



UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

***SÍNDROME DE SJÖGREN PERFIL EPIDEMIOLÓGICO
POTENCIAL VALOR DE DIAGNÓSTICO SALIVAR
Case-Report***

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
Para a obtenção do grau de mestre em Medicina Dentária

Por:

Nádia Priscila Costa Martins

Viseu, junho de 2014



UNIVERSIDADE
CATÓLICA | INSTITUTO DE
PORTUGUESA | CIÊNCIAS DA SAÚDE

***SÍNDROME DE SJÖGREN PERFIL EPIDEMIOLÓGICO
POTENCIAL VALOR DE DIAGNÓSTICO SALIVAR
Case-Report***

Dissertação apresentada à Universidade Católica Portuguesa
Para a obtenção do grau de mestre em Medicina Dentária

Orientador: Professora Doutora Cláudia Ribeiro

Coorientador: Professor Doutor Nuno Rosa

Por:

Nádia Priscila Costa Martins

Viseu, junho de 2014

*“Those who dream by day are cognizant of many things
That escape those who dream only at night”*

Edgar Allan Poe

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais

A quem tudo devo e sem eles nada disto seria possível,

Pelo amor, apoio incondicional e valores transmitidos

À minha irmã

Pelo amor, apoio, amizade e ajuda que sempre demonstrou ao longo destes anos.

Aos meus queridos avós, em presença ou em memória, pelo incentivo ao saber que esta vitória seria um realizar dos seus desejos.

Ao meu namorado

Pelo amor, paciência e compreensão, por nunca me deixar desistir e estar sempre presente

Às minhas amigas que por vezes longe estarão sempre por perto e ao Trinómio 82 pelos últimos anos de esforço, amizade e companheirismo.

À minha orientadora Professora Doutora Cláudia Ribeiro, pela constante ajuda dedicação e disponibilidade que sempre demonstrou ao longo deste trabalho, à confiança depositada e à constante motivação, assim como a todo o apoio em todos os projetos durante esta fase. Um muito obrigado pela sua amizade e conhecimentos transmitidos.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Nuno Rosa pela disponibilidade e ajuda incondicional.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	VI
ÍNDICE DE TABELAS	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
RESUMO	X
ABSTRACT	XI
INTRODUÇÃO.....	XII
I. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	1
1. SÍNDROME DE SJÖGREN.....	2
1.1 Considerações históricas.....	2
1.2 Formas de apresentação.....	2
1.3 Epidemiologia.....	4
1.4 Etiologia.....	4
1.5 Manifestações clínicas gerais.....	5
1.5.1 Xeroftalmia.....	6
1.6 Manifestações clínicas orais.....	7
1.6.1 Xerostomia ou “boca seca”	7
1.7 Diagnóstico.....	8
1.7.1 Consulta de diagnóstico de Medicina Dentária	8
1.8 Cavidade Oral	9
1.8.1 Composição Salivar	11
1.9 Funções dos componentes salivares.....	12
1.9.1 Proteínas salivares- Importância.....	12
1.10 Análise salivar.....	13
1.10.1 Sialometria	13
1.10.2 Colheita salivar	14
1.10.3 Testes glandulares salivares	17
1.10.4 Teste de Schirmer.....	17
1.10.5 Proteômica	18
1.10.6 Critérios para os biomarcadores (.....	18
1.10.7 Proteoma- encontrados em amostras salivares humanas.....	19

1.10.8	Proteínas encontradas na SS	19
II	OBJETIVOS	21
2.	OBJETIVOS	22
III.	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1	Levantamento do Proteoma Salivar na SS	24
3.2	Caracterização do proteoma salivar na SS	24
3.2.1	Distribuição das proteínas da SS por origem da amostra	24
3.3	Caracterização funcional do proteoma da SS	25
3.4	Processos biológicos mais alterados na SS relativamente ao ORALOMA normal (pessoa saudável).....	27
3.5	Visualização esquemática da rede interatómica das proteínas da SS	28
3.6	Case Report	32
3.6.1	Relato de caso	32
3.6.2	Discussão de Caso	33
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Proteínas identificadas em amostras salivares da SS.....	38
4.2	Distribuição das proteínas de Sjögren por Processos Biológicos (ferramenta utilizada – PANTHER)	40
4.3	Diferença fracional entre o Oraloma Total e as proteínas da SS	41
4.4	Visualização esquemática das proteínas da SS recorrendo a filtros dos processos Biológicos Ferramenta utilizada STRING.....	43
V.	CONCLUSÃO	46
5.	CONCLUSÃO	47
VI.	PERSPETIVAS FUTURAS	48
6.	PERSPETIVAS FUTURAS	49
VII.	BIBLIOGRAFIA	50
7.	BIBLIOGRAFIA	51
VIII.	ANEXOS	61
ANEXO A	62
ANEXO B	63
ANEXO C	64
ANEXO D	65

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 PÁGINA INICIAL DA BASE DE DADOS UNIPROTKB	25
FIGURA 2 SISTEMA DE ANÁLISE EM GRUPO DA FERRAMENTA DE CLASSIFICAÇÃO DO PANTHER	26
FIGURA 3 SELEÇÃO DO TIPO DE CLASSIFICAÇÃO POR ONTOLOGIA DESEJADO, NA FERRAMENTA PANTHER	27
FIGURA 4 PÁGINA INICIAL DA FERRAMENTA BIOINFORMÁTICA STRING, PARA ESTUDOS DE INTERATÓMICA	29
FIGURA 5 PÁGINA DE “INPUT” DA FERRAMENTA BIOINFORMÁTICA STRING MOSTRANDO A INTRODUÇÃO DAS PROTEÍNAS ALTERADAS NA SS	29
FIGURA 6 IMAGEM ILUSTRATIVA DAS OPÇÕES DO STRING	30
FIGURA 7 IMAGEM ILUSTRATIVA ENRICHMENT - PROCESSOS BIOLÓGICOS	31
FIGURA 8 IMAGEM ILUSTRATIVA USANDO O FILTRO DE INTERESSE: “IMMUNE” ONDE IDENTIFICA AS PROTEÍNAS ALTERADAS DA SS CORRESPONDENTES AOS PROCESSOS BIOLÓGICOS IMUNES	31
FIGURA 9 BIÓPSIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MINOR DO LÁBIO INFERIOR. A AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA APRESENTOU AGREGADOS DE LINFÓCITOS, CÉLULAS PLASMÁTICAS E MACRÓFAGOS ADJACENTES AO ÁCINO GLANDULAR .	33
FIGURA 10 AO EXAME FÍSICO SALIENTAMOS O ATINGIMENTO ARTICULAR DAS MÃOS E PÉS	33
FIGURA 11 O PAPEL DE FILTRO É DOBRADO 5MM NUMA DAS EXTREMIDADES E COLOCADO NA PÁLPEBRA INFERIOR. DEVE-SE INFORMAR O PACIENTE A MANTER OS OLHOS ABERTOS E A PISCAR NORMALMENTE. APÓS 5 MINUTOS, REMOVE-SE O PAPEL DE FILTRO, MEDE-SE A QUANTIDADE HUMEDICIDA EM MILÍMETROS	34
FIGURA 12 NO TESTE OCULAR DE SCHIRMER A PACIENTE APRESENTOU UM VALOR ABSOLUTO DE 3,5MM APÓS 5 MINUTOS, O QUE INDICA XEROFTALMIA	34
FIGURA 13 PROTOCOLO DE RECOLHA SALIVAR (COTTON ROL; PINÇA HEMOSTÁTICA; TUBOS DE 50 ML; RESPONSÁVEL PELA RECOLHA EQUIPADO COM EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL)	35
FIGURA 14 REDE INTERATÓMICA GERADA NO STRING ONDE IDENTIFICA AS PROTEÍNAS ALTERADAS NA SS: SETAS REPRESENTAM AS PROTEÍNAS AUMENTADAS; CÍRCULOS A VERMELHO REPRESENTAM AS PROTEÍNAS ENVOLVIDAS COM A RESPOSTA IMUNE; CÍRCULOS A LARANJA REPRESENTAM AS PROTEÍNAS ENVOLVIDOS NA RESPOSTA IMUNE INATA E OS CÍRCULOS A AZUL REPRESENTAM AS PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NOS PROCESSOS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO	43

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1-DIAGRAMA DE VENN REPRESENTATIVO DAS PROTEÍNAS IDENTIFICADAS EM AMOSTRAS SALIVARES.....	38
GRÁFICO 2-DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS ALTERADAS DA SS POR PROCESSOS BIOLÓGICOS	41
GRÁFICO 3-DIFERENÇA FRACIONAL ENTRE O ORALOMA TOTAL E AS PROTEÍNAS DA SS.....	42

ÍNDICE DE TABELAS

<i>TABELA 1</i> <i>PROTEÍNAS IDENTIFICADAS EM AMOSTRAS SALIVARES</i>	39
<i>TABELA 2</i> <i>PROTEÍNAS QUE APARECERAM EM TODOS OS FLUÍDOS</i>	39
<i>TABELA 3</i> <i>DIFERENÇA FRACIONAL ENTRE O ORALOMA TOTAL E AS PROTEÍNAS DA SS</i>	41

LISTA DE ABREVIATURAS

%:	Porcentagem
Ex.:	Exemplo
SNA:	Sistema Nervoso Autónomo
SNP:	Sistema Nervoso Parassimpático
SNS:	Sistema Nervoso Simpático
SS:	Síndrome Sjögren
PSS:	Síndrome Sjögren primária
SSS:	Síndrome Sjögren secundárias
RF:	Fator Reumático
Ro-	Auto anticorpos SSA
La-	Auto anticorpos SSB
ANA	Anticorpos Antinucleares
MALT:	Tecido Linfoide Associado à Mucosa
AR:	Artrite Reumatoide
IL:	Interleucina
Ig:	Imunoglobulina
LES:	Lúpus Eritematoso Sistémico
ml/ min:	Mililitro por minuto
MUC:	Mucina
ELISA:	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
2-DE:	Eletroforese bidimensional
AECG:	American European Consensus Criteria
NIDGR:	Instituto de Pesquisa Dentário e Craniofacial Nacional dos Estados Unidos
pH :	Potencial Hidrogénico
CD4 ⁺ :	Co-recetor
OSDI:	Ocular Surface Disease Index
XI:	Xerostomy Inventory
OHIP:	Oral Health Impact Profile
HSP:	Henoch-Schonlein purpura
MMP:	Metaloproteinases

MHC: Complexo de Histocompatibilidade
TIMP: Inibidores teciduais de metaloproteinases
Cl: Cloro
HCO₃⁻: Bicarbonato
Mg: Magnésio
NH₃: Amónio
Ca²⁺: Cálcio
K⁺: Potássio
g/l: Grama por litro
>: Maior
µl/h: Micrólitro por hora

