculas implicadas directamente en mecanismos antiinflamatorios³.

Metabolismo de los AGPI

Los AG provenientes de la dieta, en este caso con más de 14 carbonos como el AL y ALN, se esterifican para formar triacilgliceroles dentro del enterocito y pasan a la circulación sanguínea a través de la vía linfática en forma de quilomicrones. La enzima lipoproteína lipasa, que se encuentra en la pared interna de los capilares sanguíneos, hidroliza los triacilgliceroles presentes en los quilomicrones, liberando a los ácidos grasos, incorporándose a varios tejidos donde llevan a cabo diversas funciones biológicas. En la Figura 1 se muestra esquemáticamente la vía de síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga proceso que se lleva a cabo en el hígado.

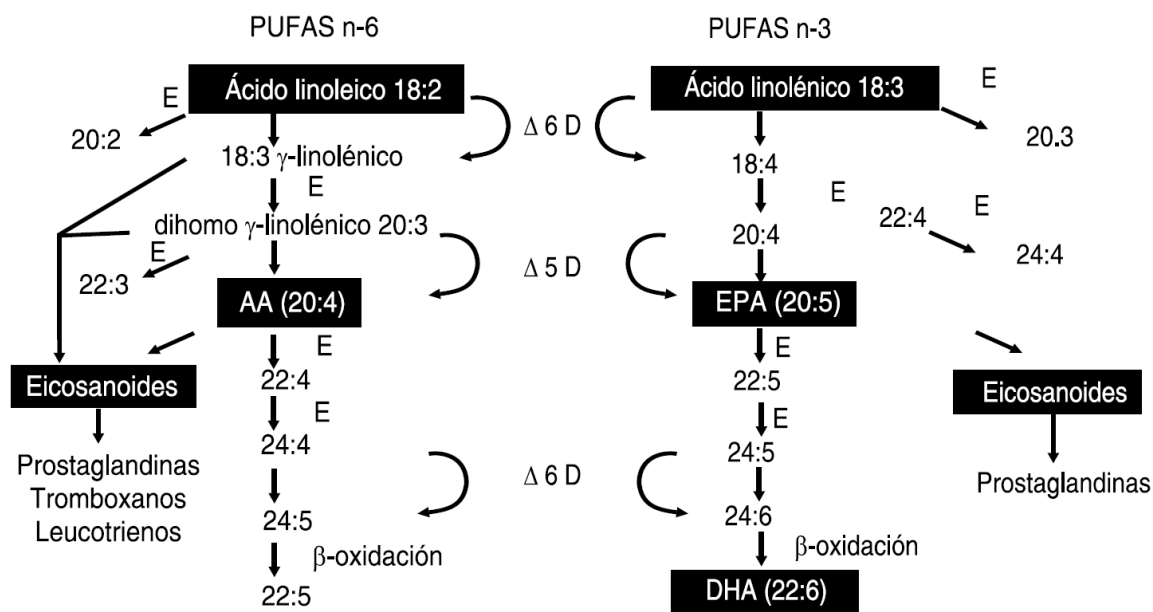


Fig. 1 Vías de síntesis de los derivados de LN y ALN. (PUFAS; ácidos grasos poliinsaturados.) Tomado de Rodríguez-Cruz M, et al. Rev Invest Clin. 2005; 57(3): 457-472.

El AA, el principal producto de la familia ω -6, se sintetiza a partir de AL a través de una secuencia de desaturaciones y elongaciones dependientes de malonil coenzima A, la misma vía usa el ALN para producir ADH y AEP⁴.

Ácidos grasos ω 3 y 6

Los AGPIs ω -3 son ácidos de cadena larga encontrados predominantemente en pescados, mejillones, ostras, camarones, en productos vegetales como nueces, semillas y aceites vegetales. Mientras que los ácidos grasos ω -6 se encuentran principalmente en semillas como nueces, cereales, huevo y aceites vegetales⁵.

El consumo de AGPS ω -6 conlleva a un incremento de prostaglandinas E2 (PGE2), leucotrienos, IL-2, IL-6, factor de necrosis tumoral (TNF) y tromboxano A2 (TXA2) a través de la degradación de ácido araquidónico (AA). En general se acepta que los índices de inflamación, trombogénesis e incremento de la permeabilidad vascular son controlados principalmente por ácidos grasos ω -6. En contraste, el consumo de ω -3 como LN, AEP y ADH, inhiben la ruptura de AA; este grupo produce prostaglandina E1 (PGE1) que tiene efectos opuestos a los de la PGE2, además de la producción de PGE3, PGI3, TXA2, leucotrienos pentanoicos y resolvinas, los cuales muestran efectos antiinflamatorios^{6,7}.

Ácidos grasos ω -3 y su participación en inflamación

La influencia de los ácidos grasos en la inflamación e inmunidad se empezó a estudiar desde 1970. Hasta ahora, se sabe que a través de la alteración de la membrana celular y la modulación en la producción de eicosanoides modifican la función de las células inflamatorias.

Un incremento en la suplementación oral de AEP y ADH resulta en un incremento en la cantidad de éstos en las células inmunes, las cuales empiezan a ser incorporadas después de un día de iniciada la suplementación y la incorporación máxima sucede alrededor de los 7 días, ésta demostrado en estudios in vitro con una mezcla de 85% linfocitos y 15% monocitos. Esta incorporación sugiere una modificación en la respuesta y función de las células inflamatorias⁸. Por otra parte, la producción de eicosanoides, a partir de AA, el cual se encuentra en las membranas fosfolipídicas, es convertido en sustrato de las enzimas ciclo-oxigenasa (COX), tromboxinas, lipoxigenasas y enzimas del citocromo P450, que a su vez produce PGE2, tromboxanos y leucotrienos. Por lo tanto la incorporación en la membrana de ω -3 disminuye la cantidad de ácido araquidónico, convirtiéndose en el primer mecanismo antiinflamatorio de los AGPIs ω -3⁹.

El AEP también es sustrato para las mismas enzimas, produciendo diferentes eucosanoides y generando competencia con el AA para estas mismas enzimas; a través de este mecanismo también se disminuye la producción de los diversos eucosanoides involucrados en la inflamación¹⁰.

Otro mecanismo antiinflamatorio asociado a los AGPI ω -3, y tal vez el más importante, es a través de la formación de mediadores involucrados en la resolución de la inflamación, llamados resolvinas, denominadas como E-resolvinas las derivadas de AEP(E1) y D-Resolvinas las derivadas de ADH (D1). Estudios experimentales en ratones han demostrado que la suplementación con AGPIs 3 incrementa la producción de resolvinas y un estudio en voluntarios sanos suplementados por 3 semanas con AGPI 3, incrementaron las concentraciones de

estas resolvinas. Los efectos de estos mediadores han sido evaluados en cultivos celulares en modelos animales de inflamación. Se ha demostrado que E1 y D1 inhiben la trans migración endotelial de neutrófilos, disminuyendo el infiltrado por los mismos en sitios de inflamación. La resolvinas D1 inhibe la producción de IL1- β mientras que protectina D1 inhibe la producción tanto de FNT como de IL1- β . Los potentes efectos de resolvinas y protectinas explican el mayor efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos ω -3^{11,12}.

Además, estudios recientes han demostrado la disminución en la producción de interleucinas proinflamatorias estimuladas por lipopolisacáridos (LPS) en células endoteliales y monocitos, la cual se lleva a cabo a través de la inhibición de la activación del Factor Nuclear κ B (FN κ B) inducido por LPS, asociado a la disminución de la fosforilación de I κ B por 3 mecanismos: 1) activación de PPAR γ el cual físicamente interactúa con FN κ B previniendo su translocación nuclear; 2) interfiriendo con los eventos tempranos en la activación de FN κ B vía TLR-4 y 3) vía GPR120 el cual inicia una cascada de señalización que inhibe la señalización que conlleva a la activación de FN κ B¹³.

Resolvinas D-1 y epitelio salival

Las resolvinas son de vida media corta y forman parte de una familia de lípidos bioactivos que son sintetizados durante la resolución de inflamación. Se ha demostrado que la Resolvinas D1 (RvD1), la cual deriva de ADH, previene la respuesta inflamatoria y aumenta la integridad de las células parótidas de rata de la línea Par-C10. La incubación de estas células con RVD1 disminuyó la disrupción de las uniones “apretadas” causada por FNT- α ; además, se aumentó la formación y

polaridad celular en 2 y 3 condiciones dimensionales a través de la vía Akt. Estos resultados sugieren un beneficio potencial de RvD1 en la integridad del epitelio salival, las cuales se llevan a cabo a través del receptor de Lipoxina A4/formilpéptido 2 (ALX/FPR2), el cual se demostró inicialmente en glándulas submandibulares de ratón y posteriormente en glándula salival menor humana de sujetos con y sin Síndrome de Sjögren. Además de la existencia del receptor, se demostró la presencia de la maquinaria biosintética de RvD1 como fosfolipasa A2 citosólica e independiente de calcio lipoxigenasa 5^{14,15,16}.

Resolvinas D1 y epitelio conjuntival

La conjuntiva es una membrana mucosa que incluye a la esclera y la superficie interna de los párpados. En este tejido epitelial se encuentran las células caliciformes, que producen mucina, la cual forma parte de la película lagrimal que funciona como barrera entre el ambiente y la superficie ocular. Esta barrera puede estar alterada en diversos procesos inflamatorios como síndrome de ojo seco, conjuntivitis alérgica e infecciosa, entre otras¹⁷. Dartt D y cols. observaron en cultivos de células caliciformes humanas y de ratón que la secreción de mucina estimulada por leucotrienos es reducida por resolvinas D1 y E1. La secreción de mucina es bloqueada a través de la prevención del incremento de $[Ca^{2+}]_i$ y activación de la vía ERK1/2¹⁸. Sin embargo cuando la secreción no es estimulada, las células caliciformes incrementan la secreción de mucina cuando se estimulan con resolvinas D1, a través del receptor ALX/FPR2, ahora incrementando $[Ca^{2+}]_i$ sugiriendo que estas resolvinas preservan la capa mucosa y mantienen la homeostasis para proteger el ojo del stress disecante, alérgenos y patógenos¹⁹.

Estos hallazgos sugieren el potencial terapéutico de las resolvinas derivadas de ω -3 en pacientes con Síndrome de Sjögren.

Ácidos grasos ω -3 en ojo seco y Síndrome de Sjögren

En pacientes con síndrome de ojo seco se ha encontrado un incremento en la concentración de citocinas proinflamatorias. La inflamación de la glándula lacrimal, la glándula de Meibomio y la superficie ocular juegan un rol significativo en el síndrome de ojo seco. Por otra parte, en el SSP existe inflamación linfocítica crónica que culmina en la disfunción y destrucción de las glándulas salivales y lacrimales principalmente. Investigaciones recientes han demostrado que la ingesta de ácidos grasos ω -3 en la dieta, y la relación de su consumo con la de ácidos grasos ω -6, afecta la actividad inflamatoria en el organismo²⁰.

En el estudio “Women’s Health Study” (WHS) se evaluaron los beneficios y riesgos de la aspirina a dosis baja y de la vitamina E en la prevención de enfermedad cardiovascular y cáncer en 39876 mujeres. De éstas, solo 32470 entre 45-84 años de edad contaban con información de su dieta, la cual se obtuvo a través de un cuestionario de frecuencia de alimentos semicuantitativo. Mediante este cuestionario se encontró una ingesta promedio de 1.4 gr de ω -3. Se observó que el riesgo de ojo seco se incrementó a menor consumo de ω -3, la RM del cuartil más alto vs el más bajo fue de RM 0.83 (IC 95% 0.70- 0.98; $p=0.05$). Una relación más alta de consumo de ω -6/ ω -3 se asoció con un riesgo incrementado de síndrome de ojo seco (RM 2.51, IC 95% 1.13-5.58 , $p= 0.01$). Estos resultados mostraron que una ingesta alta de ácidos grasos ω -3 se asocia con la disminución de la incidencia de síndrome de ojo seco en mujeres²¹.