RESUMO

INTRODUÇÃO: Síndrome de Sjögren é uma doença reumática sistêmica autoimune, caracterizada por inflamação linfocitária das glândulas exócrinas, resultando na sua hipofunção. Pode-se distinguir Síndrome de Sjögren primária de secundária, sendo que a primeira atinge as glândulas exócrinas e a segunda, está associada a outras doenças autoimunes, tornando o seu diagnóstico um desafio, argumento válido para considerar o diagnóstico salivar como meio complementar de diagnóstico. **OBJETIVOS:** Identificar o perfil epidemiológico do Síndrome de Sjögren e enfatizar a importância do diagnóstico através da proteômica salivar. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Compilação do proteoma salivar da Síndrome de Sjögren, através da consulta do OralCard utilizando o termo “Sjogren's Syndrome”. Pesquisa bibliográfica na B-on®, Pubmed®, Medline® e Science direct®, utilizando as palavras-chave, “Sjogren's Syndrome”, “saliva”, “prote*”, “diagnostics” A caracterização e interpretação funcional foi efectuada recorrendo às ferramentas bioinformáticas PANTHER e STRING. Apresentação do *case report* pretende evidenciar a aplicabilidade e utilidade do diagnóstico precoce salivar, em alternativa a exames de diagnósticos invasivos e mais dispendiosos. **RESULTADOS:** Foram encontradas no OralCard 477 proteínas salivares envolvidas na Síndrome de Sjögren, destas 33 estão envolvidas na resposta imunológica. Através da identificação destas 33 proteínas obteve-se as funções biológicas, 5 delas encontram-se aumentadas na resposta imunológica. Na avaliação do caso clínico, quando analisado o fluxo salivar basal, este foi inferior a metade do valor considerado normal, que é cerca de 0,30 ml/minuto. A análise intra e extra-oral foi realizada de forma minuciosa onde se avaliou os resultados, sendo estes consistentes com a bibliografia pesquisada. **CONCLUSÕES:** Este trabalho permitiu compilar e caracterizar sumariamente o proteoma salivar da Síndrome de Sjögren. Sugere-se o desenho de estratégias laboratoriais que permitam a quantificação dessas mesmas proteínas. É imperativo a inclusão de um outro meio complementar de diagnóstico, menos invasivo e a realizar numa fase precoce da doença, baseado na identificação de biomarcadores salivares. **PALAVRAS-CHAVE:** Síndrome de Sjögren, Doenças Autoimunes, Diagnóstico Salivar, Manifestações Orais, Sialometria, Sialoquímica, Sialografia.

ABSTRACT

BACKGROUND: Sjögren's syndrome is an autoimmune systemic rheumatic disease characterized by lymphocytic inflammation of the exocrine glands, resulting in its hypofunction. Two types of Sjögren's syndrome can be distinguished: primary and secondary, the first reaches the exocrine glands, the second is associated with other autoimmune diseases, making diagnosis a challenge, validating the argument of considering the diagnosis as a complementary means of salivary diagnostics. **OBJECTIVES:** To describe the epidemiology of Sjögren's syndrome and emphasize the importance of diagnosis by salivary proteomics. **MATERIALS AND METHODS:** Compilation of the salivary proteome of Sjögren's syndrome by consulting OralCard using the term "Sjogren's Syndrome". Bibliographic research on B-on® , Pubmed® , Medline® and Science direct ® using the keywords, "Sjogren's Syndrome", "saliva", "raw *", "diagnostics" The characterization and functional interpretation was performed using the PANTHER bioinformatics tools and STRING. Presentation of case report aims to highlight the applicability and usefulness of salivary early diagnosis, as an alternative to invasive tests and costly diagnoses. **RESULTS:** 477 salivary proteins involved in Sjögren's syndrome were found in OralCard, of which 33 are involved in the immune response. By identifying these 33 proteins biological functions were obtained, of which five are increased in the immune response. In evaluating the clinical case, when basal salivary flow was analyzed, it was less than half the amount considered normal, which is about 0.30 ml / minute. The intra and extra-oral examination was carried out in detail and results were evaluated, which are consistent with the literature search. **CONCLUSIONS:** This study compiles and briefly characterizes the salivary proteome of Sjögren's syndrome. It is suggested the design of laboratory strategies to enable the quantification of these same proteins. It is imperative to include another additional diagnostic procedures, less invasive and carry out on an early stage of the disease, based on the identification of salivary biomarkers. **KEYWORDS:** Sjogren's Syndrome, Autoimmune Disease, Salivary Diagnostics, Oral Manifestations, Sialometry, sialochemistry, Sialography

INTRODUÇÃO

O seguinte trabalho de monografia propõe-se a abordar, a Síndrome de Sjögren (SS) e as respetivas alterações orais verificadas nos indivíduos portadores desta condição.

É considerada uma patologia autoimune, crónica e progressiva com repercussões a nível das glândulas exócrinas, nomeadamente glândulas salivares e lacrimais, resultando na sua hipofunção. A SS é considerada a mais comum entre as doenças autoimunes do tecido conjuntivo. É estimado que, cerca de 0,5 milhões em 3 milhões de pessoas estejam afetadas nos Estados Unidos da América, em Portugal é estimado que cerca de 3% esteja afetada.

Embora indivíduos de todas as idades possam ser afetados, a doença tem maior incidência em mulheres (9:1).

Esta condição leva a quadros de xerostomia e xeroftalmia, sendo estes considerados a chave das manifestações da SS. Estas condições levam a um interesse acrescido em relacionar e avaliar problemas desta síndrome na cavidade oral.

A verdadeira etiologia ainda permanece desconhecida, embora esteja associada a um componente multifatorial, envolvendo tanto fatores ambientais como genéticos.

Atualmente o diagnóstico da SS requer medidas invasivas, como biópsia das glândulas salivares e carece de especificidade, uma vez que os sintomas que manifestam são comuns a outras doenças autoimunes.

Nos últimos anos tem-se observado um interesse crescente em desenvolver biomarcadores salivares para o diagnóstico não invasivo da SS, tendo com base as técnicas de proteómica para identificação de potenciais moléculas alvo. No entanto, os dados são heterogéneos e encontram-se dispersos na bibliografia, dificultando a sua interpretação.

Neste sentido urge desenvolver estratégias que permitam integrar a informação gerada pelas ciências ómicas e interpretar funcionalmente esses dados à luz da patofisiologia da doença.

I. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1. SÍNDROME DE SJÖGREN

1.1 *Considerações históricas*

A primeira descrição da SS surgiu em 1892 por Mikulicz, quando descreveu um paciente do sexo masculino de 42 anos que apresentava aumento difuso das glândulas lacrimais e parótidas, associado a um pequeno infiltrado de células redondas e pequenas; sendo designado por “Síndrome de Mikulicz’s”, termo que é pouco usado devido à inclusão de distintas e múltiplas entidades, nomeadamente, Tuberculose, Sarcoidose, Linfoma e outras infeções, tendo caído em desuso devido à fraca informação sobre prognóstico e terapêutica (1).

A SS foi posteriormente descrita em 1933 (2) por Henrik Sjögren na sua monografia, onde combinou achados clínicos e patológicos numa mesma entidade (2, 3), descrevendo achados clínicos e histológicos de 19 mulheres, em que 13 delas apresentavam problemas de Artrite Reumatoide associado à boca e olhos secos, sendo o principal responsável pela sua caracterização (1). O termo foi então adotado em 1953.

1.2 *Formas de apresentação*

Henrik Sjögren introduziu o termo ceratoconjuntivite seca para descrever os sintomas oculares desta patologia de forma a não confundir com olhos secos devido à falta de vitamina A (1).

A definição da SS tem vindo a sofrer alterações ao longo do tempo (2, 4).

A SS foi considerado como doença reumática sistémica autoimune (5), caracterizada por inflamação linfocitária (6-11) (predominantemente células CD4+) (12) das glândulas exócrinas, sobretudo as glândulas lacrimais e salivares (7, 13-15), resultando na hipofunção das glândulas exócrinas (16), levando a quadros de xerostomia e xeroftalmia, (17-20) sendo considerado a chave das manifestações da SS (21), frequentemente acompanhada de sintomas sistémicos (22, 23).

A desordem autoimune envolve a infiltração progressiva de linfócitos das glândulas lacrimais e salivares, ativação de Linfócitos B policlonais, produção de Auto Anticorpos, especialmente Anticorpos Antinucleares (ANA), Auto

Anticorpos SS-A (Ro) /SS-B (La) (4, 24, 25) sendo encontrados em cerca de 50/60- (5) 90% dos doentes com SS (8, 26) e Fator Reumático (RF) (7, 18, 27), assim como a Hipergammaglobulinemia (4) (sendo encontrados em cerca de 80% dos pacientes) (28).

Estes achados são considerados como um reflexo da hiper-reatividade das células B, com destruição de órgãos-alvo (7, 22, 29).

Dos pacientes com SS, cerca de 5% desenvolve linfoma maligno das células B, e tecido Linfoide, associado à mucosa (MALT), com maior predominância nas glândulas salivares major (1, 22).

A SS é considerada a mais comum entre as doenças autoimunes do tecido conjuntivo (6, 23, 30-32). É estimado que 0,5 milhões em 3 milhões de pessoas estejam afetadas nos Estados Unidos da América (31).

Embora indivíduos de todas as idades possam ser afetados, a doença tem maior incidência em mulheres (33, 34) (9 mulheres:1 homem) (1, 8, 14, 24, 28, 35), incidindo sobretudo na quarta e quinta década de vida (11, 36), sendo as disfunções hormonais consideradas como parte da fisiopatologia no desenvolvimento da SS, (principalmente de andrógenos, estrógeno e de progesterona) (37).

A SS pode existir como doença primária e isolada das glândulas exócrinas (SS primária) (38) ou estar associada a outras doenças autoimunes (3, 9, 23, 24) como Artrite Reumática (AR), Lúpus Eritematoso Sistémico (LES), Doença de Graves, Esclerose Sistémica Progressiva Esclerodermia, entre outros (SS secundária) (2, 4, 13, 28, 33, 39, 40). A SS pode ser definida pela presença de pelo menos dois dos três seguintes critérios de classificação (2, 3):

- 1) Ceratoconjuntivite seca ¹
- 2) Xerostomia
- 3) Outro – Doença crónica inflamatória do tecido conjuntivo devidamente diagnosticado.

¹ “Sicca complex”- ceratoconjuntivite seca é um termo aplicado aos casos de Síndrome de Sjögren que não estão associadas a Artrite Reumatoide ou outra doença do tecido.

Quando os sintomas (seca) aparecem em indivíduos saudáveis, é então classificado de PSS.

A SS é classificada de primária apenas quando os dois primeiros critérios (1 e 2) estão presentes e de secundária, quando o terceiro critério está também presente (2).

1.3 Epidemiologia

É considerada uma das mais comuns doenças autoimunes, sendo a sua prevalência estimada em cerca de 0,6% (41); 0,5-2% (36).

Estima-se que 0,5 milhões em 3 milhões de pessoas estejam afetadas nos Estados Unidos da América (31) .

Na Grécia, foi realizado um estudo entre 1982-2003, incluindo 4 distritos no continente e 2 distritos na ilha, onde foi estimado a sua prevalência em mulheres adultas entre 0,02% a 6% (13).

Um outro estudo, neste caso realizado no Reino Unido, mostrou uma prevalência na população adulta de 3 a 4% (23).

1.4 Etiologia

A verdadeira etiologia ainda permanece desconhecida, embora esteja associada a um componente multifatorial envolvendo tanto fatores ambientais, imunológicos como genéticos. Do mesmo modo a prevalência da SS também permanece desconhecida e limitada (devido em parte à heterogeneidade das populações estudadas, aos diferentes testes de diagnóstico e aos diferentes critérios utilizados na avaliação das glândulas salivares e lacrimais), (6, 7) contudo é considerada como a mais comum das várias doenças inflamatórias do tecido conjuntivo (sendo a doença reumática inflamatória a mais frequente).

É geralmente aceite que cerca de 50% dos casos são classificados de PSS e os restantes 50% de SSS, sendo que neste caso, entre 25-50% apresentam doença Reumática Inflamatória. Esta doença pode desenvolver-se durante a infância (raro).