En el caso de SSP Oxholm y cols, evaluaron 41 pacientes y compararon los niveles de ácidos grasos de la membrana del eritrocito, así como fosfolípidos, triglicéridos y ésteres de colesterol en plasma con algunos marcadores serológicos y clínicos. Los autores encontraron que los niveles de ácido docosahexaenoico correlacionaron inversamente con el estatus global de enfermedad, los niveles de ácido dihomogammalinoleico y ácido eicosapentanoico correlacionaron inversamente con los niveles de FR IgM ($r = -0.33$) y anti-SSA/Ro ($r = -0.40$) respectivamente; a su vez, el anti-SSA/Ro correlacionó con los niveles de AA ($r = -0.34$ a -0.40)²². Aragona y cols. evaluaron el efecto de la suplementación oral con ω -6 en la concentración de prostaglandina E1 en lágrimas de pacientes con SSP. En este estudio, 20 pacientes fueron tratados por 1 mes con ácido linoleico (AL) y ácido γ -linoleico (AGL) administrado 2 veces por día, comparado contra placebo, con evaluaciones basal (T0), al mes de tratamiento (T1) y 15 días posterior a la suspensión del mismo (T2). Se encontraron niveles más altos de PGE1 en lágrimas posterior a la suplementación (T0 44 ± 5.4 ng/ml; T1 58.3 ± 5.5 ng/ml, $p < 0.01$), los cuales se redujeron posterior a la suspensión de tratamiento (T2 45.7 ± 5.2 ng/ml, $p < 0.01$)²³.

En 2014 se publicó un meta-análisis de los estudios experimentales de terapia con ácidos grasos ω -3 para síndrome de ojo seco, en el que se observó una mejoría en la prueba de Schirmer y la secreción lagrimal, sugiriendo que la suplementación con omega 3 ofrece beneficio terapéutico en pacientes con síndrome de ojo seco²⁴.

Recientemente, el grupo de estudio de evaluación y manejo de ojo seco realizaron un ensayo clínico controlado, doble ciego, en el que se incluyeron 535 pacientes

con síndrome de ojo seco de moderado a severo. En este estudio se asignaron 349 sujetos a recibir una dosis oral de 3000 mg de ácido eicosapentanoico y docosahexaenoico derivados de pescado y 186 recibieron cápsulas de aceite de oliva como placebo durante 12 meses. El resultado primario a evaluar fue la media de cambio del puntaje basal del OSDI (Ocular Surface Disease Index) y los desenlaces secundarios fueron el puntaje de tinción conjuntival (fluoresceína) y tinción corneal (lisamina), la prueba de Schirmer I y el tiempo de ruptura. La media de cambio en el puntaje de OSDI no fue significativa (media de diferencia de -1.9 p=0.21). Tampoco se observaron diferencias significativas en el resto de las variables ²⁵. Sin embargo, es importante comentar, que en este estudio no se evaluaron exclusivamente a pacientes con SSP.

En lo que respecta en xerostomía en pacientes con SSP y su relación con ácidos ω -3, Singh y cols llevaron a cabo un estudio piloto para evaluar si la suplementación con omega 3 y vitamina E mejoraba los síntomas por boca seca, la secreción de saliva y reducía la inflamación a nivel gingival comparado con la suplementación con aceite de germen de trigo. Los autores evaluaron 61 pacientes con síntomas de boca seca mediante una escala visual análoga y flujo salival estimulado (FSE) y no estimulado (FSNE). No se encontró mejoría estadísticamente significativa en ninguno de los desenlaces a 3 meses de tratamiento²⁶.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El Síndrome de Sjögren se caracteriza principalmente por afección glandular, generando principalmente síntomas de ojo y boca seca, aunque también puede

tener afección sistémica. Asimismo, se ha demostrado que los síntomas sicca tienen una repercusión negativa en la calidad de vida de los pacientes.

Los ácidos grasos ω -3 y ω -6 han sido extensamente evaluados con relación al riesgo cardiovascular y su participación en la respuesta inflamatoria en otras enfermedades. Algunos estudios han sugerido que el consumo de AG ω -3 se asocia con menor frecuencia de síndrome de ojo seco y en un solo estudio se demostró correlación entre algunos marcadores inmunológicos con niveles de AG ω -3.

Sin embargo, la gran mayoría de estudios previos no han sido específicamente desarrollados para pacientes con SSP, e incluso los resultados de los mismos han sido controversiales.

Por lo anterior, el presente proyecto tiene la finalidad de realizar una evaluación del consumo y niveles séricos de ω -3 y ω -6 en pacientes con SSP, cuyos resultados se correlacionarán con la presencia de síntomas oculares/orales, FSNE, prueba de Schirmer, pruebas de tinción ocular, índices clinimétricos como el ESSDAI²⁷ (índice validado para actividad de la enfermedad), SSDDI²⁸ (índice validado para daño acumulado), y ESSPRI²⁹ (índice validado para síntomas: sicca, fatiga y dolor).

Por lo anterior y al existir escasa información al respecto, la evaluación de estos aspectos resulta relevante y una herramienta adicional en pacientes con SSP.

HIPÓTESIS

Existe correlación inversa entre niveles séricos de ácidos grasos ω -3 con actividad de la enfermedad y niveles de interleucinas/quimiocinas inflamatorias en pacientes con SSP.

OBJETIVO GENERAL

Correlacionar niveles séricos de ácidos grasos omega ω -3 y ω -6 con variables clínicas, síntomas, actividad de la enfermedad y un panel de quimiocinas e interleucinas inflamatorias en saliva y lágrima de pacientes con SSP.

Objetivos específicos

1. Correlacionar el consumo -por cuestionario- de ácidos grasos ω -3 y ω -6 con los niveles séricos de los mismos medidos mediante cromatografía de gases.
2. Correlacionar los niveles séricos de ω -3, ω -6 y la relación ω -6/ ω -3, los índices clinimétricos ESSDAI, ESSDAI acumulado, SSDDI, ESSPRI y OSDI.
3. Correlacionar los niveles séricos de ω -3, ω -6 y la relación ω -6/ ω -3 con las pruebas de Schirmer I, índices de tinción ocular (van Bijsterveld y OSS), menisco lagrimal, tiempo de ruptura y FSNE.
4. Correlacionar los niveles séricos de ω -3, ω -6 y la relación ω -6/ ω -3 con niveles en saliva de CXCL8, CXCL10, CCL2, IL-21, IL-22 y niveles en lágrima de CXCL8, CXCL10, CCL2 y CXCL9.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Se trata de un estudio transversal en el que se evaluaron 108 pacientes con diagnóstico de SSP según criterios ACR/EULAR³⁰.

Estos pacientes atienden regularmente la consulta de Reumatología de un centro de tercer nivel de atención. A los participantes se les solicitó estar en ayuno (alimentos o bebidas), no haber fumado, consumido chicle o haber tenido un procedimiento de higiene oral por lo menos 1 hora antes. El estudio se llevó a cabo en un cuarto cerrado sin aire acondicionado o calefacción entre las 8 y las 11 am. La presencia de manifestaciones extraglandulares fueron registradas de la información obtenida del expediente médico y al momento de entrevistar al paciente. Los pacientes fueron entrevistados por un reumatólogo utilizando un formato estandarizado sobre datos demográficos y medicamentos. Se realizó exploración física completa.

Pruebas oculares

Un médico oftalmólogo especialista en ojo seco realizó todas las valoraciones oftalmológicas durante la mañana. Se evaluó prueba de Schirmer-I³¹ y tinción ocular tanto como por el puntaje de van Bijsterveld³² y el puntaje de OSS³³

a) *Prueba de Schirmer-I*³¹

Se realizó mediante tiras estériles estandarizadas en la medición de lágrima (Tear Flo, Rose Stone Enterprise, Alta Loma, CA, USA). Se consideró anormal un valor ≤ 5 mm en 5 min. Las tiras reactivas fueron posteriormente congeladas a -80°C hasta su procesamiento.

b) *Tinción con colorantes vitales*

Se utilizó fluoresceína y verde lisamina para la evaluación de queratoconjuntivitis sicca, según correspondiera a cada una de las escalas evaluadas (van Bijsterveld u OSS)^{32,33}. Se consideró positiva la escala de van Bijsterveld al obtener una puntuación ≥ 4 al menos en un ojo, y la escala de OSS a una puntuación ≥ 5 al menos en un ojo.

c) *Tiempo de ruptura*³⁴

Consiste en instilar fluoresceína al 1% en el fornix inferior de ambos ojos para permitir la visualización de la película lagrimal y medir el tiempo que esta tarda en romperse desde el último parpadeo. Se considera positivo un tiempo de ruptura de menos de 10 segundos.

d) *Medición del menisco lagrimal*³⁴

Se midió utilizando lámpara de hendidura. Se considera normal valores entre 0.1 y 0.3 mm.

Pruebas orales

a) *Flujo salival no estimulado*³⁵

La saliva se colectó por 15 minutos por el método directo y el volumen se expresó en mL por 15 minutos. Posteriormente las muestras fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento.

Evaluación actividad y cronicidad de SS

Se calificó la actividad de la enfermedad mediante el instrumento ESSDAI²⁷, instrumento validado el cual evalúa 12 dominios (constitucional, linfadenopatía, glandular, articular, cutáneo, pulmonar, renal, muscular, sistema nervioso periférico, sistema nervioso central, hematológico y biológico). A mayor puntuación, mayor actividad. También se calificó el ESSDAI acumulado³⁶ hasta la fecha de la última cita y el índice de daño (SSDDI)²⁸. Este último es un índice validado cuya máxima puntuación es 16 (a mayor puntuación mayor daño), e incluye los siguientes dominios: oral, ocular, neurológico, pleuropulmonar, renal y linfoproliferativo.

Evaluación de síntomas

a) ESSPRI²⁹

Índice reportado por el paciente para medir los tres principales síntomas de los pacientes con SS: resequedad, dolor articular o muscular y fatiga. Cada componente del ESSPRI es medido por una escala numérica del 0-10, y el promedio de las 3 es el resultado del índice. A mayor puntuación más sintomatología.

b) OSDI (Índice de enfermedad de la superficie ocular)³⁷

Consta de 12 preguntas que analizan la presencia de síntomas y el impacto de la enfermedad en la función visual y en la vida diaria. Estos 12 ítems están graduados en una escala de 0 a 4, correspondiendo 0 a “Nunca” y 4 a “Siempre”. Posterior a la aplicación de una fórmula se obtiene el puntaje final, la cual se presenta en una escala de 0 a 100, donde valores elevados se correlacionan con una mayor discapacidad.

Encuesta de alimentos

Se realizó un cuestionario estandarizado de recordatorio de alimentos de 24 hrs³⁸, el cual fue explicado en detalle previo a su realización por personal entrenado (Anexo 2). Posteriormente el cuestionario se analizó mediante el software Food Processor Nutrition Analysis® para determinar un estimado de consumo de AG ω -3 y ω -6.

Muestras de sangre

Se obtuvo sangre periférica por venopunción. Las muestras séricas posteriormente se congelaron a -80°C hasta su procesamiento.

a) Medición de ácidos ω -3 y ω -6 séricos

Se descongeló una alícuota de suero de 0.5 mL, inicialmente se realizó hidrólisis con lipasa bovina con base a técnica estandarizada. Posteriormente se realizó extracción de los lípidos por la técnica de Folch para posteriormente ser derivatizados. La derivatización se llevó a cabo con metanol, ácido sulfúrico metanólico y tolueno por 2 horas a 90°C . Los AG medidos fueron ácido linoleico (AL), ácido araquidónico (AA), ácido linolénico (ALN), ácido eicosa pentanoico (AEP) y ácido docosahexaenoico (ADH).