O seu início é mais frequente na idade adulta, com um pico entre os 40-60 anos (2, 29, 42).

1.5 Manifestações clínicas gerais

As glândulas salivares e lacrimais são os principais órgãos afetados pela infiltração linfo-plasmocitária, originando disfunções que desencadeiam um quadro clássico de xeroftalmia e xerostomia. Contudo, outras glândulas exócrinas também podem ser acometidas, como o pâncreas, glândulas sudoríparas, glândulas da mucosa do trato respiratório, gastrointestinal e urogenital (18, 37).

Pacientes com PSS apresentam uma tríade, englobando: olhos secos, boca seca e fadiga. Outros sintomas são também considerados comuns, congregando a dificuldade de concentração, perturbações gastrointestinais, perturbações do sono, pele seca e alterações na mucosa urogenital (43).

As manifestações oculares são variadas e estão relacionadas com a diminuição da secreção lacrimal (xeroftalmia).

Os pacientes podem desenvolver importantes limitações nas suas atividades diárias, resultando numa diminuição da qualidade de vida (37), devido à irritação ocular, fotofobia e turvação visual, sendo que os sintomas costumam agravar-se em ambientes secos (ar condicionado, poeira e vento) durante a leitura e o uso do computador.

A destruição glandular é frequentemente associada a uma resposta inflamatória crônica exacerbada das glândulas afetadas (43), verificando-se alterações histopatológicas do parênquima e ductos das glândulas salivares major (33).

Para além dos efeitos glandulares principais, esta patologia também pode afetar outros sistemas de órgãos, tais como pulmões, rins, fígado e sistema nervoso periférico (43).

Os pacientes com SS apresentam também elevada incidência de linfoma maligno de células B tipo não Hodgkin, quando comparadas com a população sadia (5, 19, 28, 32, 44).

A natureza inflamatória da SS é refletida por alterações significativas nas seguintes variáveis sanguíneas: taxa de sedimentação eritrocitária, níveis da proteína reativa C (20) e Imunoglobulinas (IgG e IgA).

Os níveis de soro de IgG são considerados a variável inflamatória mais discriminativa para a SS, com valores (> 15g/l) em 93% dos pacientes com SS e 20% para SS negativos (21).

A detecção de anticorpos, pela resposta imunológica à inflamação, é um princípio fundamental no que diz respeito ao diagnóstico em testes víricos, sendo que estas moléculas podem ser encontradas na saliva, oriundas das glândulas salivares e soro sanguíneo.

É encontrado sIgA, derivada dos plasmócitos das glândulas salivares, representando um mecanismo específico da resposta imunológica salivar. Em contraste IgM e IgG, são ambas derivadas do fluido gengival crevicular componentes de uma amostra salivar.

Esses anticorpos atuam contra microrganismos e os seus componentes podem ser detetados na saliva, representando assim uma importante fonte de diagnóstico das infecções congênitas e infecções virais agudas (45, 46).

1.5.1 Xerofalmia

O ecossistema da superfície ocular, depende de um ciclo de pestanejar, produção lagrimal normal, de uma córnea e uma conjuntiva consistente, sendo que as lágrimas exibem propriedades mecânicas, lubrificantes e antimicrobianas.

As lágrimas têm um valor significativo na estabilidade do epitélio da córnea e da conjuntiva devido à interdependência entre as várias estruturas que constituem a superfície ocular (47).

Podemos encontrar duas razões principais para o aparecimento do “olho seco”; a primeira está relacionada com a diminuição de secreção das glândulas lacrimais (diminuição da produção de lágrimas) a segunda pela sua perda através de um processo de evaporação rápido. Condição que é originada pela infiltração de linfócitos na região e destruição dos ácinos e dutos das glândulas lacrimais, influenciado por citocinas e mediado por recetores, levando a desconforto ocular, sendo descrito como sensação de “olhos secos”(48, 49).

As manifestações clínicas incluem fotobofia, fadiga visual, visão turva sensação de ardor e comichão ocular.

1.6 Manifestações clínicas orais

As manifestações clínicas orais mais frequentes são a “sensação de boca” seca com necessidade acrescida de a humedecer, cáries frequentes, problemas periodontais, necessidade da ingestão de líquidos durante a noite levando a um comprometimento da qualidade do sono, dificuldade na deglutição de alimentos sólidos, dor à deglutição, aftas e úlceras na mucosa labial, infecções orais (principalmente candidíase) e aumento no volume da glândula parótida (mais frequente na PSS) (31).

1.6.1 Xerostomia ou “boca seca”

Xerostomia ou “boca seca”, é um sintoma mais frequente e comum, caracterizado pela diminuição da quantidade ou qualidade da saliva produzida.

Em praticamente todos os pacientes com SS, são descritos graus de “sensação de boca seca” (31), sendo a sua prevalência de praticamente 100% (50).

Tais manifestações podem levar à ocorrência de mudança no tom da voz, diminuição da acuidade gustativa, língua seca, halitose, gengivite, periodontite, caries dentárias, dificuldade na adaptação do uso de próteses parciais removíveis assim como o aumento da sensibilidade dentária.

Esta condição leva a um quadro incapacitante para os pacientes, afetando bastante a qualidade de vida

1.7 Diagnóstico

1.7.1 Consulta de diagnóstico de Medicina Dentária

O Médico Dentista tem um papel fundamental na deteção e diagnóstico precoce desta patologia (51).

O comprometimento da função das glândulas salivares leva a um aumento do risco de desenvolvimento de lesões cariosas. Contudo, para se obter um correto diagnóstico é necessário uma correta, completa e minuciosa avaliação clínica, sendo necessário recorrer a exames complementares, assim como é fundamental uma abordagem multidisciplinar das várias valências da Medicina (oftalmologia, reumatologia, entre outros).

Durante a recolha de dados é importante saber quais são as queixas específicas do paciente em relação à “sensação de boca seca”, nomeadamente a sua duração, frequência e gravidade. É importante saber toda a história médica e médica dentária, nomeadamente de patologias sistémicas, assim como os medicamentos prescritos ao paciente.

No que respeita à palpação das glândulas salivares major, é importante ter atenção à presença de aumento ou firmeza das mesmas. A quantidade e qualidade da saliva derivada dos dutos deve ser avaliada, assim com a inspeção visual de uma mucosa seca ou avermelhada.

A quantidade salivar produzida deve ser avaliada durante um certo período de tempo através de um teste não invasivo e indolor. Podem e devem ser utilizados questionários de forma a auxiliar o diagnóstico da xeroftalmia, para avaliar o impacto da doença na de vida dos portadores e para acompanhar a evolução da doença e sua resposta aos tratamentos propostos (17-18).

1.8 Cavidade Oral

A cavidade oral é um complexo ecossistema onde hospedeiros microbianos e fatores externos se relacionam e criam um equilíbrio dinâmico que é refletido na saliva (52).

A saliva é colonizada por um enorme número de espécies microbianas que variam em termos de quantidade; exemplo *S.oralis* e *S.Sanguinis* que se encontram presentes em uma elevada quantidade na superfície dentária, em detrimento do *S.Mutans* (53) que está presente na placa supragengival, o que permite um equilíbrio no ecossistema microbiano (54).

A saliva, é considerado como o fluido mais valioso da cavidade oral, preservando/ mantendo a saúde oral (54-57) e contribuindo também para a homeostase (58, 59), sendo um importante meio de diagnóstico (9, 60) de doenças orais e sistêmicas, (61) ao fornecer biomarcadores, tanto para a saúde oral como para estados patológicos (62, 63).

Devido às alterações dos constituintes em doentes com SS, a análise salivar tem recebido grande importância para o diagnóstico precoce (30).

Quando o seu fluxo salivar é reduzido, devido a uma perda de função, pode ser observado nos pacientes quadros de xerostomia (64), disfagia e aumento da suscetibilidade a infecções oportunistas (54).

A saliva é um potente lubrificante e protetor, sendo o primeiro meio de defesa do organismo, para além de protetor, facilita a fala, mastigação e deglutição (46, 65).

Contribui igualmente para a mineralização do esmalte e mantêm a supersaturação de fosfato de cálcio (46, 58).

Num adulto saudável a produção salivar é cerca de 500/800 (17)-1500 ml (num período de 24horas) (66), o que equivale a cerca de 0,5ml/ min. Contudo este fluxo pode ser reduzido na presença de condições patológicas e fisiológicas severas, alterando a qualidade e quantidade de fluxo salivar diário (57, 58).

A hipofunção salivar está primeiramente relacionada com o uso de determinados fármacos, que leva a um quadro de xerostomia.

A xerostomia e a hipofunção das glândulas salivares têm elevada incidência em indivíduos idosos (> 65 anos). Contudo não esta diretamente

relacionado com a idade dos pacientes, mas sim com o aumento do consumo de fármacos.

Os fármacos usados podem levar a quadros de hipofunção salivar, devido à ação destes com a acetilcolina (direta ou indiretamente), incluindo fármacos como anticolinérgicos, anti-histamínicos, anti-hipotensores, depressivos tricíclicos, tranquilizantes e sedativos, β -bloqueadores (que bloqueiam a neuro-transmissão para as glândulas salivares) (17).

Inúmeras disfunções salivares estão associados a determinadas patologias ou em resposta a terapias medicamentosas, o que acrescenta o seu grau de importância como meio de diagnóstico, como é o caso de caries dentárias, doença periodontal e SS (46).

Uma amostra salivar é uma complexa mistura de fluidos (52, 67), derivados de produtos excretos das glândulas salivares e de outras substâncias derivadas da orofaringe, vias áreas superiores, refluxo gastrointestinal, fluido gengival, depósitos alimentares e constituintes derivados sanguíneos. Contudo é constituída por 99% (52) de água (45, 55, 64-66, 68).

As glândulas salivares *major*, incluem as glândulas parótidas (glândulas serosas), que se encontram localizadas atrás dos primeiros molares maxilares; glândulas submandibulares e sublinguais (glândulas mistas – componente serosa e mucosa) que se encontram localizadas no soalho da cavidade oral (53, 55, 58, 62, 63).

A secreção da parótida e submandibular apresentam uma elevada e comparável concentração de níveis proteicos, nomeadamente da proteína rica em prolina, chegando aos 70% da sua secreção (69).

Em relação à quantidade de secreção, a glândula parótida contribui em cerca de 23 a 25% do fluxo salivar e a submandibular em 65% a 70% (17, 58).

A saída e composição salivar dependem da atividade do sistema nervoso autónomo (SNA) (53).

A parte serosa das glândulas está sobre controlo do sistema nervoso simpático (SNS) e a parte mucosa está sobre controlo do sistema nervoso simpático e parassimpático (SNP).

A estimulação α e β adrenérgica e estimulação colinérgica (neural ou farmacológica) pode modificar a quantidade, viscosidade e a componente iónica

da saliva, levando a uma alteração da concentração das proteínas encontradas (17, 58, 63).

A estimulação do sistema nervoso parassimpático, resulta num fluxo salivar contendo um baixo nível de componentes orgânicos e inorgânicos, enquanto a estimulação do sistema nervoso simpático produz um baixo volume rico em proteína rica e K^+ .

A presença de alimentos na boca pode afetar a composição salivar, sendo um estímulo para a libertação de proteínas seletivas. Após as refeições há um aumento das proteínas totais com deteção da α -amilase (58).

Sem estimulação exogénea ou farmacológica há sempre presente uma fluxo salivar contínuo, denominado de secreção basal não estimulada, que lubrifica o tecido oral (68).

As glândulas *minor* que contribuem para a produção salivar, são as glândulas da mucosa labial, glândulas palatinas e glândulas Von Ebner's (presentes na mucosa da língua) (55, 62). Os termos *major* e *minor* são referentes ao seu tamanho (70).

1.8.1 Composição Salivar

Composta por uma componente orgânica e outra inorgânica (71).

A componente orgânica compreende produtos de secreção (ureia, ácido úrico e creatinina), produtos de putrefação (putrescina, cadavarina, lípidos dos quais o colesterol e ácidos gordos), mais de 400 tipos de proteínas, sendo as mais relevantes de origem glandular (α -amilase, histaminas, cistatinas, lactoferrinas lisozimas, mucinas (MUC5B E MUC7) (54, 65, 67) e proteínas ricas em prolina cerca de 35-40%(53)) ou derivados do plasma (albumina, imunoglobulina A (slgA) e transferrina). No que concerne a componente inorgânica podemos encontrar iões como Na^+ , K^+ , HCO_3^- , Mg^{2+} , NH_3 , (30, 45, 62) HPO^{2-}_3 , Cl^- , Ca^{2+} (30, 53, 71).

Os componentes salivares variam de acordo com as componentes serosas e mucosas das glândulas salivares (57).

As componentes salivares são também de origem não glandular. Desta forma o fluido oral não pode ser considerado apenas com origem nas secreções

das glândulas salivares, pois contém outros fluidos oriundos da mucosa da orofaringe (transudado de células da mucosa oral, bactérias, fungos, e fluido extracelular derivado do epitélio do fluido crevicular) (58).

O fluido crevicular produz aproximadamente cerca de 2-3 μ l/h por dente e pode ser considerado com o plasma transudado. O fluido contém detritos alimentares e componentes derivados do sangue (transferidos ativa ou passivamente), como as proteínas plasmáticas, eritrócitos e leucócitos, no caso de existir uma inflamação ou lesão da mucosa oral (58).

Evidências vindas de pacientes com hipossecreção salivar, como é o caso de pacientes com SS, sugerem que a saliva tem um papel essencial na normal mastigação dos alimentos. A alimentação pode ser um processo doloroso e desconfortável devido à falta de lubrificação da cavidade oral, da mesma forma que potencia a lubrificação, a saliva previne a expansão bacteriana e reduz o risco de cárie dentária (17, 64).

1.9 Funções dos componentes salivares

Os componentes salivares apresentam importantes funções nomeadamente (67): Bicarbonatos, Fosfato e Ureia atuam na modelação do pH e tamponamento salivar; Macromoléculas e Mucinas que permitem a agregação/adesão de microrganismos e contribuem para o metabolismo da placa dentária; Cálcio, Fosfato e Proteínas trabalham em conjunto funcionando como fatores anti-solubilidade assim como moduladores do processo de desmineralização/ mineralização; Imunoglobulinas, Proteínas e Enzimas proporcional a ação antibacteriana (70).

1.9.1 Proteínas salivares- Importância

A saliva humana contém inúmeras proteínas e péptidos que apresentam funções biológicas importantíssimas (63), como por exemplo, atividade antibacteriana, lubrificação ou digestão, assim como ajuda na manutenção do sistema de homeostase da cavidade oral. Contudo, a maioria das funções proteicas ainda permanece desconhecida (72).

Através de estratégias bioquímicas convencionais que se focaram na individualização molecular ou num conjunto específico de proteínas salivares, permitiram a sua identificação (62).

Novos estudos para a análise salivar tem utilizado técnicas proteómicas, que não só aumentam os conhecimentos dos processos fisiológicos da cavidade oral para ajuda na identificação de novas proteínas, bem como na deteção de alteração dos níveis proteicos em determinadas condições fisiológicas e patológicas (62, 72).

1.10 Análise salivar

A análise salivar tem vindo a ser uma fonte importante na avaliação da evolução salivar no que diz respeito a implicações patológicas e fisiológicas, sendo uma ferramenta no diagnóstico de doenças com interação em outros sistemas, como é o caso de doenças autoimunes (45, 46, 73, 74).

Uma compreensão da fisiologia da cavidade oral é necessária quando se pretende entender a origem dos constituintes que fazem parte da saliva (17).

Vários testes têm sido propostos para avaliar o envolvimento lacrimal e salivar na PSS (21).

Os procedimentos laboratoriais mais comumente utilizados para o diagnóstico, envolve a análise celular e química dos constituintes sanguíneos (75).

Outros fluidos biológicos tem sido utilizados para o diagnóstico desta patologia, sendo que a saliva oferece uma vantagem distintiva (46, 75).

1.10.1 Sialometria

Valores normais e patológicos foram dados por Bertram's na sua monografia em xerostomia, onde mostrou que o sexo feminino apresenta uma quantidade menor de saliva quando obtida por sialometria não-estimulada, quando comparados com a quantidade salivar no sexo masculino nas mesmas condições (2).

A sialometria consiste na medição do fluxo salivar, que pode ser realizada em condições basais (sialometria não-estimulada) e irá refletir o fluxo salivar basal (38) ou após estimulação (habitualmente com ácido cítrico), de forma a quantificar a saliva total (10, 76).

Na prática diária são considerados valores patológicos salivares (não-estimulada) quando inferior a 1,5ml/15min (com exceção se o doente estiver a ser medicado, com efeitos na redução da produção salivar) (2, 4).

Estão descritos vários métodos de recolha de saliva, sendo o mais prático o da salivação não-estimulada.

O relatório dos biomarcadores salivares tem vindo a expandir-se, graças à de um *kit* que permite medir biomarcadores proteicos na saliva (17).

1.10.2 Colheita salivar

Vários métodos tem sido propostos para a colheita de uma amostra salivar (62).

A análise salivar como meio de diagnóstico, tem um elevado potencial e interesse em crianças, pacientes geriátricos (60), pacientes com deficiência mental e indivíduos dependentes de uso de drogas intravenosas (46), visto que a colheita está associada a uma baixa necessidade de compliance, quando comparados à colheita de amostras sanguíneas.

Além disso, a análise salivar pode fornecer uma abordagem de custo-benefício para a triagem de grandes populações apreciável (46).

Uma amostra salivar pode ser colhida de forma não invasiva (60, 72) e por indivíduos com treino limitado sendo que não é necessário equipamento especial para realizar a colheita (30, 45), o que lhe confere uma vantagem apreciável quando comparada com a colheita sanguínea, o que elimina qualquer desconforto ou dor associada (30, 56), contudo a amostra salivar requer centrifugação ou filtração de forma a remover mucinas precipitadas ou contaminações celulares (56).

Para a colheita, os pacientes devem ser instruídos sobre protocolo a realizar na colheita, nomeadamente no que diz respeito ao tempo correto, que inclui a não escovagem antes da colheita e a não ingestão de alimentos ou

líquidos (exceto água), contudo deve mascar pastilha nos 30 minutos antes da recolha da amostra salivar e bochechar com água, de preferência destilada (58).

A standardização da colheita salivar tem grande importância na análise salivar, devido aos vários fatores que afetam a composição e fluxo salivar (58, 62, 77).

A não standardização dos métodos utilizados contribui para uma enorme variabilidade dos parâmetros salivares analisados, nomeadamente, composição, viscosidade e propriedades lubrificantes (62).

A colheita salivar pode ser realizada diretamente das glândulas salivares de um indivíduo, nomeadamente das glândulas *major* (parótida, submandibular, sublingual), e das glândulas *minor*.

A secreção de ambas as glândulas salivares submandibular e sublingual penetram na cavidade oral pelos ductos de Wharton's, sendo que a recolha seletiva da saliva destas duas glândulas é difícil.

A colheita e avaliação da secreção individual é importante para a deteção de patologias glandulares específicas, infeções e obstruções.

A saliva pode ser colhida com ou sem estimulação (3, 63).

Amostra de saliva não-estimulada pode ser colhida por diversos dispositivos coletores de fluidos orais (58, 63):

- 1) Babar passivamente (sem movimentos orais), permitindo que a saliva escorra pelo lábio inferior para um frasco pequeno de plástico;
- 2) Cuspindo diretamente para um pequeno frasco coletor (a amostra colhida contém 14 vezes mais bactérias do que as amostras colhidas através da baba, o que pode afetar o armazenamento e conseqüentemente a análise dos vários constituintes presentes.

Amostra salivar estimulada, pode ser obtida por movimentos orais como a mastigação suave ou pelo uso de ácido cítrico.

O ácido cítrico potencia a estimulação e secreção das glândulas salivares, que faz com que haja redução do pH (<3.0), contudo afeta a análise dos resultados por interferir com as ligações dos anticorpos (58).

Os dispositivos mais usados são cotonetes dentários esterilizados (*Salivette*) (74, 78), sendo o cotonete colocado na zona da mucosa da bochecha por cerca de 1 -2 minutos e de seguida introduzido num pequeno frasco.

Existem variações significativas entre os vários métodos, quanto ao tempo de recolha na sialometria não estimulada, mas existe consenso quanto à definição de fluxo salivar diminuído, o qual consiste em débito inferior a 0,1ml/min (10).

O fluxo salivar da saliva não estimulada é mais afetado pelo decréscimo de hidratação, mas também pela estimulação olfatória, exposição à luz, posição corporal assim como, fatores diurnos e sazonais.

Tendo em conta que uma das principais dificuldades na relação médico-paciente é a diferente valorização das queixas, é importante a existência de instrumentos que permitam avaliar o grau de impacto ou morbidade causada por cada sintoma. Isto irá permitir avaliar e satisfazer as necessidades terapêuticas específicas numa base individual com conseqüente melhoria do estado geral de saúde e qualidade de vida (10).

As glândulas salivares são compostas por células epiteliais especializadas e a sua estrutura pode ser dividida em duas regiões específicas: região acinar e ductal (53).

A região acinar é o local onde o fluido é formado e onde a maioria das proteínas intracelulares são sintetizadas e excretadas. Aminoácidos entram nas células acinares por transporte ativo e após síntese das proteínas intracelulares, a maioria das proteínas são armazenadas, sendo feita em grânulos que são posteriormente libertados após resposta à estimulação excretora.

Três modelos tem sido descritos para descrever a excreção do fluido acinar, incluindo o transporte ativo por aníões dentro de um lúmen e passagem de água, de acordo com o gradiente osmótico do fluido intersticial no lúmen salivar.

O fluido inicial é isotónico no meio natural e é oriundo da vasculatura local, enquanto as células acinares são permeáveis à água, já as células do ducto não o são.

Em contraste, as moléculas do soro alcançam a saliva por difusão, necessitando de atravessar cinco barreiras: Paredes capilares, Espaço intersticial, Células da membrana basal das células do ácino ou células do ducto, o Citoplasma do ácino ou células do ducto e Células da membrana do lúmen.

1.10.3 Testes glandulares salivares

Exames para diagnóstico do olho seco e avaliação da superfície ocular:

- Biomicroscopia (presença de detritos no filme lacrimal, vasodilatação dos vasos sanguíneos, restos celulares, defeitos epiteliais e ulcera da córnea.);
- Testes de *Schirmer*. (basal com anestésico e com estimulação da mucosa nasal);
- Coloração da superfície ocular com corante de Rosa Bengala;
- Fluoresceína ou lisamina verde: Avaliação do menisco lacrimal: geralmente escasso ou ausente; Avaliação do tempo de rutura do filme lacrimal;
- Teste do “*clearence*” do filme lacrimal;
- Medição da osmolaridade lagrimal (aumentada);
- Citologia de impressão: Pode evidenciar alterações das células calciformes (embora o mecanismo que leve a alteração das células calciformes (cerato-conjuntiva seca) ainda que seja motivo de controvérsia, supõe-se que ocorra secundariamente à hiper-osmolariedade do filme lacrimal ou à produção de Auto anticorpos diretamente contra as células calciformes.