La medición de los mismos se realizó mediante cromatografía de gas (Agilent 6850; Agilent, Santa Clara, CA, USA) con un detector de flama ionizado (Agilent), utilizando una columna capilar HP-1 (J&W Scientific, Albany, CA, USA).

Determinación de quimiocinas y citocinas

La medición de CXCL8, CXCL10, CCL2, IL-21, IL-22 en saliva y la medición de CXCL8, CXCL10, CCL2 y CXCL9 en lágrimas, se realizó por luminometría de acuerdo a las recomendaciones pre-establecidas (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Tamaño de la muestra

Para el cálculo de tamaño de muestra se utilizó la fórmula para correlación de Pearson, para un nivel de alfa de 95% y un poder estadístico de 80%, con una correlación esperada de al menos 0.3 con un planteamiento bilateral.

Se eligió esta correlación ya que fue la correlación mínima reportada en un estudio previo²² para AG ω -3 sérico.

Con el cálculo anterior se obtuvo una muestra de 84 pacientes.

$$N = \frac{Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}}{\frac{1}{2} \ln(1+r/1-r)}^2 + 3$$

$$Z_{1-\alpha} = 1.96$$

$$Z_{1-\beta} = 0.84$$

$$r = 0.3$$

$$n = 84 \text{ pacientes}$$

Criterios de inclusión

1. Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad.
2. Con diagnóstico de Síndrome de Sjögren primario con base a criterios de clasificación ACR/EULAR.
3. Aceptaron participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios exclusión

1. Pacientes con SS y otra enfermedad autoinmune concomitante.
2. Pacientes o controles con suplementación oral con AG ω -3 y/o ω -6 en los 3 meses previos.

Criterios eliminación

1. Muestras de saliva contaminadas con bilé o sangre
2. Muestras de lágrima con rimel

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable independiente

- Niveles séricos de AG ω -3, ω -6 y la relación ω -6/ ω -3. Medidas en una escala numérica.

Variables dependientes

- Consumo de AG ω -3 y ω -6 por cuestionario de alimentos. Medidos en escala numérica, además de porcentaje del consumo recomendado en base a edad, peso y talla.
- Flujo salival no estimulado, prueba de Schirmer I, tinciones oculares, ruptura lagrimal, menisco lagrimal.
- Actividad de la enfermedad medido por ESSDAI, ESSDAI acumulado y daño acumulado por SSDDI.
- Síntomas evaluados por ESSPRI y OSDI.

- Niveles de CXCL8, CXCL10, CCL2, IL-21, IL-22 en saliva y de CXCL8, CXCL10, CCL2 y CXCL9 en lágrimas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó estadística descriptiva de acuerdo a las características de cada variable. Para comparación entre grupos se utilizó la prueba de prueba de Kruskal-Wallis. Se empleó coeficiente de correlación de Spearman. Se consideró como significativo un valor de $p < 0.05$. Se utilizó el software SPSS 22.

RESULTADOS

En el presente estudio se incluyeron un total de 108 pacientes con SSP, quienes contaban con cuestionario de alimentos y muestras séricas. No obstante, en nueve pacientes al procesar las muestras no se contó con determinación sérica de al menos un AG omega, por lo que se excluyeron del análisis final.

La edad media de los pacientes incluidos fue 56.1 años, 94.9% eran mujeres, con una mediana de evolución de la enfermedad de 10 años (RI 5-16). Ochenta y dos pacientes (82.8%) fueron positivos para anti-SSA/Ro y 51 para anti-SSB/La. La mayoría presentaba ojo (98%) y boca seca (99%) y se observó crecimiento parotídeo en 37 (37.4%). Setenta y ocho pacientes (78.8%) habían presentado durante su evolución alguna manifestación extraglandular; siendo la principal afección a nivel articular en un 41.4%, seguido de afección hematológica en 29.3%, neurológica en 15.2% y renal en 10.1%. La Tabla 1 muestra el resto de las características clínicas y serológicas de estos pacientes.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y SEROLÓGICAS BASALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

VARIABLES CLÍNICAS	SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMARIO (SSP) N= 99 n(%)
Edad — años \pm DE [†]	56.12 \pm 13.65
Mujeres	94 (94.9)
Evolución de SSP — años *	10 (5-16)
IMC	24.3 (22.4-27.5)
Anti-Ro (+)	82 (82.8)
Anti-La (+)	51 (51.5)
ANAs (+)	77 (77.8)
C3 bajo	9 (9.1)
C4 bajo	22 (22.2)
FR (+)	63 (63.6)
Globulinas [†]	3.9 \pm 1.3
Xeroftalmía	97 (98)
Xerostomía	98 (98.9)
Crecimiento parotídeo	37 (37.4)
Linfadenopatías	20 (20.2)
Manifestaciones extraglandulares	78 (78.8)
Artritis	41 (41.4)
Afección hematológica	29 (29.3)
Afección neurológica	18 (18.2)
Fenómeno de Raynaud	15 (15.2)
Vasculitis	13 (13.1)
Afección renal	10 (10.1)
Afección pulmonar	8 (8.1)
Linfoma	3 (3.0)
Colangitis autoinmune primaria	8 (8.1)
Hepatitis autoinmune	9 (9.1)

*Valores representados como mediana y rango intercuartilar. † Valores representados como medias \pm Desviación estándar. **ANAs**: Anticuerpos Antinucleares por IFI. **(+)**: presencia de la variable.

Evaluación de signos de ojo y boca seca

La medición del FSNE se realizó en todos los pacientes, y la exploración oftalmológica en 38 pacientes elegidos aleatoriamente. La mediana de flujo salival no estimulada fue de 0.1 ml en 5 min (RI 0 – 0.5); mientras que la mediana en la prueba de Schirmer de 2.0 mm en 5 min (1 – 5).

La Tabla 2 muestra los resultados del resto de las evaluaciones oftalmológicas, donde se observó que fue evidente la presencia de queratoconjuntivitis sicca en 73.3% de los pacientes de acuerdo a la puntuación de Van Bijsterveld y 65.8% de acuerdo al índice OSS.

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS Clínicas OBJETIVAS DE PACIENTES CON SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO.

VARIABLES	SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Mediana (RI)
Flujo salival no estimulado en ml en 15 min.	0.1 (.0 – 0.5)
EVALUACION OFTALMOLÓGICA	
Schirmer OD en mm	2.0 (1 – 5.0)
Schirmer OI en mm	2.0 (1 – 5.0)
Schirmer promedio en mm	2.0 (1 – 5)
Puntuación Van Bijsterveld OD	5.0 (3.0 – 6.0)
Puntuación Van Bijsterveld OI	5 (2.5 – 6)
Puntuación Van Bijsterveld promedio	5.0 (3 – 5.6)
Positividad tinción Van Bijsterveld n (%)	28/38 (73.7)
Puntuación OSS OD	6.0 (4 – 8)
Puntuación OSS OI	5.0 (3 – 8)
Puntuación OSS promedio	5.5 (3.37 – 7.5)
Positividad OSS n (%)	25/38 (65.8)
Tiempo de ruptura lagrimal OD en Seg	6.0 (6 – 8)
Tiempo de ruptura lagrimal OI en Seg	6.0 (6 – 7)
Menisco lagrimal OD en mm	1.5 (1 – 2)
Menisco lagrimal OI en mm	1.5 (1 – 2)
Puntuación OSDI	58.7 (39.7 – 73.4)

Actividad y cronicidad de la enfermedad

Con relación a las escalas de actividad de la enfermedad y síntomas, se encontró una mediana de puntuación del ESSDAI de 2 (RI 0-2) al momento de la evaluación, ESSDAI acumulado de 7.5 puntos (RI 3.25-13) a lo largo del seguimiento, y una mediana de puntuación de SSDDI de 3 (RI 2-4).

En la Tabla 3, se muestra la distribución de los diferentes dominios del ESSDAI al momento de la evaluación.

TABLA 3. ÍNDICES DE ACTIVIDAD Y CRONICIDAD EN SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO.

VARIABLES	SINDROME DE SJÖGREN PRIMARIO Mediana (RI)
INDICES DE ACTIVIDAD Y CRONICIDAD	
ESSPRI	6.4 (5 – 8)
ESSDAI	2.0 (.0 – 2.0)
ESSDAI acumulado	7.5 (3.25 – 13)
SDDI	3.0 (2 – 4)
DOMINIOS DE ESSDAI	
	n(%)
Constitucional	0
Linfadenopatía	5 (5.1)
Glandular	4 (4)
Articular	44 (44.4)
Cutáneo	0
Pulmonar	0
Renal	2 (2)
Sistema nervioso periférico	0
Sistema nervioso central	0
Hematológico	8 (8.1)
Biológico	28 (28.3)

Evaluación de síntomas

La mediana de la escala ESSPRI para la evaluación de síntomas (resequedad, dolor y fatiga) fue de 6.4 puntos (RI 5-8). La mediana de puntuación en el cuestionario OSDI fue de 58.7 puntos.

Consumo estimado de AG ω

En base a los resultados del cuestionario de alimentos, se observó un consumo bajo de ω -3 y ω -6. En el caso de ω -3 la estimación fue de 0.43 gr (RI 0.2-0.7), 81 pacientes consumieron solo el 50% de la recomendación por día, solo 18 consumieron más de esta cifra (Tabla 4).

Por otra parte, para ω -6 se calculó un consumo de 3.0 gr (RI 1.6-5.9), 88 pacientes consumieron menos del 50% de su recomendación diaria. La relación de consumo omega 6/3 fue de 7:1 (Tabla 4).

TABLA 4. CONSUMO ESTIMADO DE LÍPIDOS Y ÁCIDOS GRASOS OMEGA.

VARIABLE	SSP N= 99 Mediana (RI)
Consumo estimado de lípidos:	
Grasas __ gr	68.2 (42.8 - 105.2)
<i>% de recomendación</i>	124.2 (82.6 - 171)
Grasas saturadas __ gr	24.6 (14.4 - 35.8)
<i>% de recomendación</i>	135.5 (86.2 - 189.3)
Grasas monosaturadas __ gr	9 (5 - 15.8)
<i>% de recomendación</i>	42.32 (27 - 80.3)
Grasas poliinsaturadas __ gr	3.9 (2.18 - 7.7)
<i>% de recomendación</i>	23.8 (12.3 - 41-2)
Grasas trans __ mg	1 (0.37-1.7)
Colesterol __ mg	177.7 (110.5 - 310.6)
<i>% de recomendación</i>	60 (36.87 - 103.5)
Consumo estimado de ácidos grasos omega	
	Estimación
Omega 3 _ gr.	0.43 (0.2 - 0.7)
<i>Mediana de consumo según recomendación (%)</i>	25.3 (10.9 - 38.6)
Omega 6 _ gr.	3.0 (1.6 - 5.9)
<i>Mediana de consumo según recomendación (%)</i>	20.1 (10.06 - 34.2)

Niveles séricos de AG ω -3 y ω -6

La Tabla 5 muestra los resultados de las mediciones de los AG ω -3 y ω -6 en los sueros de pacientes. No fue posible la determinación del ácido eicosapentanoico en la mayoría de las muestras.

TABLA 5. NIVELES SÉRICOS DE ÁCIDOS GRASOS OMEGA

Ácidos grasos omega	Niveles séricos en μg/ml
Ácido linolénico (ALN)	6.6 (4.3 - 12.3)
Ácido docosahexaenoico (ADH)	26 (16.7 - 36.3)
Ácido linoleico (AL)	168.5 (89.4 - 287.7)
Ácido araquidónico (AA)	34 (24.2 - 50)
Omega 3 (ALN + ADH)	25.4 (18.4 - 41)
Omega 6 (AL + AA)	205.4 (121.6 - 338.6)
Relación Omega 6/omega 3	8:1
Relación ADH/AA.	0.8 (0.44 - 1.1)

No se encontró correlación estadísticamente significativa entre el consumo estimado de omegas y sus niveles séricos (Tabla 6).