1.10.4 Teste de Schirmer

O teste de Schirmer é realizado através de uma tira de papel absorvente com 0,5 × 30 mm, que é colocada na margem palpebral inferior. Os doentes são instruídos a não utilizar substitutos lacrimais ou pilocarpina nas 6 horas anteriores ao teste. A medição da quantidade de papel molhada é realizada após 5 minutos, sendo que valores inferiores a 5 mm são considerados anormais (4, 28). As queixas dos doentes podem ser avaliadas utilizando 3 questionários publicados na literatura internacional – o «Xerostomia Inventory» (XI), «Oral Health Impact Profile-short form» (OHIP) e «Ocular Surface Disease Index» (OSDI).

1.10.5 Proteômica

A saliva tem sido vista como a “janela do corpo”, que reflete os estados de saúde. De fato é do conhecimento que inúmeras substâncias do sangue são também encontradas na saliva, contudo em concentrações menores (17, 74).

O rápido desenvolvimento molecular e celular no último século tem-nos guiado para um melhor entendimento de uma série de patologias (52, 59).

Estas perturbações são manifestadas por alterações proteicas (79).

A análise do Proteoma da saliva humana (HSP) é um constante desafio, baseando-se na identificação e quantificação total de proteínas na saliva humana (72), contendo uma enorme variedade de proteínas, assim com uma apreciável concentração (30, 56, 74, 80).

Esta evolução e sensibilidade tecnológica permite uma determinação cerca de 3397 proteínas, 605 identificadas em condições patológicas e 51 estão presentes em doenças (17, 52, 56).

Técnicas proteômicas apresentam assim um elevado potencial no diagnóstico precoce de doenças e detecção de biomarcadores (32, 46, 56, 81).

De acordo com o Instituto Nacional de Saúde, (30) o termo biomarcador refere-se a parâmetros biológicos que nos indicam a relação entre o processo biológico normal e processos patológicos, diagnóstico e prognóstico de doenças ou respostas farmacológicas face à terapêutica adotada (30, 56, 61).

1.10.6 Critérios para os biomarcadores (30):

- Um dos principais produtos da modificação oxidativa que pode estar implicado diretamente no desenvolvimento de uma doença;
- Produto estável, não suscetível a perdas durante o armazenamento ou que sofra alterações;
- Representante do equilíbrio entre a produção do dano oxidativo e libertação;
- Determinada por um ensaio analítico;
- Específico sensível e reprodutível, livre de qualquer dúvida ou de interferência;

- Acessibilidade num tecido alvo;
- Detetável e mensurável dentro dos limites de deteção dos procedimentos analíticos.

Tem sido estudado uma amostra proteómica salivar usando um gel em eletroforese bidimensional, (2-DE) que pretende separar componentes proteicos e espectrometria de massa para identificar os péptidos produzidos pelas proteínas de interesse (9, 46, 56, 62, 63, 72, 79, 82).

A técnica 2-DE é a mais usada na área da proteómica desde o seu desenvolvimento em 1975 por O'Farrel.(79) Com esta evolução mais de 300 proteínas foram identificadas numa amostra salivar (34, 62, 83, 84).

Este método permite fornece informação sobre modificações e proteólise, contudo também apresenta limitações como a dificuldade de observação de proteínas de baixo ou elevado peso molecular, proteínas altamente ácidas ou básicas e proteínas altamente hidrofóbicas (46, 62, 63, 79, 85).

Dependendo do tamanho do gel e do p H do gradiente usado, 2-DE pode determinar mais de 5000 proteínas em simultâneo (79).

1.10.7 Proteoma- encontrados em amostras salivares humanas

O instituto de pesquisa dentário e craniofacial nacional dos estados unidos (NIDGR) fundou uma base de dados para concentrar o máximo de informação sobre proteínas e péptidos encontrados na saliva (56).

O maior número de proteínas encontradas foram α -amilase, proteínas ricas em prolina, cistatina, histamina e mucina, contudo existem outras que participam em processos metabólicos, cascata de coagulação, comunicação/adesão celular, e outros processos importantes (56, 63).

1.10.8 Proteínas encontradas na SS

Pacientes com SS demonstram concentrações elevadas de Na^+ , Cl^- , IgG, lisozima, matriz metaloproteinase (MMP -2 e MMP-9) na glândula parótida, assim como o aumento da concentração da lactoferrina, IgA, β 2-microglobulina(11), albumina, tanto na glândula salivar como na amostra salivar, e aumento das

concentrações da calicreína e cistatina-SA, C e D (11) numa amostra salivar (9, 30). Isto também pode indicar que o perfil proteico na SS contém um elevado número de proteínas inflamatórias e uma diminuição do número de proteínas acinares (30, 86).

Níveis de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2, são mensurados usando Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), que é um teste imunoenzimático que permite detetar anticorpos específicos, é usado no diagnóstico de várias doenças que induzem a produção de imunoglobulinas e pelo *sandwich* EIA (30, 87).

Estudos recentes sugerem que níveis de MMP9/TIMP-1 e MMP-9 são significativamente mais elevados do que os encontrados em pacientes saudáveis (30, 86, 87).

Sugerindo que o aumento geral de MMP-9/TIMP-1 do que apenas um aumento de MMP-9, em pacientes com a SS, esta fortemente correlacionado com a destruição glandular e dos tecidos dos dutos salivares (30).

O teste ELISA mostra-nos um aumento significativo dos níveis de lactoferrina e β 2-microglobulina em pacientes com PSS.

A β 2-microglobulina é uma molécula caracterizada por cadeias leves, sendo o maior complexo de histocompatibilidade da classe I antigénio presente na superfície da membrana de várias células nucleadas, incluindo infiltrados de linfócitos e epitélio de glândulas salivares.

O aumento dos níveis desta proteína na saliva em pacientes com PSS pode estar relacionado com a atividade inflamatória glandular em detrimento do número de linfócitos (30).

A lactoferrina é um produto das células intercaladas dos dutos e das células acinares difusas da glândula parótida (30).

II OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

A realização do presente trabalho pretende identificar o perfil epidemiológico da Síndrome de Sjögren e enfatizar o potencial valor de diagnóstico salivar

A proposta para esta dissertação surge na tentativa de um exame complementar que nos permita realizar o diagnóstico de doenças sistémicas e com manifestações orais de forma precoce e o menos invasiva possível, tendo em vista uma menor necessidade de *compliance* dos pacientes associado a custos mais apreciáveis.

Deste modo o valor de diagnóstico salivar tem vindo a ganhar importância como meio complementar de diagnóstico.

Objetivos deste trabalho

- Verificar na literatura estudos de proteómica da saliva oral de pacientes com SS.
- Atualizar o OralCard com os dados recolhidos a partir da pesquisa bibliográfica efetuada
- Relacionar achados resultantes da revisão bibliográfica com as principais alterações sialoquímicas de pacientes com a SS e as suas manifestações na cavidade oral.
- Salientar a importância de que para além dos sintomas clássicos da SS, e da pesquisa de achados positivos através de uma variedade de métodos (incluindo a anamnese da paciente, estudo das proteínas séricas, biópsia de glândula labial, sialoquímica, sialometria e a sialografia) o diagnóstico através da proteómica salivar pode tornar-se útil.
- Relato de um caso clínico com os respetivos sinais e sintomas que caracterizam a SS, perspetivando o diagnóstico salivar como sendo um método complementar de diagnóstico acessível e não ser cruento.

III. MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta seção exibe as metodologias efetuadas no decurso do presente trabalho de forma a atingir os objetivos propostos.

3.1 *Levantamento do Proteoma Salivar na SS*

A pesquisa das proteínas salivares foi realizada usando como recurso a ferramenta bioinformática OralCard (52, 89), utilizando o termo “Sjogren's Syndrome”, que nos permite ter acesso a dados de diversos estudos de proteômica da cavidade oral a partir de anotações manuais.

Deste modo a identificar novos dados ainda não depositados no OralCard, procedeu-se a uma pesquisa bibliográfica na B-on®, Pubmed®, Medline® e Science direct®, utilizando como termos de pesquisa: “Sjogren's Syndrome”, “saliva”, “prote*” e “diagnostics.

3.2 *Caracterização do proteoma salivar na SS*

3.2.1 *Distribuição das proteínas da SS por origem da amostra*

Para esta análise foi utilizado a ferramenta especializada no cálculo e desenho de Diagramas de Venn:

<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>

Esta ferramenta irá permitir calcular as intersecções existentes de diversas listas de elementos (máximo de 30 listas). Com a sua utilização adquire-se um resultado textual que permitirá identificar quais os elementos que estão em cada uma das intersecções ou se são únicos numa determinada lista. Fornece a possibilidade de criação de um diagrama de Venn simétrico (padrão) ou assimétrico.

A informação relativa a cada proteína foi obtida recorrendo à base de dados UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>)(90).

A UniProtKB é uma base de dados que nos fornece informação a nível da estrutura e função de cada proteína, assim como o respetivo nome, estado de revisão, organismos onde foram identificados, domínios, interações, estruturas tridimensionais, entre outros (Figura 1).

The image shows the UniProtKB homepage. At the top, there is a navigation bar with tabs for Search, Blast, Align, Retrieve, and ID Mapping. Below this is a search interface with a dropdown menu set to 'Protein Knowledgebase (UniProtKB)', a text input field for a query, and buttons for Search, Advanced Search, and Clear. The main content area is divided into several sections: 'WELCOME' with a mission statement, 'What we provide' which includes a table of services, 'NEWS' with a recent release announcement, 'SITE TOUR' with a thumbnail image, and 'PROTEIN SPOTLIGHT'.

Service	Description
UniProtKB	Protein knowledgebase, consists of two sections: <ul style="list-style-type: none"> ★ Swiss-Prot, which is manually annotated and reviewed. ★ TrEMBL, which is automatically annotated and is not reviewed. Includes complete and reference proteome sets .
UniRef	Sequence clusters, used to speed up sequence similarity searches.
UniParc	Sequence archive, used to keep track of sequences and their identifiers.
Supporting data	Literature citations, taxonomy, keywords, subcellular locations, cross-referenced databases and more.

Figura 1 Página inicial da base de dados UniProtKB

3.3 Caracterização funcional do proteoma da SS

Com o objetivo de melhor entender e identificar os processos biológicos em que participam as proteínas salivares que se encontram envolvidas na Síndrome de Sjögren recorreu-se à ferramenta PANTHER (*Protein ANalysis THrough Evolutionary Relationships*) (<http://pantherdb.org>) (91, 92).

A interpretação funcional dos resultados passa por utilizar ferramentas bioinformáticas para identificar as ontologias (processo biológico, função molecular e componentes celulares) em que participam estas proteínas salivares alteradas, recorrendo-se ao PANTHER(92) e ao STRING(93).

PANTHER permite obter informação sobre um gene de interesse; explorar famílias de proteínas, funções moleculares, processos biológicos, componentes celulares e vias de sinalização; gerar listas de genes que pertencem a determinadas famílias ou subfamílias de proteínas, que apresentam uma determinada função molecular ou participam num processo biológico ou via de sinalização; e analisar listas de genes, proteínas ou transcritos de acordo com categorias baseadas na família, função molecular, processo biológico, componente celular e via de sinalização.

The screenshot displays the PANTHER Classification System web interface. The main content area is titled 'Gene List Analysis' and contains a form for configuring a batch analysis. The form is divided into three main sections:

- 1. Enter IDs and or select file for batch upload.** This section includes a text input for 'Enter IDs:' with the example values 'O00299', 'P00738', and 'P01024'. Below this is a file upload area for 'Upload IDs:' with a 'File format' dropdown and a 'select' button. A note indicates that users must be logged in to select lists from their workspace.
- 2. Select organism.** This section features a dropdown menu with the following options: 'Homo sapiens', 'Mus musculus', 'Rattus norvegicus', 'Gallus gallus', and 'Danio rerio'. 'Homo sapiens' is currently selected.
- 3. Select Analysis.** This section contains four radio button options:
 - Functional classification viewed in gene list
 - Functional classification viewed in pie chart
 - Statistical overrepresentation test
 - Statistical enrichment test

A 'submit' button is located at the bottom of the form. The page also includes a 'Help Tips' sidebar with instructions on how to use the tool, a search bar, and various navigation links at the top and bottom.

Figura 2 Sistema de análise em grupo da ferramenta de classificação do PANTHER.

As opções selecionadas, correspondem às definições utilizadas para analisar os conjuntos de proteínas anotados na SS

Em primeiro lugar insere-se os códigos do UniprotKB de identificação de proteínas anotadas na SS, no sistema de análise em grupo da ferramenta de classificação funcional do PANTHER, onde se seleciona a espécie humana e o tipo de análise desejado, obtendo-se como resultado uma lista com uma série de informações acerca das proteínas inseridas (Figura 2).

Posteriormente, escolhe-se o tipo de classificação desejado: segundo as funções moleculares, os processos biológicos, os componentes celulares, as classes proteicas e/ou as vias de sinalização (Figura 3).

The screenshot shows the PANTHER Classification System interface. At the top, there is a navigation bar with links for Home, About, PANTHER Data, PANTHER Tools, Workspace, Downloads, and Help/Tutorial. Below this is a search bar with options to convert the list to a different format and send it to a specific email. The main content area displays a table of search results. The table has columns for Gene ID, Gene Name, Gene Symbol, Mapped ID, Ortholog, PANTHER Family/Subfamily, GO Molecular Function, GO Biological Process, GO Cellular Component, PANTHER Protein Class, Pathway, and Species. The third row is highlighted, showing detailed annotations for a heat shock protein.

Gene ID	Gene Name	Gene Symbol	Mapped ID	Ortholog	PANTHER Family/Subfamily	GO Molecular Function	GO Biological Process	GO Cellular Component	PANTHER Protein Class	Pathway	Species
1. HUMAN Ensemble ENSG00000230685 UniProtKB P00299	Chloride intracellular channel protein 1	CLIC1	000299	No Panther Hit							Homo sapiens
2. HUMAN Ensemble ENSG00000226417 UniProtKB P00299	Chloride intracellular channel protein 1	CLIC1	000299	No Panther Hit							Homo sapiens
3. HUMAN Ensemble ENSG00000106211 UniProtKB P04792	Heat shock protein beta-1	HSPB1	P04792	HEAT SHOCK PROTEIN, BETA-1 (PTH511527; SF114)	structural molecule activity	immune system process protein folding muscle contraction visual perception response to metabolic response to stress	structural protein slipstream	p38 MAPK pathway >heat shock protein 27K0 Anoikogenesis >Heat-Shock Protein 27 VEGF signaling pathway >Heat-Shock			Homo sapiens

Figura 3 Seleção do tipo de classificação por ontologia desejado, na ferramenta PANTHER

Nesta abordagem foram utilizadas as classificações segundo os processos imunológicos

3.4 Processos biológicos mais alterados na SS relativamente ao ORALOMA normal (pessoa saudável)

Foi efetuada comparação da Diferença fracional entre o Oraloma Total e as proteínas encontradas na Síndrome Sjögren, para o efeito foi utilizada a base de dados OralCard (<http://bioinformatics.ua.pt/OralCard/>)(52, 89).

Para quantificar a diferença entre os valores observados e os valores esperados para cada item, calculou-se a diferença fraccional que consiste em:

$$DF = \left(\frac{Z_t - \hat{Z}_t}{Z_t} \right)$$

Em que Z_t representa o valor observado e \hat{Z}_t o valor esperado e DF a diferença fraccional.

A diferença fraccional é, então, o valor cuja multiplicação pelo valor esperado traduz quanto deveria ser adicionado ou subtraído ao valor observado para igualar o valor teoricamente esperado.

Recorrendo a uma distribuição binomial para calcular a probabilidade de se observar um resultado tão extremo que contradiga o que se inferiu, calculou-se o *p-value*.

Quanto menor o *p-value* menor probabilidade do resultado apresentado ser devido à aleatoriedade. Consequentemente um resultado é tanto mais significativo quanto menor for o seu *p-value*.

3.5 Visualização esquemática da rede interatómica das proteínas da SS

Após registar que proteínas se encontram alteradas na SS, em que funções moleculares e processos biológicos intervêm, interessa interpretar a rede interatómica em que participam essas proteínas. Para isso recorreu-se à ferramenta STRING (93) .

A ferramenta bioinformática STRING (93), (<http://string-db.org/>) (Figura 4), permite introduzir todos os códigos obtidos no UniProtKB das proteínas da SS e obter uma visualização esquemática da rede interatómica das proteínas salivares de interesse.

O STRING baseia-se em quatro fontes de informação, o que permitirá gerar redes interatómicas.

- Dados de genómica
- Dados experimentais diretos
- Co-expressão
- Text mining

O STRING neste momento apresenta a versão 9.1 e possui informação de 5 214 234 proteínas provenientes de 1133 organismos.

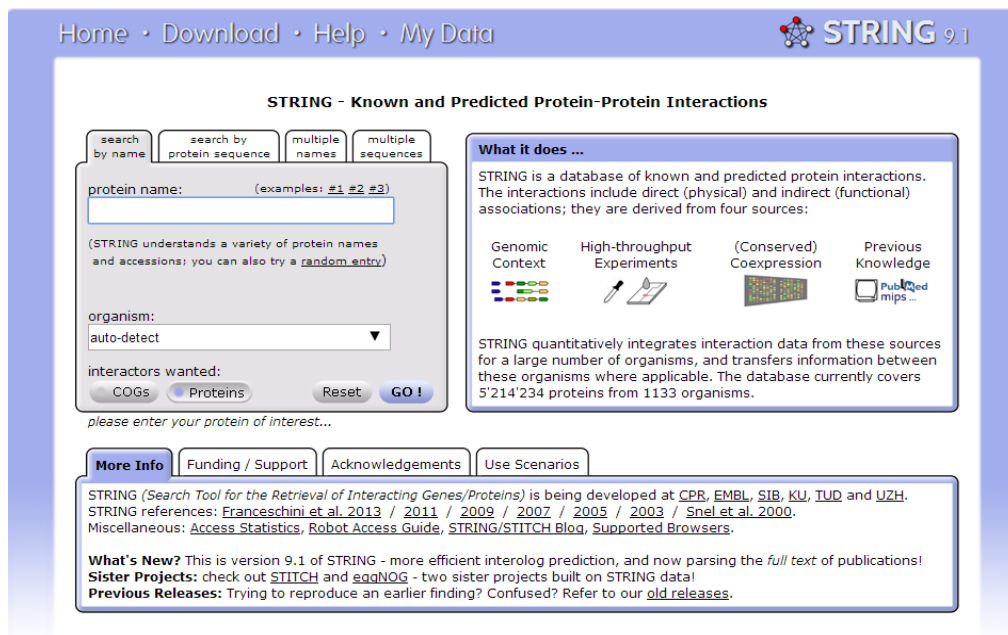


Figura 4 Página inicial da ferramenta bioinformática STRING, para estudos de interatômica

Isto irá permitir verificar quais as suas interações e correlacionar as funções desempenhadas com a SS.

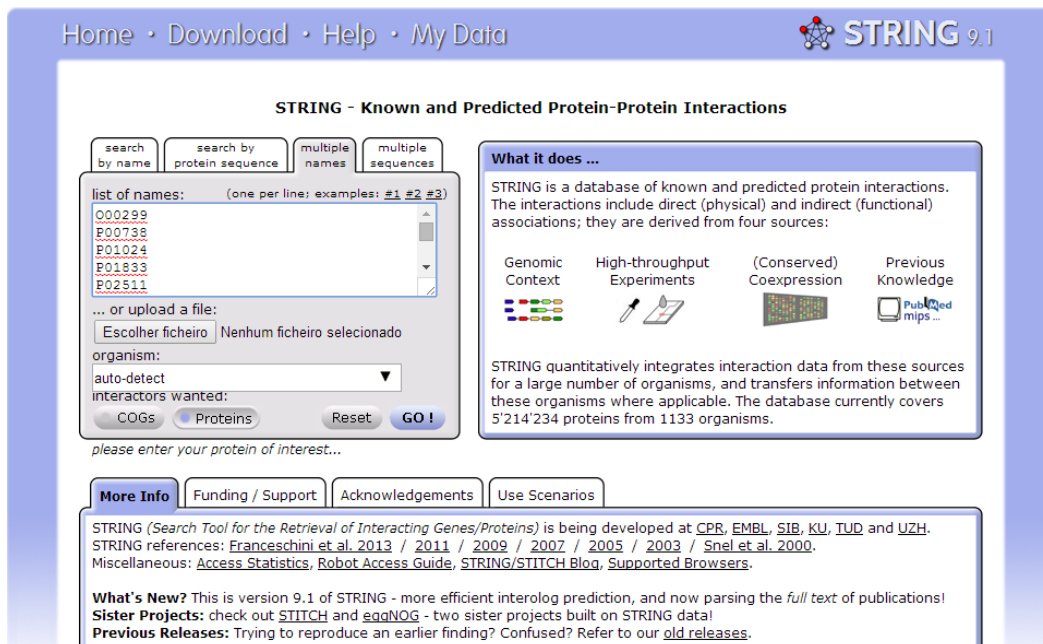


Figura 5 Página de "input" da ferramenta bioinformática STRING mostrando a introdução das proteínas alteradas na SS

No separador (terceiro) “Multiple Names” (figura 5) colocam-se todos os códigos obtidos anteriormente através da ferramenta UniProtKB, das proteínas de interesse, da SS; Após introdução dos códigos “List of Names” clica-se em “GO!”.

Após essa etapa estar concluída, aparecerá a listas das proteínas a integrar na rede de interatômica (anteriormente introduzidas” List Of Names”).

Nas redes de interatômica geradas no STRING, as linhas que se encontram a unir as várias proteínas podem sofrer alteração conforme o parâmetro selecionado.

Parâmetro:

- Confiança - As linhas que traduzam interações de maior confiança surgem mais espessas que as de menor grau de confiança;
- Evidência - Existe mais que uma linha para cada interação, cada cor das linhas corresponde a uma fonte de informação;
- Ação - cada cor de cada linha é um tipo de ação entre as duas proteínas.
- O STRING disponibiliza funcionalidades que facilitam a interpretação dos dados de interatômica.

É possível evidenciar grupos de proteínas de acordo com ontologias tais como: função molecular, processo biológico, componente celular e via de sinalização.