TABLA 6. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN ENTRE CONSUMO ESTIMADO DE OMEGAS Y SUS NIVELES SÉRICOS.

CONSUMO		ALN	ADH	ALN+ADH
Omega 3	Coeficiente	0.01	0.07	0.12
	Valor p	0.93	0.58	0.25
		AL	AA	AL+AA
Omega 6	Coeficiente	-0.07	-0.13	-0.08
	Valor p	0.43	0.18	0.43

No obstante, sí observamos una tendencia que a mayor consumo estimado de omegas el nivel sérico tiende a ser mayor aunque no se logra demostrar diferencia estadística. Tabla 7.

TABLA 7. CONSUMO DE OMEGAS Y DISTRIBUCIÓN DE SUS NIVELES SÉRICOS EN BASE A LA ESTIMACIÓN.

$\omega 3^\dagger$	$\leq 25\%$ n= 49	26 a 50% n= 32	51 a 75% n= 8	$\geq 75\%$ n= 10	Valor de P \ddagger
Omega 3 (gr)*	.2 (.14-.28)	.54 (.48-.69)	1.01 (.9-1.4)	1.79 (1.6-2.2)	<.0001
LNL sérico	6.7 (3.7-11.3)	6.5 (4.4-15.4)	4.1 (3.2-11.2)	9.2 (3.8-24.2)	.55
ADH sérico	21.7 (16.3-33.8)	25.8 (16.6-36.3)	21.4 (14.7-36.5)	30.5 (21.3-35.7)	.71
LNL + ADH sérico.	24.5 (14.8-35.5)	28.2 (17.5-46.4)	23.3 (19.5-38.4)	29.6 (22.8-47.3)	.59
$\omega 6^\dagger$	$\leq 25\%$ n= 59	26 a 50% n= 29	51 a 75% n= 7	$\geq 75\%$ n= 4	
Omega 6 (gr)*	1.82 (.9-2.6)	5.7 (4.6-7)	9.6 (7.5-10.8)	13 (8.2-14.5)	<.0001
LN sérico	184.3 (111-270.2)	131.3 (83-296.9)	154.2 (56.6-377.4)	265 (103.5-378.8)	.69
AA sérico	34.8 (26-51)	26.9 (22.9-41.9)	30.9 (21.7-49.3)	46.8 (27.5-57.9)	.34
LN + AA sérico	224.5 (151.6-311.7)	158.2 (105.4-345.9)	181.4 (78.3-412.2)	313.6 (131-435)	.65

\dagger Porcentaje alcanzado según su recomendación, siendo el 100% 2 gr de omega 3 y 10 gr de omega 6. *Consumo estimado por cuestionario. \ddagger Valor de P obtenido por prueba de Kruskal-Wallis.

Ácidos grasos omega y correlación con síntomas y signos sicca

La Tabla 8 muestra los resultados de las correlaciones entre las evaluaciones objetivas de ojo y boca seca y los diferentes AG ω -3 y ω -6. Como se puede observar, no encontramos ninguna correlación entre los niveles de AG ω y la escala de Van Bijsterveld ni tampoco con la escala OSS. Tampoco hubo correlación significativa con el FSNE. De igual forma, no hubo correlación con la puntuación del cuestionar ESSPRI con ninguno de los ácidos grasos ω -3 ni ω -6.

Por otra parte, la puntuación del cuestionario de enfermedad de superficie ocular (OSDI) correlacionó de manera negativa con los niveles séricos de ácido linolénico (ρ =-0.420, p =.019). El resto de ácidos grasos omega, la suma de ω -3 y ω -6, la relación omega 6/3 y ADH/AA no correlacionaron con ninguna de las variables clinimétricas oculares (Tabla 8).

TABLA 8. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES CLINIMÉTRICAS Y ÁCIDOS GRASOS OMEGA.

VARIABLES	LNL	ADH	LN	AA	LNL+ADH (ω 3)	LN+AA (ω 6)	6/3	ADH/AA
ESSDAI								
Coefficiente ρ^*	-0.22	-0.30	-0.11	0.05	-0.21	-0.11	0.04	-0.06
Valor de P	0.03	0.01	0.24	0.61	0.04	0.24	0.69	0.61
ESSDAI acum.	-0.03	-0.25	-0.03	-0.05	-0.17	-0.04	-0.04	-0.03
	0.73	0.05	0.74	0.62	0.10	0.69	0.70	0.80
Cronicidad	-0.10	-0.12	-0.06	-0.12	-0.11	-0.07	0.05	-0.18
	0.34	0.33	0.50	0.23	0.26	0.45	0.63	0.14
ESSPRI	-0.05	-0.01	-0.04	-0.01	-0.08	-0.03	0.04	0.02
	0.59	0.93	0.69	0.88	0.41	0.77	0.70	0.85
FSNE	-0.05	-0.01	-0.0006	0.01	-0.11	-0.004	0.14	-0.06
	0.62	0.89	0.95	0.89	0.26	0.97	0.18	0.59
Van Bijsterveld	-0.18	-0.12	-0.003	0.31	0.03	0.03	-0.01	-0.08
	0.32	0.59	0.98	0.05	0.84	0.84	0.92	0.65
OSS	-0.14	-0.10	0.05	0.26	0.17	0.06	0.05	0.01
	0.45	0.63	0.74	0.10	0.32	0.70	0.77	0.96
Schirmer	0.09	0.22	0.12	0.14	0.07	0.12	-0.01	0.09
	0.38	0.07	0.22	0.15	0.45	0.22	0.90	0.46
OSDI								

	-0.42	0.10	-0.28	-0.03	-0.11	-0.25	-0.10	0.13
	0.01	0.65	0.08	0.82	0.53	0.12	0.55	0.55

*Coeficiente Ro de Spearman fila superior. valor de P fila inferior. **ESSDAI**: The EULAR Sjögren's Syndrome Disease activity index. **ESSPRI**: The EULAR Sjögren's Syndrome Patient Reporter Index. **FSNE**: Flujo Salival No Estimulado en 15 minutos. **Van Bijsterveld**: Tinción ocular con fluoresceína, se considera positiva una puntuación ≥ 4 . **OSS**: Ocular Staining Score. **OSDI**: Ocular Surface Disease Index.

Ácidos grasos omega y correlación actividad de la enfermedad

Se encontró correlación negativa entre actividad de la enfermedad medido por ESSDAI y niveles de ácido linolénico ($\rho=-0.22$, $p=0.03$), ácido docosahexaenoico ($\rho=-0.3$, $p=0.01$) y niveles de ω -3 total ($\rho=-0.21$, $p=0.05$). No se encontró correlación significativa con ESSDAI acumulado ni con el SSDDI. Tampoco hubo correlación con los niveles de omega 6 (Tabla 8).

Cuando se evaluó grado de actividad mediante ESSDAI, la distribución entre ausencia de actividad (ESSDAI 0), baja actividad (ESSDAI 1-4), moderada y alta actividad (ESSDAI ≥ 5) se observó diferencia significativa en la suma de ω -3, observándose niveles séricos más bajos en el grupo con ESSDAI ≥ 5 (Tabla 9. Figura 1 y 2).

TABLA 9. ESSDAI ESTRATIFICADO Y DISTRIBUCIÓN DE LOS NIVELES DE AG ω .

	ESSDAI 0 n= 35	ESSDAI 1-4 n= 58	ESSDAI 5 + n= 6	Valor de P*
Ac. Linolénico	7 (4.7-21.4)	6.7 (4.2-11.7)	3.7 (3.2-6.2)	0.08
Ac. Docosahexaenoico	32.5 (21.2-36.5)	22.94 (16.2-34.1)	16.9 (12.8-26.3)	0.14
Ac. Linoleico	184.3 (101.9-319)	166 (88.7-292.1)	102.7 (76.4-207.7)	0.26
Ac. Araquidónico	35 (24.4-51.7)	34.3 (24.2-49.4)	24.8 (21-30.9)	0.22
Omega 3 (ALN + ADH)	33.9 (22.6-44.7)	22.7 (14.8-35.3)	20.9 (18.6-29.7)	0.04
Omega 6 (AL + AA)	226.2 (121.6-370.7)	204.5 (120.3-342.3)	126.5 (99-238.6)	0.24
Omega 6/omega 3	7.4 (4-14)	8.7 (4.7-18)	4.9 (3.3-10)	0.30
ADH/AA	0.87 (0.4-1.4)	0.8 (0.44-1.1)	0.67 (0.5-1.3)	0.33

*Valor de P determinado por prueba de Kruskal-Wallis, $P < .05$ significativa.

Figura 1. Distribución de los niveles de ácido linolénico (ALN) y ácido docosahexaenoico (ADH) y ESSDAI estratificado

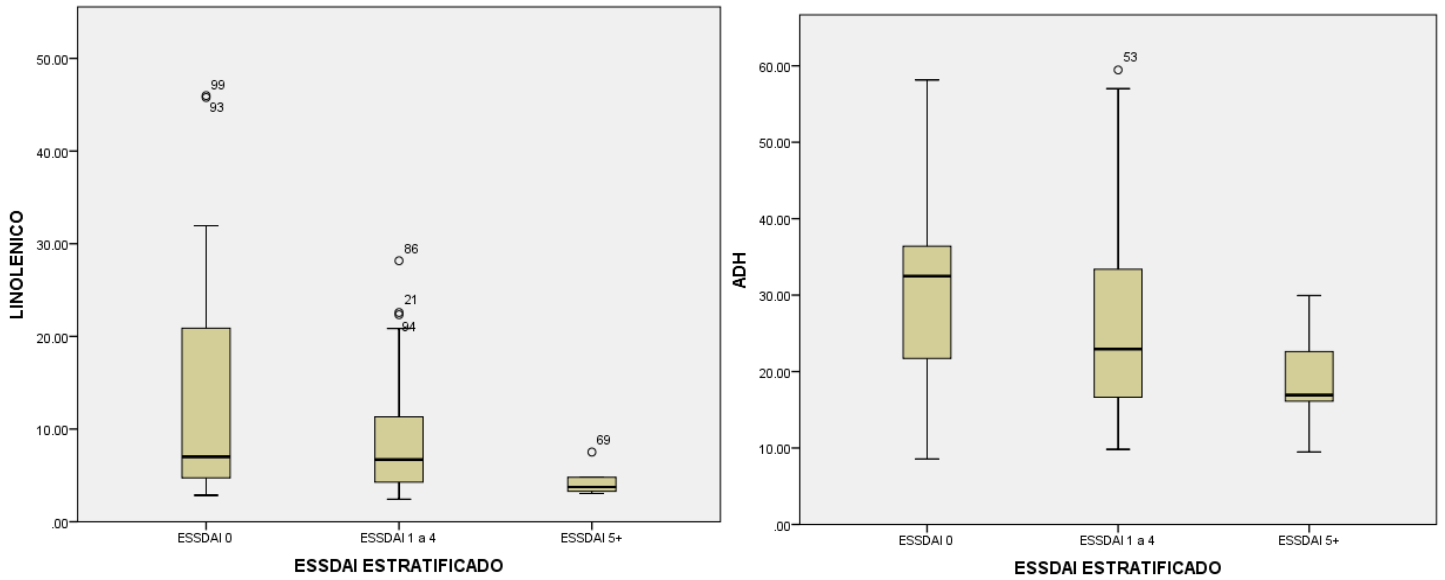
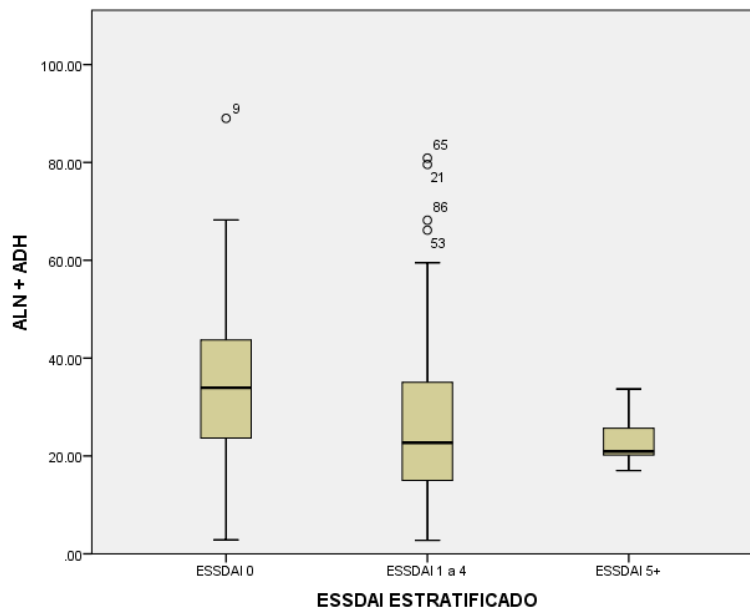


Figura 2. Distribución de los niveles de ALN+ADH y ESSDAI estratificado



Posteriormente se evaluaron los dominios del ESSDAI y su asociación con los niveles AG ω -3y ω -6. Dado que en algunos dominios su prevalencia fue nula o muy baja, el análisis se centró en el dominio articular, hematológico y en el biológico.