Para se conseguir visualizar processos biológicos de interesse e verificar quais as proteínas envolvidas, o STRING apresenta uma opção “advanced” (Figura 6):



Figura 6 Imagem ilustrativa das opções do STRING

Depois de selecionar a opção “advanced” irá aparecer as opções “Save” “Layout” “Clustering” “Enrichment” e “Options”, escolhe-se a opção “Enrichment”

(Figura 7), nessa opção irá aparecer o item “GO Biological Processes”, este será o de interesse.

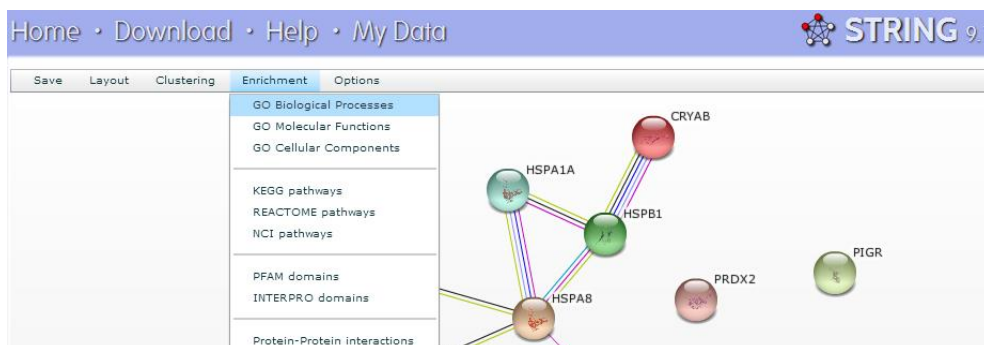


Figura 7 Imagem ilustrativa Enrichment - Processos Biológicos

Após selecionado os “Processos Biológicos” irá aparecer um quadro onde se pode usar Filtros, estes irão permitir visualizar as proteínas envolvidas nesses processos de interesse (Figura 8).

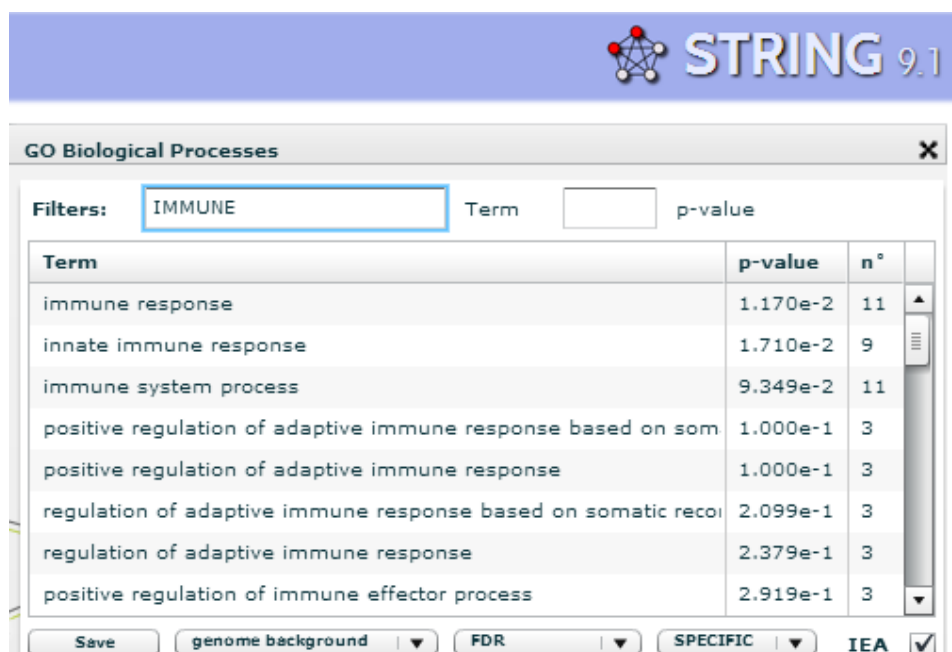


Figura 8 Imagem ilustrativa Usando o Filtro de interesse: “IMMUNE” onde identifica as proteínas alteradas da SS correspondentes aos processos biológicos imunes

O Filtro utilizado foi “IMMUNE”, pois serão as proteínas de interesse possivelmente envolvidas na SS, de seguida é seleccionar qual o termo que se pretende e verificar na rede interatómica quais as proteínas envolvidas (Figura 8).

3.6 Case Report

A SS, doença sistémica autoimune, afeta principalmente as glândulas exócrinas. Caracterizada clinicamente por olhos secos (ceratoconjuntivite seca) e boca seca (xerostomia), porém fenómenos como vasculite cutânea, fenómeno de Raynaud, artrite, comprometimento pulmonar e envolvimento do sistema nervoso periférico também pode ocorrer. Divide-se em primária (PSS) e secundária (SSS) segundo apareça isolada ou associada a outras doenças reumáticas autoimunes, que se apresenta como um desafio diagnóstico. É necessária a presença de 4 entre 6 critérios do «*American-European Consensus Group*», mas o diagnóstico definitivo nem sempre é fácil, sobretudo no que respeita aos exames funcionais.

3.6.1 Relato de caso

Paciente M.M.M.V, sexo feminino, de raça branca, com 55 anos de idade natural do Porto procurou o Serviço de Fisiatria do Hospital Escola - Gondomar referindo dores osteoarticulares, persistentes de ombros, joelhos, pés e mãos, progressivas, cada vez mais incapacitantes, de longa evolução e sem sono reparador. A doente referia sensação de constante obstrução nasal e secreção nasal e da orofaringe além de ardência e prurido ocular resistentes à diferente medicação hidratante, negava outras doenças, uso contínuo de terapêutica e alergias. À inspeção intra oral, foram observados alterações de coloração e textura do dorso da língua (atrofia das papilas) e aftas orais. Após anamnese e história clínica detalhada, foram solicitados vários exames laboratoriais e radiográficos, assim como testes funcionais, sialometria não-estimulada, biópsia salivar e o teste ocular de *Schirmer*. O tempo de colheita de saliva foi de 10 minutos. O tempo de recolha de fluido lacrimal foi de 5 minutos.

3.6.2 Discussão de Caso

À inspeção intra oral, foram observados alterações de coloração e textura do dorso da língua (atrofia das papilas), aftas orais e glândulas salivares minor hipertrofiadas no lábio inferior. Planeou-se a biópsia de glândulas salivares minor da região do lábio inferior (Figura 9). Ao exame físico salientamos o atingimento articular das mãos e pés (Figura 10).



Figura 9 biópsia das glândulas salivares minor do lábio inferior. A avaliação histopatológica apresentou agregados de linfócitos, células plasmáticas e macrófagos adjacentes ao ácino glandular



Figura 10 Ao exame físico salientamos o atingimento articular das mãos e pés

Numa consulta especializada da SS, a disponibilidade imediata de testes funcionais, o teste ocular de *Schirmer* e a sialometria, constituem uma mais-valia na triagem e classificação do PSS ou síndrome seco.

Foi realizado o teste de *Schirmer*, com uma tira de papel absorvente com 0,5 x 30 mm, colocada na margem palpebral inferior (Figura 11). A medição da quantidade de papel molhada foi realizada após 5 minutos, e valores inferiores a 5 mm foram considerados anormais. No teste ocular de *Schirmer* a paciente apresentou um valor absoluto de 3,5 mm após 5 minutos, o que indica xeroftalmia (Figura 12).



Figura 11 O papel de filtro é dobrado 5mm numa das extremidades e colocado na pálpebra inferior. Deve-se informar o paciente a manter os olhos abertos e a piscar normalmente. Após 5 minutos, remove-se o papel de filtro, mede-se a quantidade humedecida em milímetros



Figura 12 No teste ocular de Schirmer a paciente apresentou um valor absoluto de 3,5mm após 5 minutos, o que indica xeroftalmia

A sialometria não-estimulada é um teste funcional, descrito anteriormente, que consiste na recolha de toda a saliva sob condições basais durante um período de tempo entre 10 e 15 minutos (Figura 13).

Existem variações significativas entre os vários métodos quanto ao tempo de recolha na sialometria não-estimulada, mas existe consenso quanto à definição de fluxo salivar diminuído, o qual consiste em débito inferior a 0,10 ml/min.

A sialometria não-estimulada pode confirmar a hipofunção salivar de um modo rápido e barato, permitindo distinguir entre adultos saudáveis e indivíduos com hipossalivação.

Apesar do fluxo salivar na paciente ser significativamente inferior em valor absoluto de 0,45 ml/min. O que corresponde a um total de 4,5 ml/min. Corroborando com a definição anteriormente descrita, e atendendo a que uma amostra salivar de 100 micrólitos, a recolha efetuada por sialometria não estimulada pode ser analisada objetivando a identificação de biomarcadores de diagnóstico de PSS.



Figura 13 Protocolo de recolha salivar (Cotton rol; pinça hemostática; tubos de 50 ml; responsável pela recolha equipado com equipamento de proteção individual)

A SS é uma doença sistémica crónica, autoimune, na qual o diagnóstico precoce determina o curso e prognóstico da doença. Como tal requer um atendimento multidisciplinar, visto que a sintomatologia é variada e que pode, também estar associada a outras doenças.

O tratamento proposto para a paciente foi baseado na sintomatologia, atendendo a que se tratava de PSS, com repercussões sistêmicas preconizou-se a utilização de lágrimas artificiais (OPTIVE FUSION™), pilocarpina, pomada de nitroglicerina e o losartan para minimizar as queixas. A paciente foi encaminhada para o Reumatologista e Psiquiatria/Psicologia.

O tratamento da SS é puramente sintomático, que objetiva o alívio dos sintomas, atendendo ao carácter incurável da doença. A paciente tem evoluído de forma assintomática aquando do uso da terapêutica para regressão dos sintomas de xerofthalmia e xerostomia.

Quanto ao diagnóstico não podemos deixar de enfatizar a necessidade de identificar biomarcadores salivares, de forma a termos ao dispor um instrumento de diagnóstico rápido, de elevado desempenho, versátil e pouco dispendioso, uma mais-valia na triagem e classificação de PSS e respetiva monitorização do curso da doença. Devendo imperar sempre a máxima, *“bem diagnosticar, para bem tratar”*.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Proteínas identificadas em amostras salivares da SS

A saliva analisada nos estudos de proteômica oral pode ser oriunda da secreção específica das glândulas salivares ou da mistura de fluídos orais existentes na cavidade oral dos indivíduos, bem como proteínas não exclusivas das secreções glandulares.

A análise das proteínas salivares secretadas verificam-se como sendo relevantes, pois podem ser indicadores de alterações da secreção proteica, nomeadamente na SS.

A análise das proteínas salivares poderá identificar qual ou quais as proteínas secretadas que se encontram alteradas e qual o nível de comprometimento da função, sendo importante para minimizar os danos causados ao paciente.