Observamos que los pacientes con presencia del dominio biológico (hipocomplementenemia, elevación de globulinas y/o IgG o crioglobulinas positivas) presentaron menores niveles de ácido linolénico (ω -3), la suma omega 3 y AA (ω -6). Mientras que los pacientes con presencia del dominio hematológico (en su totalidad pacientes con leucopenia y/o linfopenia) tenían mayores niveles de ácido linoleico (ω -6), ácido araquidónico (ω -6) y la suma de ω -6. No observamos diferencias en el dominio articular (Tabla 10).

TABLA 10 . DISTRIBUCIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE OMEGAS POR DOMINIO DE ESSDAI

VARIABLE	Dominio biológico	Dominio biológico	P
	Presente n= 28	Ausente n=71	
	Mediana (RI)	Mediana (RI)	
ALN	4.9 (3.7-8.3)	7.02 (4.5-17.9)	0.04
DHA	21 (14.8-28.3)	27.3 (17.7-36.6)	0.08
ALN + DHA	21.4 (15.6-32.8)	27.1 (19.5-43.3)	0.03
LN	143 (81.6-200.5)	178 (91.1-317.2)	0.10
AA	32 (22-36.9)	35.3 (25.7-51.7)	0.04
LN+AA	177 (104-241.8)	219.8 (127.6-377.8)	0.08
OMEGA 6/3	5.4 (4.4-20.7)	8.1 (4.5-13.4)	0.66
ADH/AA	0.8 (.65-1.1)	0.7 (.39-1.2)	0.63
	Dominio Hematológico Presente n= 8	Dominio Hematológico Ausente n=91	
ALN	4.9 (3.2-7)	6.7 (4.3-12.7)	0.21

DHA	16 (11.5-36.4)	26 (17.7-35.4)	0.21
LNL + DHA	20.3 (15.2-41.1)	25.7 (18.4-40.3)	0.37
LN	257.9 (190.3-375.5)	163.6 (85-273.7)	0.04
AA	50.5 (34-66.4)	32.5 (24-47.2)	0.03
LN+AA	303.1 (226.7-467)	200.5 (110-321.4)	0.04
OMEGA 6/3	13.1 (11.2-18)	6.9 (4.4-15)	0.04
ADH/AA	0.33 (.28-.62)	0.83 (.53-1.2)	0.008

	Dominio Articular Presente n= 44	Dominio Articular Ausente n= 55	
LNL	6.7 (4.3-12.2)	6.5 (3.8-15.5)	0.85
DHA	23.4 (17.7-32.9)	26 (15.9-36.3)	0.98
LNL + DHA	24.6 (17-35.5)	25.6 (19.2-41.6)	0.77
LN	142 (83.1-246.2)	193.2 (131.3-315.7)	0.15
AA	33.1 (23.9-43.3)	34.9 (24.4-51.7)	0.43
LN+AA	177 (107.5-284.5)	228.6 (154.4-370.6)	0.17
OMEGA 6/3	5.7 (4.3-11)	10.7 (4.5-16.7)	0.06
ADH/AA	0.83 (.6-1.2)	0.66 (.29-1.07)	0.12

*Determinada por prueba U de Mann-Whitney.

Ácidos grasos omega y correlación con quimiocinas/interleucinas en lágrima y saliva

En el subgrupo también aleatorio donde se incluyeron los pacientes con evaluaciones oftalmológicas, se determinaron niveles de CXCL8, CXCL10, CCL2, IL-22 e IL-21 en saliva. Se encontró correlación negativa entre niveles de CCL2 y

ALN ($\rho=-0.41$, $p=0.002$), ADH ($\rho=-0.31$, $p=0.03$) y $\omega-3$ (ALN+ADH: $\rho=-0.29$, $p=0.02$). En el caso de IL-21, la correlación fue también negativa para ALN ($\rho=-0.28$, $p=0.03$), LN ($\rho=-0.30$, $p=0.01$) y la suma $\omega-6$ (LN+AA: $\rho=-0.29$, $p=0.01$). Mientras que hubo correlación negativa con IL-22 y la relación $\omega-6:\omega-3$. El resto de quimiocinas/interleucinas no se correlacionaron con los niveles de omegas.

Por otra parte, también se midió los niveles CXCL8, CXCL10, CCL2, CXCL9 en lágrimas. Observamos una correlación positiva entre CXCL9 y niveles séricos AA ($\rho=0.48$, $p=0.04$), el resto de las correlaciones fueron no significativas (Tabla 11).

TABLA 11. CORRELACIÓN ENTRE ÁCIDOS GRASOS OMEGA Y QUIMIOCINAS/INTERLEUCINAS.

VARIABLES	LNL	ADH	LN	AA	LNL+ADH ($\omega 3$)	LN+AA ($\omega 6$)	6/3	ADH/AA
En saliva (n=64)								
CXCL8								
Coefficiente ρ^*	0.17	-0.04	0.03	0.02	-.005	0.01	0.11	-0.05
Valor de P	0.18	0.78	0.79	0.87	0.67	0.88	0.40	0.70
CXCL10								
	0.05	0.02	-.0004	-0.004	0.04	-0.001	-0.13	0.25
	0.69	0.87	0.97	0.97	0.72	0.99	0.30	0.08
CCL2								
	-0.41	-0.31	-0.21	-.02	-0.29	-0.21	0.06	0.02
	0.002	0.03	0.09	0.10	0.02	0.09	0.60	0.88
IL-22								
	0.07	-0.12	-0.30	-0.22	0.02	-0.32	-0.39	0.32
	0.73	0.62	0.09	0.21	0.91	0.07	0.04	0.06
IL-21								
	-0.28	-0.23	-0.30	-0.20	-0.04	-0.29	-0.23	0.13
	0.03	0.12	0.01	0.10	0.75	0.01	0.06	0.38

VARIABLES	LNL	ADH	LN	AA	LNL+ADH ($\omega 3$)	LN+AA ($\omega 6$)	6/3	ADH/AA
En lágrima n=18								

CXCL8								
Coefficiente ρ^*	0.21	0.09	-0.01	0.07	-0.02	-0.04	0.09	0.35
Valor de P	0.44	0.79	0.95	0.77	0.93	0.84	0.72	0.25
CXCL10								
	0.02	0.20	-0.10	-0.11	-0.020	-0.14	-0.02	0.05
	0.94	0.53	0.67	0.63	0.43	0.57	0.91	0.86
CXCL9								
	-0.26	-0.05	0.30	0.48	-0.16	0.27	0.02	-0.32
	0.34	0.87	0.21	0.04	0.53	0.27	0.26	0.29
CCL2								
	-0.10	0.23	0.18	0.25	-0.10	0.15	0.16	-0.22
	0.70	0.48	0.45	0.29	0.70	0.55	0.53	0.47

*Coeficientes de correlación R_o de Spearman fila superior. Valor de P, fila inferior. En negritas correlaciones significativas.

DISCUSIÓN

Los ácidos grasos poli-insaturados ω -3 y ω -6 son moléculas que se han asociado a procesos inflamatorios de diversas entidades nosológicas, incluyendo cáncer, enfermedad cardiovascular y enfermedades autoinmunes; asimismo, se reconoce también su papel como reguladores de la respuesta inmune. Los AG ω -6 son precursores de eicosanoides pro-inflamatorios, mientras que los AG ω -3 de eicosanoides, citocinas y resolvinas antiinflamatorias. El balance entre AG ω -3 y ω -6 en la membrana celular depende, en gran medida, de su ingesta diaria y el equilibrio entre ambos resulta en un estado pro-inflamatorio o antiinflamatorio ^{5,9}.

Poco se sabe sobre la participación de estos ácidos en la patogenia del SS, no obstante existen algunos estudios con resultados controvertidos, donde su suplementación pudiera tener impacto en la xerostomía y xeroftalmia de estos pacientes^{22,23,26,39-41}.

El primer objetivo de nuestro estudio fue determinar el consumo de ω -3 y ω -6 mediante un cuestionario de recordatorio de 1 día, instrumento validado en la evaluación alimentaria (38). Nuestros resultados mostraron que el consumo de ω -3 y ω -6 fue bajo, no obstante cabe mencionar que el software que utilizamos para el análisis tiene como referencia a población caucásica. Recientemente, Torres-Castillo y cols, evaluaron el consumo de AG ω -3 y ω -6 en 170 mexicanos con IMC $\geq 18.5 \text{ kg/m}^2$, utilizando un cuestionario de alimentos de recordatorio de 3 días. Los autores encontraron que el consumo tanto de ω -3 como de ω -6 fue mayor en hombres que en mujeres. El consumo promedio para ω -6 fue de 15.9 ± 10.7 gramos (en mujeres 14.2 ± 9.2 g), mientras que de ω -3 fue de 1.5 ± 0.9 gramos (en mujeres 1.3 ± 0.8 g), y se reportó una razón ω -6/ ω -3 de 14:1 (y en mujeres de 8:1)⁴². Comparando nuestros resultados con este estudio en población mexicana, corroboramos que el consumo tanto de AG ω -3 y ω -6 en los pacientes con SSP fue bajo, con una razón ω -6/ ω -3 similar (8:1).

Por otra parte, algunos estudios han demostrado correlación entre la dieta auto-reportada y los niveles séricos de estos AG⁴³. En nuestro estudio, no corroboramos este hallazgo, por lo que el resto del análisis lo basamos en los niveles séricos de AG ω -6 y ω -3.

Estudios previos también han descrito que la inflamación es un proceso clave en la patogénesis del Síndrome de ojo seco⁴⁴. No obstante, como se comentó con anterioridad, la suplementación de AG ω -6 y ω -3 para mejorar el ojo seco, es controversial. Así por ejemplo, en un meta-análisis que incluyó siete estudios aleatorizados de pacientes con ojo seco de diversas etiologías, la suplementación

con ω -3 y/o ω -6 ocasionó mejoría en la función lacrimal (prueba de Schirmer y tiempo de ruptura) ²⁴. De forma contraria, en un estudio aleatorizado que incluyó 349 pacientes también con ojo seco de diversas etiologías, y donde un grupo recibió suplementación con 3000 mg de ω -3 por 12 meses y otro placebo, no se observó diferencias en las puntuaciones de tinciones corneales, tinciones conjuntivales, tiempo de ruptura, prueba de Schirmer y en la puntuación OSDI²⁵. En este contexto, nuestro estudio tampoco documentó correlación entre los niveles séricos de AG ω -3 y ω -6 y la presencia de varias pruebas oftalmológicas para la evaluación de ojo seco.

Por otra parte, tampoco observamos una correlación con los niveles de AG ω -3 y ω -6 y la medición del FSNE. De forma similar, en un estudio piloto donde se suplementó AG ω -3 y vitamina E vs aceite de germen en pacientes con SS, no se observó mejoría en el flujo salival no estimulado y estimulado posterior a 3 meses de tratamiento²⁶.

Aunque no observamos una correlación entre la puntuación del ESSPRI y los niveles séricos de AG ω -3 y ω -6, si encontramos correlación negativa con el OSDI (cuestionario validado para la evaluación de síntomas oculares) y los niveles séricos de ácido linolénico (AG ω -3). Es decir, a mayor puntuación del OSDI (lo que indica peor sintomatología ocular), hay menores niveles de ácido linolénico.

Otro de nuestros hallazgos fue la correlación negativa entre niveles de ω -3 (ácido linolénico y ácido docosahexaenoico, así como la suma de ambos) y el índice ESSDAI. Observamos que a menores niveles de ω -3 séricos había mayor puntuación de actividad de la enfermedad. Al analizar por dominio del ESSDAI, esta

diferencia fue atribuida especialmente al dominio biológico, el cual se asoció a menores niveles de AG ω -3. Por otra parte los pacientes con actividad hematológica se asociaron a mayores niveles de AA (AG ω -6).

De forma similar, en su estudio Oxholm y colaboradores, utilizando una escala arbitraria para evaluar el grado de actividad de cada una de las manifestaciones glandulares y extraglandulares (Grado 0=ausencia de síntomas y estudios paraclínicos normales, Grado 1=enfermedad subclínica, Grado 2=actividad leve, Grado 3=actividad moderada, Grado 4=actividad grave) con un puntuación sumatoria posible total de 0-72, los autores encontraron una correlación negativa con los niveles de ácido docosahexaenoico (ω -3) y el puntaje de enfermedad clínica²².

Finalmente exploramos la correlación de algunas quimiocinas y citocinas implicadas en el proceso inflamatorio del SS, las cuales se han descrito presentes en las lágrimas y en saliva de estos pacientes⁴⁵. No encontramos correlación de ninguna de ellas y la medición del flujo salival, ni con los síntomas de resequead oral. No obstante, si observamos que la presencia de CCL2 correlacionó negativamente con el ácido linolénico, ácido docosahexaenoico, y la suma de ambos (suma ω -3). CCL2 actúa en el proceso inflamatorio al activar la migración de macrófagos y polarizar hacia una respuesta Th2⁴⁶. Previamente nuestro grupo de investigación, documentó elevación de esta quimiocina no solo en la saliva de pacientes con SSP, sino también en pacientes con enfermedades del tejido conectivo al compararlos contra controles sanos⁴⁵.

Por otra parte, un estudio previo reportó que la expresión de CXCL9, CXCL10, CXCL11 y CXCR3 se encuentra incrementada en las lágrimas y en la superficie ocular de pacientes con ojo seco, especialmente con SS, en comparación con controles sanos. No obstante, en ese estudio, solo CXCL11 correlacionó con varias pruebas para evaluar ojo seco⁴⁷. Estas quimiocinas del grupo CXC atraen células T y son inducidas por interferón gamma⁴⁸. En el presente trabajo no encontramos correlación con síntomas ni con pruebas de ojo seco y estas quimiocinas. Sin embargo, observamos una correlación positiva entre la concentración de CXCL9 en lágrima y los niveles séricos ácido araquidónico (ω -6).

La IL-21 mostró correlación negativa tanto con ácido linolénico (ω -3) como con la suma ω -6. Esta citocina tiene efectos regulatorios en las células del sistema inmune, incluyendo células T citotóxicas y foliculares⁴⁹. Por otra parte, la IL-22 es producida por diversas fuentes celulares que incluyen a las células Th17, células NK y células Th22. Su presencia se ha asociado a diversas enfermedades autoinmunes, y se le ha considerado como una citocina con funciones duales, ya que participa en la respuesta tanto inflamatoria como anti-inflamatoria⁵⁰. En este estudio, una mayor relación ω -6/ ω -3 correlacionó positivamente con esta citocina.

Reconocemos las siguientes limitaciones del presente estudio. La técnica empleada para la medición de los ácidos grasos omega fue la cromatografía de gases, técnica ampliamente utilizada previamente, pero que no permitió la detección de ácido eicosapentanoico en nuestros pacientes, posiblemente por presentar niveles muy bajos. No obstante, existen actualmente otros métodos con mayor sensibilidad para detectar concentraciones menores de AG, como lo es la cromatografía líquida con

espectrometría de masas. Por otra parte, el diseño del estudio fue transversal, por lo que no nos permite establecer causalidad. Desconocemos si existe variación en los niveles de ácidos grasos omega en diferentes momentos de la evolución de la enfermedad, y si estos cambian al modificarse el grado de actividad.

CONCLUSIÓN

Los pacientes con SS tienen un menor consumo de ácidos grasos ω -3 y ω -6 en su dieta al compararlos con población sana. Los pacientes con mayores niveles séricos de ω -3 tuvieron menor sintomatología ocular, menor actividad de la enfermedad evaluada por el índice clinimétrico ESSDAI y menor nivel de CCL2 en saliva. Los niveles de omega ω -6 no tuvieron repercusión en las variables clínicas o síntomas, pero si correlacionaron con la presencia de CXCL9 en lágrimas. Nuestro estudio sugiere que los bajos niveles de ω -3 en estos pacientes, participan en la perpetuación del estado de inflamación crónica.

REFERENCIAS

1. Hochberg M, Silman AJ, Smolen J. et al. Rheumatology. 6^a ed. Vol. 2. Elsevier Mosby. Philadelphia. 2015. pp 1131-1143.
2. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Kostov B, et al. Google-driven search for big data in autoimmune geoepidemiology: analysis of 394,827 patients with systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev.* 2015; 14(8):670–679.
3. Rodríguez Cruz M, Tovar A, del Prado M, Torres N. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Rev Invest Clin.* 2005; 57(3): 457-472.
4. Sprecher H. Long chain fatty acid metabolism. In: Polyunsaturated fatty acids in human nutrition. Bracco U, Deckelbaum RJ (ed). New York: Raven Press; 1992, p. 13-23.
5. Gogus U and Smith C. n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *Int J Food Science Technology.* 2010; 45: 417-436.
6. Trautwein, E.A. n-3 Fatty acids-physiological and technical aspects for their use in food. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2001; 103: 45–51.
7. Tapiero, H., Nguyen Ba, G., Couvreur, P. & Tew, K.D. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedical Pharmacotherapy,* 2002. 56(5): 215–222.
8. Faber J, Berkhout M, Vos AP et al. Supplementation with a fish oil-enriched, high-protein medical food leads to rapid incorporation of EPA into white blood

- cells and modulates immune responses within one week in healthy men and women. *J Nutr.* 2011; 141(5): 964–970.
9. Calder P. n-3 Fatty acids, inflammation and immunity: new mechanisms to explain old actions. *Proceedings Nutrition Society.* 2013; 72(3): 326-336.
 10. Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R et al. Differential effects of prostaglandin derived from w-6 and w-3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc Natl Acad Sci.* 2003; 100(4): 1751–1756.
 11. Mas E, Croft KD, Zahra P et al. Resolvins D1, D2, and other mediators of self-limited resolution of inflammation in human blood following n-3 fatty acid supplementation. *Clin Chem.* 2012; 58(10): 1476–1484.
 12. Serhan CN, Hong S, Gronert K et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter pro-inflammation signals. *J Exp Med.* 2002; 196(8): 1025–1037.
 13. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH et al. Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem.* 2001; 276(20): 16683–16689.
 14. Odusanwo O, Chinthamani S, McCall A, et al. Resolvin D1 prevents TNF- α -mediated disruption of salivary epithelial formation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012; 302(9): 1331–1345.
 15. Nelson J.W, Leigh N.J, Mellas R.E, et al. ALX/FPR2 receptor for RvD1 is expressed and functional in salivary glands. *Am J Physiol cell physiol.* 2014; 306(2): 178-185.

16. Leight N.J, Nelson J-W. Mellas R.E, et al. Expression of resolvins D1 biosynthetic pathways in salivary epithelium. *J Dent Res.* 2014; 93(3): 300-305.
17. Dartt DA, Masli S. Conjunctival epithelial and goblet cell function in chronic inflammation and ocular allergic inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2014;14(5):464–470.
18. Dartt D. A, Hodges R, Li D, et al. Conjunctival Goblet Cell Secretion Stimulated by Leukotrienes is reduced by resolvins D1 and E1 to promote resolution of inflammation. *J Immunol,* 2011; 186(7): 4455-4466.
19. Lippestad M, Hodges R, Utheim T, et al. Resolvin D1 increases mucin secretion in cultured rat conjunctival goblet cells via multiple signaling pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; 58: 4530-4544.
20. Liu Y, Kam W y Sullivan D.A. Influence of omega 3 y 6 fatty acids on human Meibomian gland epithelial cells. *Cornea.* 2016; 35(8): 1122-1126.
21. Miljanovic B, Trivedi K. Reza M, et al. Relation between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(4): 887-93.
22. Oxholm P, Asmussen K, Wiik A. et al. Essential fatty acid status in cell membranes and plasma of patients with primary Sjögren's Syndrome. Correlations to clinical and immunologic variables using a new model for classification and assessment of disease manifestations. Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids. 1998; 59(4): 239-245.

23. Aragona P, Bucolo C, Spinella R, et al. Systemic Omega-6 essential fatty acid treatment and PGE tear content in Sjögren's syndrome patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005; 46(12):4474-4479.
24. Liu A y Ji J. Omega-3 essential fatty acids therapy for dry eye syndrome: a meta-analysis of randomized controlled studies. *Med Sci Monit.* 2014; 20:1583-1589.
25. Asbell PA, Maguire MG, Pistilli M, et al. N-3 fatty acid supplementation for the treatment of dry eye disease. *N Engl J Med.* 2018; 378(18): 1681-1690.
26. Singh M, Stark P, Palmer C, et al. Effect of omega-3 and vitamin E supplementation on dry mouth in patients with Sjögren's syndrome. *Spec Care Dentist.* 2010; 30(6): 225-229.
27. Seror R, Ravaud P, Baron G et al. EULAR Sjögren syndrome disease activity index: development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(6): 1103-1109.
28. Vitali C, Palombi G, et al. Sjögren's Syndrome Disease Damage Index and disease activity index: scoring systems for the assessment of disease damage and disease activity in Sjögren's syndrome, derived from an analysis of a cohort of Italian patients. *Arthritis Rheum* 2007;56(7):2223-31.
29. Seror R, Ravaud P, Mariette X. et al. EULAR Sjögren's Syndrome Patient Report Index (ESSPRI): development of a consensus patient index for primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2011. 70(6):968-72.
30. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, et al. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome: A consensus and data-driven methodology

- involving three international patient cohorts. *Ann Rheum Dis*. 2017. 76(1): 9-16.
31. Chop P, Yap M. Schirmer test I. A review. *Optom Vis Sci*. 1993. 70(2):152-6.
32. Van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome. *Arch Ophthalmol* 1969;82:10–4.
33. Witcher JP, Shiboski CH, Shiboski SC, Heidenreich AM, Kitagawa K, Zhang S, et al. A simplified quantitative method for assessing keratoconjunctivitis sicca from the Sjögren's Syndrome International Registry. *Am J Ophthalmol* 2010;149: 405–15.
34. DEWS diagnostic methodology. Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the diagnostic methodology subcommittee of the international dry eye workshop. *Ocul Surf*. 2007. 5(2): 108-52.
35. Navazesh M, Kumar SK, University of Southern California School of Dentistry. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc*. 2008;139 Suppl:35S–40S.
36. Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JW. Clinical applicability of the EULAR Sjogren's syndrome disease activity index: a cumulative ESSDAI score adds in describing disease severity. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71:631.
37. Schiffman RM, Christianson MD, Jacobsen G. et al. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. *Arch Ophthalmol*. 2000. 118(5):615-21.
38. Thompson FE, Byers T. Dietary assessment resource manual. *J Nutr* 1994; 124:2245–317.

39. Theander E, Horrobin DF, Jacobsson LT, Manthorpe R. Gammalinolenic acid treatment of fatigue associated with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol* 2002; 31(2):72-9.
40. Cermak JM, Papas AS, Sullivan RM, Dana MR, Sullivan DA. Nutrient intake in women with primary and secondary Sjögren's syndrome. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(2):328-34.
41. Manthorpe R, Hagen Petersen S, Prause JU. Primary Sjögren's syndrome treated with Efamol/Efavit. A double-blind cross-over investigation. *Rheumatol Int* 1984;4(4):165-7.
42. Torres-Castillo N, Silva-Gómez J, Campos-Pérez W, et al. High dietary w-6:w-3 PUFA ratio is positively associated with excessive adiposity and waist circumference. *Obes Facts* 2018; 11(4):344-53.
43. Amiano P, Dorronsoro M, de Renobales A, et al. EPIC group of Spain. Very long chain omega-3 fatty acids are markers for habitual fish intake in a population consuming mainly lean fish: the EPIC cohort of Gipuzkoa, European Prospective Investigation and Cancer and Nutrition. *Eur J Clin Nutr*. 200; 55(10):827-32.
44. Molina-Leyva I, Molina-Leyva A, Bueno-Cavanillas A. Efficacy of nutritional supplementation with omega-3 and omega-6 fatty acids in dry eye syndrome: a systematic review of randomized clinical trials. *Acta Ophthalmol* 2017; 95(8):e677-e685.
45. Hernández-Molina G, Michel-Peregrina M, Hernández-Ramírez D, et al. Chemokine saliva levels in patients with primary Sjögren's syndrome, associated Sjögren's syndrome, pre-clinical Sjögren's syndrome and in

- patients with systemic autoimmune diseases. *Rheumatology* 2011; 50(7):1288-92.
46. Daly C, Rollins B. Monocyte chemoattractant protein-1 (CCL2) in inflammatory disease and adaptive immunity: therapeutic opportunities and controversies. *Microcirculation* 2003; 10(3-4):247-57.
47. Yoon K, Park C, You I, et al. Expression of CXCL9,-10,-11 and CXCR3 in the tear film and ocular surface of patients with dry eye syndrome. *IOVS* 2010;51(2):643-50.
48. Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation - A target for novel cancer therapy. *Cancer Treat Rev* 2018; 63:40-7.
49. Spolski R, Gromer D, Leonard WJ. The γ_c family of cytokines: fine-tuning signals from IL-2 and IL-21 in the regulation of the immune response. *F1000Res* 2017; 6:1872.
50. Shabgah AG, Navashenaq JG, Shabgah OG, Mohammadi H, Sahebkar A. Interleukin-22 in human inflammatory diseases and viral infections. *Autoimmun Rev* 2017; 16(12):1209-1218.

ANEXO 1. Criterios de clasificación para Síndrome de Sjögren Primario.

La clasificación de síndrome de Sjögren primario aplica para cualquier sujeto que cumple los criterios de inclusión*, No tiene alguna condición listada en los criterios de exclusión† y tiene una puntuación ≥ 4 cuando las puntuaciones de los 5 criterios que a continuación se mencionan son sumados:

CRITERIO	PUNTUACION
Glándula salival labial con sialoadenitis linfocítica focal y un puntaje de foco ≥ 1 foco/4 mm ² ‡	3
Anti-SSA/Ro positivo.	3
Puntuación de tinción Ocular ≥ 5 (o puntuación van Bijsterveld ≥ 4) en al menos 1 ojo.§	1
Prueba de Schirmer ≤ 5 mm/5 minutos en al menos 1 ojo.	1
Flujo salival no estimulado ≤ 0.1 ml/min.#	1

*Estos criterios de inclusión son aplicables a cualquier paciente con al menos 1 síntoma de sequedad ocular u oral, definido como una respuesta positiva a al menos 1 de las siguientes preguntas: 1) ¿Usted ha tenido algún problema de sequedad ocular diario y persistente por más de 3 meses? 2) ¿Usted ha tenido sensación recurrente de arenilla o piedritas en el ojo? 3) ¿Usted usa sustitutos de lagrима más de 3 veces al día? 4) ¿Usted ha tenido sensación de boca seca por más de 3 meses? 5) ¿Usted toma líquidos para lograr deglutir alimentos secos? O en quien haya sospecha de síndrome de Sjögren en base al cuestionario de índice de actividad de síndrome de Sjögren EULAR. (al menos 1 dominio con un ítem positivo).

†Los Criterios de exclusión incluyen diagnóstico previo de alguna de las siguientes condiciones, los cuales excluirían diagnóstico de SS y su participación en estudios de SS o ensayos terapéuticos debido a que las características clínicas se sobreponen o interfieren con las pruebas incluidas en los criterios: 1) Historia de radiación terapéutica de cabeza y cuello, 2) Infección por hepatitis C activa (con confirmación por reacción en cadena de polimerasa), 3) VIH/SIDA, 4) Sarcoidosis, 5) Amiloidosis, 6) Enfermedad de injerto contra huésped, 7) Enfermedad relacionada a IgG4.

‡La examinación histopatológica debería ser realizada por un patólogo con experiencia en el diagnóstico de sialadenitis linfocítica focal y cuenta del puntaje de foco, usando el protocolo descrito por Daniels et al.

§Pacientes que están tomando fármacos anticolinérgicos, los signos objetivos de hipofunción y sequedad ocular deberán ser evaluados después de un intervalo suficiente de suspensión de estos medicamentos con la finalidad de que sea una medición válida de sequedad oral y ocular.

¶Puntuación de tinción ocular descrito por Whitcher et al.; van Bijsterveld descrito por van Bijsterveld.

#Medición de flujo salival no estimulada descrita por Navazesh and Kumar.

Anexo 2. CUESTIONARIO DE ALIMENTOS.

IDENTIFICACION: _____ FECHA: _____

EVALUACION DE LA DIETA: (Frecuencia de consumo):

1. Nunca o menos de 1 vez a la semana.	5. 5 veces a la semana.
2. 1-2 veces por semana.	6. Una vez al día.
3. Una vez a la semana.	7. 2-3 veces al día.
4. 3-4 veces por semana.	8. Mas de 3 veces al día.

Pan dulce		Pescado	
Refrescos		Carne de cerdo	
Jugo de frutas		Embutidos	
Tortillas		Quesos	
Leche		Visceras	
Alimentos fritos, empanizados o capeados		Aderezos	
Arroz/pastas		Aceites comestibles	
Carne de res		Edulcorantes	
Pollo		Alimentos Light	
Fruta		Azúcar	
Legumbres		Dulces	
Verdura		Chocolate	

RECORDATORIO DE 24 HRS:

DESAYUNO	
COLACIÓN	
COMIDA	
COLACION	
CENA	

ANEXO 3. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

PROTOCOLO: _____

NOMBRE: _____ REGISTRO: _____ FECHA: _____

SEXO: _____ EDAD: _____ OCUPACION: _____ EDO. CIVIL: _____

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES:

ENF. AUTOINMUNES	SI	NO	COMENTARIOS
Artritis Reumatoide.			
Lupus Eritematoso Generalizado.			
Síndrome de Sjögren.			
Enfermedad tiroidea.			
Otras enf. autoinmunes			

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS:

ANTECEDENTE	SI	NO	FECHA DE INICIO/SUSP.	FRECUENCIA
Tabaquismo				IT:
Etilismo				
Alergias				
Transf. Sanguíneas.				

MANIFESTACION CLINICAS:

COMORBILIDADES	F. DE DX.	TRATAMIENTO
Diabetes Mellitus		Insulina:
		Metformina:
		Otros:
HAS		IECAs:
		ARAs:
		BB:
		Tiazidas:
		CaA:
		Otros:
Dislipidemia:		Estatina:
		Fibrato:
		Otros:
OTRAS:		

--	--	--

FECHA DE Dx. DE SX. DE SJÖGREN PRIMARIO _____

XEROSTOMIA: _____

XEROFTALMIA: _____

BIOPSIA DE GLANDULA SALIVAL MENOR: _____

ANTICUERPOS PRESENTES: Anti-Ro _____ Anti-La _____ ANAs _____
 Otros autoanticuerpos: _____

AL MOMENTO DE LA EVALUACIÓN

XEROFTALMIA:

SCHIRMER: OJO IZQUIERDO _____ OJO DERECHO _____

TRATAMIENTO: _____

XEROSTOMIA:

FLUJO SALIVAL NO ESTIMULADO _____

TRATAMIENTO: _____

MANIFESTACIONES EXTRAGLANDULARES:

MANIFESTACIÓN	SI	NO	MANIFESTACIÓN	SI	NO
Articular.			Pulmonar.		
Hematológica.			Renal.		
Neurológica.			Linfoma.		
Fen. de Raynaud.			Hepatitis AI.		
Vasculitis.			CBP.		

FARMACO	DOSIS	Comentarios
Prednisona		
Azatioprina		
Antimalarico		
AINEs		
Otros inmunosupresores.		

CUESTIONARIO DE ALIMENTOS: FOOD PROCESSOR

Contenido estimado de omega 3 : _____

Contenido estimado de omega 6: _____

NIVELES SERICOS DE OMEGAS:

Acido linolénico _____ Eicosapentanoico: _____ Docosaheptaenoico _____

Ac. Linoleico _____ Acido araquidónico _____

LABORATORIO	VALOR	COMENTARIOS
Glucosa.		
HbA1c.		
Creatinina.		
BUN		
Urea:		
Leucocitos T.		
Neutrofilos:		
Linfocitos		
Monocitos		
Hb		
Hto.		
Plaquetas		
Albumina		
Globulinas		
AST		
ALT		
FA		
BT		
BD		
DHL		
VSG		
PCR		
Colesterol T.		
Triglicéridos		
LDL		
HDL		
Colesterol no-HDL		
Apo B		

ANEXO 4. ÍNDICES DE EVALUACION DE LA ENFERMEDAD.

EULAR – SS Índice de Actividad de la Enfermedad (ESSDAI)

Dominio	Nivel de actividad	Descripción
Constitucional Exclusión de fiebre de origen infeccioso y pérdida voluntaria de peso	Ausente = 0	Ausencia de los siguientes síntomas:
	Bajo = 3	Fiebre entre 37.5-38.5°C/Sudoración nocturna y/o pérdida involuntaria de peso 5-10%
	Moderado = 6	Fiebre >38.5°C/Sudoración nocturna y/o pérdida de peso >10%
Linfadenopatía Exclusión de infección	Ausente = 0	Ausencia de los siguientes:
	Bajo = 4	Linfadenopatía ≥1 cm en cualquier región nodal o ≥ 2 cm en región inguinal
	Moderado = 8	Linfadenopatía ≥2 cm cualquier región nodal o ≥ 3 cm en región inguinal, y/o esplenomegalia
Glandular Exclusión de infección y lito glandular	Ausente = 0	Proceso actual linfoproliferativo de células B
	Bajo = 2	Ausencia de inflamación glandular
	Moderado = 4	Inflamación glandular leve con agrandamiento ≤ 3 cm de la parótida o ≤ 2 cm submandibular o ≤ 1 cm de la glándula lagrimal
Articular	Ausente = 0	Inflamación glandular significativa con agrandamiento parotídeo >3 cm o submandibular >2 cm o lagrimal <1 cm
	Ausente = 0	Ausencia de actividad articular

Exclusión de osteoartritis	Bajo = 2	Artralgias en manos, carpos, tobillos y pies con rigidez matutina >30 min
	Moderado = 4	Sinovitis de 1-5 articulaciones (de 28 evaluadas)
	Alto = 6	Sinovitis de 6 o más articulaciones (de 28 evaluadas)
Cutáneo	Ausente = 0	Ausencia de involucro cutáneo activo
Puntuar como "ausente" a características estables y crónicas relacionadas a daño	Bajo = 3	Eritema multiforme
	Moderado = 6	Vasculitis cutánea limitada, púrpura limitada a pies y tobillos o lupus cutáneo subagudo
	Alto = 9	Vasculitis cutánea difusa incluyendo vasculitis urticariana, púrpura difusa o úlceras por vasculitis
Pulmonar	Ausente = 0	Ausencia de involucro pulmonar activo
Puntuar como "ausente" a características clínicas estables y crónicas relacionadas a daño o involucro pulmonar no relacionado a la enfermedad (tabaquismo, etc)	Bajo = 5	Tos persistente secundaria a involucro bronquial sin anomalías radiográficas en Rayos X o sin evidencia de enfermedad pulmonar intersticial por TACAR o Rayos X sin disnea y pruebas de función respiratorias normales
	Moderado = 10	Involucro pulmonar activo moderado, como enfermedad pulmonar intersticial en TACAR con disnea al ejercicio (NYHA II) o pruebas de función respiratorias anormales con 70%>DLCO>40% o 80%>FVC>=60%

	Alto = 15	Involucro pulmonar altamente activo, como enfermedad pulmonar intersticial evidenciada en TACAR con disnea en reposo (NYHA III, IV) o con pruebas de función respiratorias anormales DLCO<40% o FVC<60%
Renal	Ausente = 0	Ausencia de involucro renal con proteinuria <0.5 gr/d, sin leucoeritrocituria, ni acidosis
Puntuar como "ausente" a características clínicas estables y crónicas relacionadas a daño o involucro renal no asociado a la enfermedad.	Bajo = 5	Actividad renal leve limitada a acidosis tubular sin falla renal o glomerulopatía con proteinuria (entre 0.5-1 gr/d) pero sin hematuria ni falla renal (TFG>=60 mL/min)
En presencia de biopsia, puntuar actividad en base a hallazgos histológicos	Moderado = 10	Actividad renal moderada, acidosis tubular con falla renal (TFG <60 mL/min) o glomerulopatía con proteinuria entre 1-1.5 gr/d y sin hematuria o falla renal (>= 60 mL/min) o evidencia histológica de glomerulonefritis extra membranosa o importante infiltrado linfocítico intersticial
	Alto = 15	Alta actividad renal como glomerulopatía con proteinuria >1.5 gr/d o hematuria o falla renal (TFG <60 mL/min) o evidencia histológica de glomerulonefritis proliferativa o actividad renal asociada a crioglobulinemia
Muscular	Ausente = 0	Ausencia de involucro muscular

Exclusión de debilidad debido a corticoesteroides	Bajo = 6	Miositis leve por EMG, RMN o biopsia sin debilidad con CPK elevada pero menor a 2 veces el VSN
	Moderado = 12	Miositis moderada por EMG, RMN, o biopsia con debilidad (máximo déficit de 4/5), o elevación de CPK entre 2 y 4 veces el VSN
	Alto = 18	Miositis grave por EMG, RMN, o biopsia con debilidad (déficit \leq 3/5) o CPK elevada más de 4 veces el VSN
SNP Puntuar como "ausente" a características clínicas crónicas y estables asociadas a daño o involucro del SNP no relacionado a la enfermedad	Ausente = 0	Ausencia de involucro en SNP
	Bajo = 5	Involucro leve, polineuropatía axonal sensitiva pura evidenciada por velocidades de conducción nerviosa o neuralgia del trigémino
	Moderado = 10	Involucro moderado por velocidades de conducción nerviosa, neuropatía axonal sensitivo-motora con máximo déficit motor de 4/5, neuropatía sensitiva pura con presencia de vasculitis crioglobulinémica, ganglioneuropatía con ataxia leve/moderada o polineuropatía desmielinizante inflamatoria con déficit motor leve (máximo 4/5)/ ataxia leve o afección de par craneal de origen periférico (excepto V par craneal)
	Alto = 15	Alta actividad por velocidades de conducción nerviosa neuropatía axonal sensitiva-motora con déficit

		motor $\leq 3/5$, involucro de nervio periférico por vasculitis (i.e mononeuritis múltiple), ataxia severa por ganglionopatía, polineuropatía desmielinizante inflamatoria con déficit grave $\leq 3/5$ o ataxia grave
SNC	Ausente = 0	Ausencia de actividad en SNC
Puntuar como "ausente" a características clínicas crónicas y estables relacionadas a daño o involucro de SNC no relacionado a la enfermedad	Moderado = 10	Actividad moderada como afección de par craneal de origen central, neuritis óptica o síndrome parecido a esclerosis múltiple con síntomas de afección sensorial o cognitivo
	Alto = 15	Actividad grave como vasculitis cerebral con accidente cerebrovascular o accidente isquémico transitorio, convulsiones, mielitis transversa, meningitis linfocítica o síndrome parecido a esclerosis múltiple con déficit motor
Hematológico	Ausente = 0	Ausencia de citopenias autoinmunes
Puntuar citopenias autoinmunes. Excluir citopenias por deficiencia de vitaminas y de hierro así como inducida por drogas	Bajo = 2	Neutropenia entre 1000-1500 por mm ³ , anemia con hemoglobina entre 10-12 g/dL y/o trombocitopenia entre 100,000-150,000 o linfopenia entre 500-1000 por mm ³
	Moderado = 4	Neutropenia entre 500-1000 por mm ³ , anemia con hemoglobina entre 8-10 g/dL y/o trombocitopenia entre 50,000-100,000 o linfopenia <500 por mm ³

	Alto = 6	Neutropenia <500 por mm ³ , anemia con hemoglobina <8 g/dL o trombocitopenia <50,000
Biológico	Ausente = 0	Ausencia de cualquiera de los siguientes:
	Bajo = 1	Componente clonal y/o hipocomplementemia (C3 bajo o C4 bajo o CH50 bajo) y/o hipergamaglobulinemia o niveles altos de IgG entre 16-20 g/L
	Moderado = 2	Presencia de crioglobulinemia y/o hipergamaglobulinemia o niveles de IgG >20 g/L, y/o inicio reciente de hipogamaglobulinemia o descenso reciente de IgG >5 g/L

Índice de daño acumulado del Síndrome de Sjögren (SSDDI)

Item	Definición	Puntaje
Oral/Daño salival		
Trastorno en el flujo salival	Flujo salival <1.5mL/15min	1
Pérdida de piezas dentales	Pérdida parcial o completa de dientes	1
Daño ocular		
Trastorno en la producción de lágrima	Test de Schirmer <5mm/5min	1
Anomalías estructurales	Ulceras corneales, cataratas, blefaritis crónica	1
Daño neurológico		
Involucro de SNC	Daño crónico estable de SNC	2
Involucro de SNP	Daño crónico estable de SNP	1
Daño pleuropulmonar		
Fibrosis pleural	Confirmado por imagen	2
Fibrosis intersticial	Confirmado por imagen	
Daño funcional irreversible	Confirmado por espirometría	
Daño renal		
Incremento en la creatinina sérica o disminución en la TFG	Alteración crónica y estable de creatinina o TFG	2
Acidosis tubular	pH urinario >6 y HCO ₃ <15 mmol/L en dos ocasiones consecutivas	
Nefrocalcinosis	Confirmado por imagen	
Trastorno linfoproliferativo		
Linfoma de células B	Confirmado clínica e histológicamente	5
Mieloma múltiple	Confirmado clínica e histológicamente	
Macroglobulinemia de Waldenström	Confirmado clínica e histológicamente	

Índice EULAR reportado por el paciente del síndrome de Sjögren (ESSPRI)

1) ¿Qué tan intensa ha sido la sequedad durante las últimas 2 semanas?

Sin sequedad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	La máxima sequedad imaginable
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

2) ¿Qué tan intensa ha sido la fatiga durante las últimas 2 semanas?

Sin fatiga	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	La máxima fatiga imaginable
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

3) ¿Qué tan intenso ha sido el dolor (dolores articulares o musculares en los brazos o piernas) durante las últimas 2 semanas?

Sin dolor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	El máximo dolor imaginable
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

Evaluación oftalmológica de Síndrome de Sjögren primario

Nombre _____ Registro _____

Número de cohorte _____ Fecha de evaluación _____

pHmetria OD _____ OI _____

Tiempo de lavado OD _____ OI _____

Tiempo de ruptura OD _____ OI _____

Menisco lagrimal OD _____ OI _____

Prueba Schirmer-I OD _____ OI _____

Prueba Schirmer-II OD _____ OI _____

Catarata Si () OD _____ OI _____

Blefaritis Si ()

Conjuntivitis si () Tipo _____

Meibonitis si ()

Ulceras si () Causa _____

Disfunción película lagrimal

() Acuoso deficiente

() Evaporativo

() Mixto

Leve () Moderado () Severo ()

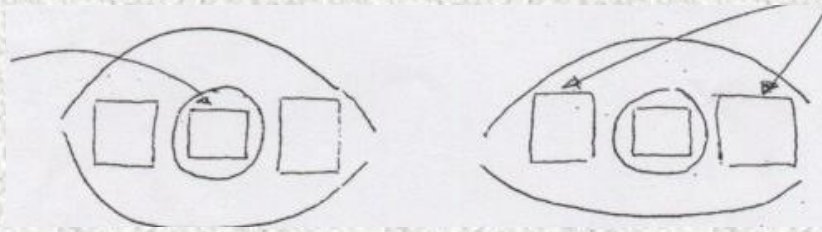
Tinción fluoresceína

Escala de van Bijsterveld (0-3 en cada tercio)



Tinción de lisamina OD _____ OI _____

Escala OSS (Ocular Staining Score)



Otros hallazgos oftalmológicos

Comentarios (Tratamiento tópico actual, tratamiento que se indica, uso de tapón lacrimal, suero autólogo, etc)

Encuesta de molestias oculares

Nombre: _____
 Edad: _____ Sexo: _____
 N° de Expediente: _____
 Usa lentes _____
 Tiene antecedentes de cirugías o traumas en sus ojos _____

1. Ha tenido usted alguna de las siguientes molestias en la última semana?

	Todo el tiempo	La mayoría de las veces	La mitad de las veces	Algunas veces	Ninguna vez
Sensibilidad a la luz?	4	3	2	1	0
Sensación de ojos arenosos?	4	3	2	1	0
Dolor ocular?	4	3	2	1	0
Vision Borrosa?	4	3	2	1	0
Baja visual?	4	3	2	1	0

2. Sus problemas oculares han limitado el desempeño de alguna de las siguientes actividades?

	Todo el tiempo	La mayoría de las veces	La mitad de las veces	Algunas veces	Ninguna vez	
Molestias al leer	4	3	2	1	0	No leo
Conducir de noche?	4	3	2	1	0	No manejo
Trabajar con la computadora?	4	3	2	1	0	No trabajo computadora
Ver televisión?	4	3	2	1	0	No veo televisión

3. Ha sentido sus ojos incómodos en alguna de las siguientes situaciones?

	Todo el tiempo	La mayoría de las veces	La mitad de las veces	Algunas veces	Ninguna vez	
Con el viento?	4	3	2	1	0	No salgo al viento
Lugares o áreas muy secas?	4	3	2	1	0	No estoy en lugares secos
Con el aire acondicionado?	4	3	2	1	0	No tengo aire acondicionado

Muchas gracias.
 Departamentos de
 Reumatología y Oftalmología