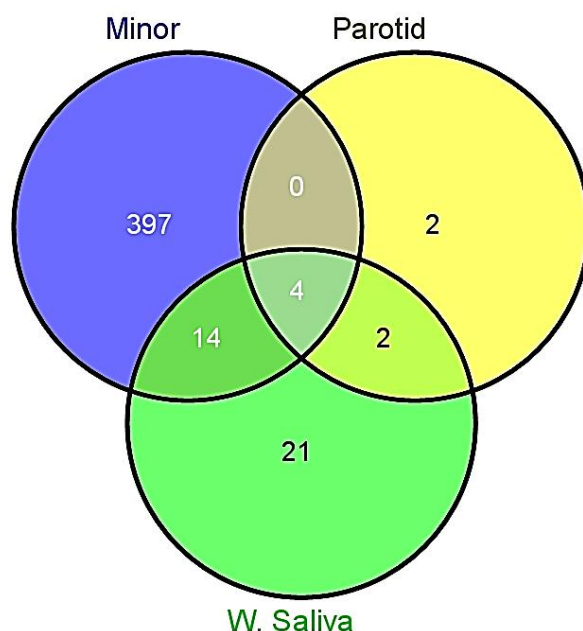


Gráfico 1-Diagrama de Venn representativo das proteínas identificadas em amostras salivares- as interceções representam as proteínas comuns aos universos estudados

Pela análise do gráfico 1, podemos verificar um total de 440 de proteínas identificadas numa amostra salivar, sendo que 397 são oriundas das glândulas salivares minor, 2 oriundas da Parótida, 21 proteínas oriundas da saliva total (tabela 1) e 4 delas aparecem em todos as amostras (tabela 2).

Proteínas Identificadas

<i>Identificadas- Amostra nas Glândulas Minor</i>	397
<i>Identificadas- Amostra nas Parótidas</i>	2
<i>Identificadas em Amostras Salivares (excluindo amostra nas Parótidas)</i>	41
<i>Total Proteínas</i>	440

Tabela 1 Proteínas identificadas em amostras salivares

	Entry	Entry name	Status	Protein names
<input type="checkbox"/>	P61769	B2MG_HUMAN	★	Beta-2-microglobulin
<input type="checkbox"/>	P01834	IGKC_HUMAN	★	Ig kappa chain C region
<input type="checkbox"/>	P61626	LYSC_HUMAN	★	Lysozyme C
<input type="checkbox"/>	P01833	PIGR_HUMAN	★	Polymeric immunoglobulin receptor

Tabela 2 Proteínas que apareceram em todos os fluídos

Após identificação do número de proteínas envolvidas em amostras salivares (tabela1) procedeu-se à identificação das 4 que aparecem em todos os fluidos (tabela2).

Do total de proteínas identificadas, as 4 que apareceram em todos os fluidos terão interesse de estudo a nível das funções desempenhadas, devido à natureza autoimune da SS.

- **P61769** (Beta-2-microglobulin): Componente da classe I do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Envolvidos na apresentação de antígenos peptídicos para o sistema imunitário.

- **P01834 (Ig kappa chain C region):** Envolvimento em doenças- Uma doença caracterizada por uma ausência completa de cadeias kappa da imunoglobulina.

Nota: A doença é causada por mutações que afetam o gene representado nesta entrada

- **P61626 (Lysozyme C):** Lisozimas tem principalmente uma função bacteriolítica; Nos tecidos e fluidos corporais estão associadas com o sistema de monócitos-macrófagos e de aumentar a atividade de imuno-agentes.
- **P01833 (Polymeric immunoglobulin receptor):** Este recetor liga a IgA polimérica e a IgM na superfície basolateral de células epiteliais. O complexo é então transportado através da célula para ser segregada para a superfície apical. Durante este processo ocorre uma clivagem que separa a componente extracelular (conhecido como o componente secretor) do segmento transmembranar.

As 4 proteínas identificadas em todos os fluidos tem relação direta com a resposta imunológica do organismo e portanto possível relação com a SS.

4.2 Distribuição das proteínas de Sjögren por Processos Biológicos (ferramenta utilizada – PANTHER)

As proteínas salivares da SS foram catalogadas recorrendo à ferramenta PANTHER (Como explicado na seção 3.3. dos Materiais e Métodos)

Esta análise permitiu efetuar uma distribuição das proteínas de SS por processos biológico (Gráfico 2), sendo o de maior interesse os do processo do sistema imunológica face à natureza da SS.

Podemos identificar um total de 774 relações de proteínas com processos biológicos (Gráfico 2) em que intervêm as proteínas da SS, sendo que 10 estão envolvidos no processo apoptótico, 15 nos processos biológicos de adesão, 45 nos processos biológicos de regulação, 68 na biogénese ou na organização da componente celular, 131 estão envolvidas nos processos celulares, 59 nos processos de desenvolvimento, 33 nos processos responsáveis pelo sistema

imune, 96 pela localização, 246 pelos processos metabólicos, 33 pelos processos do organismo multicelular, 4 pela reprodução e 34 pelos processos responsáveis pela resposta ao estímulo (Tabela 3).

4.3 Diferença fracional entre o Oraloma Total e as proteínas da SS

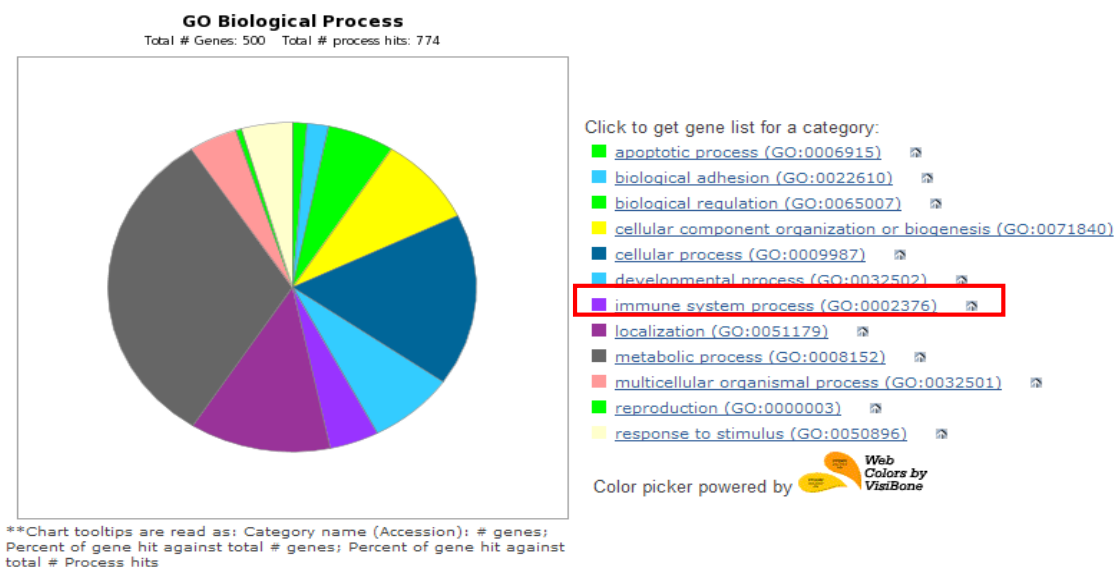


Gráfico 2-Distribuição das proteínas alteradas da SS por Processos Biológicos-análise realizada com a ferramenta PANTHER

Biol Process	Oral Total	SJ Esperado	SJ Observado	Diferença fracional
apoptotic process	116	18,06	10	-0,45
biological adhesion	177	27,56	15	-0,46
biological regulation	459	71,47	45	-0,37
cellular component organization or biogenesis	383	59,64	68	0,14
cellular process	1063	165,52	131	-0,21
developmental process	509	79,26	59	-0,26
immune system process	341	53,10	33	-0,38
localization	498	77,55	96	0,24
metabolic process	1613	251,17	246	-0,02
multicellular organismal process	262	40,80	33	-0,19
reproduction	82	12,77	4	-0,69
response to stimulus	329	51,23	34	-0,34
Total Oraloma	3211			
Total Sjögren	500			

Tabela 3 Diferença fracional entre o Oraloma Total e as proteínas da SS

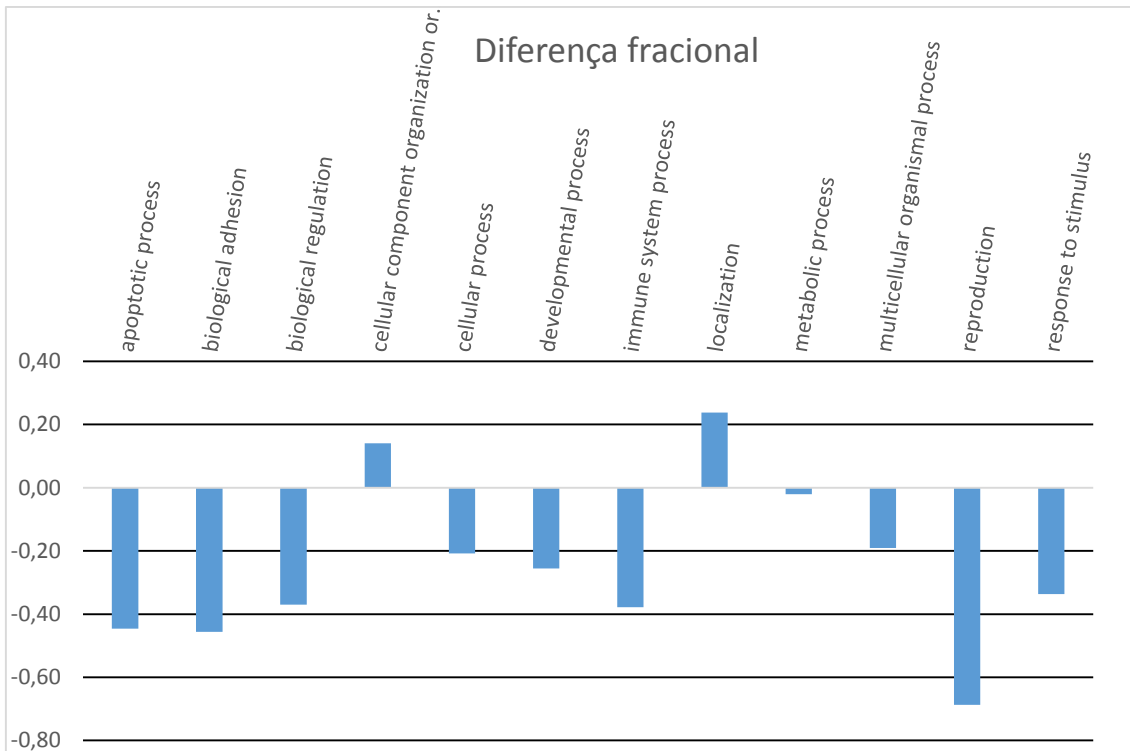


Gráfico 3-Diferença fracional entre o Oraloma Total e as proteínas da SS

A análise da Tabela 3 e do Gráfico 3 permite verificar que existem vários processos biológicos em que há alteração do número de proteínas envolvidas relativamente ao normal

Sendo que um dos mais alterados é a do sistema imune, como é de esperar devido à relação direta com a fisiopatologia da SS, contudo outros processos biológicos também se encontram alterados como é o caso dos processos apoptóticos, de adesão biológica, da regulação biológica, da reprodução e da resposta ao estímulo.

Dada a relevância dos processos imunológicos na fisiopatologia da SS, analisou-se em maior pormenor os aspetos funcionais das proteínas neles envolvidos.

Foram encontradas no OralCard 477 proteínas salivares envolvidas na SS (ver anexo A), destas 33 estão envolvidas na resposta imunológica (tabela 3). Através da identificação destas 33 proteínas obteve-se as funções biológicas, utilizando o UniProt (Tabela 4).

Das 33 proteínas envolvidas na resposta imunológica (ver anexo B), 5 delas encontram-se aumentadas (Tabela 4).

	GENE NAMES
P05109	S100A8
P06702	S100A9
P31151	S100A7
P61769	B2M
P01833	PIGR

Tabela 4 Proteínas que se encontram aumentadas na SS

4.4 Visualização esquemática das proteínas da SS recorrendo a filtros dos processos Biológicos Ferramenta utilizada STRING

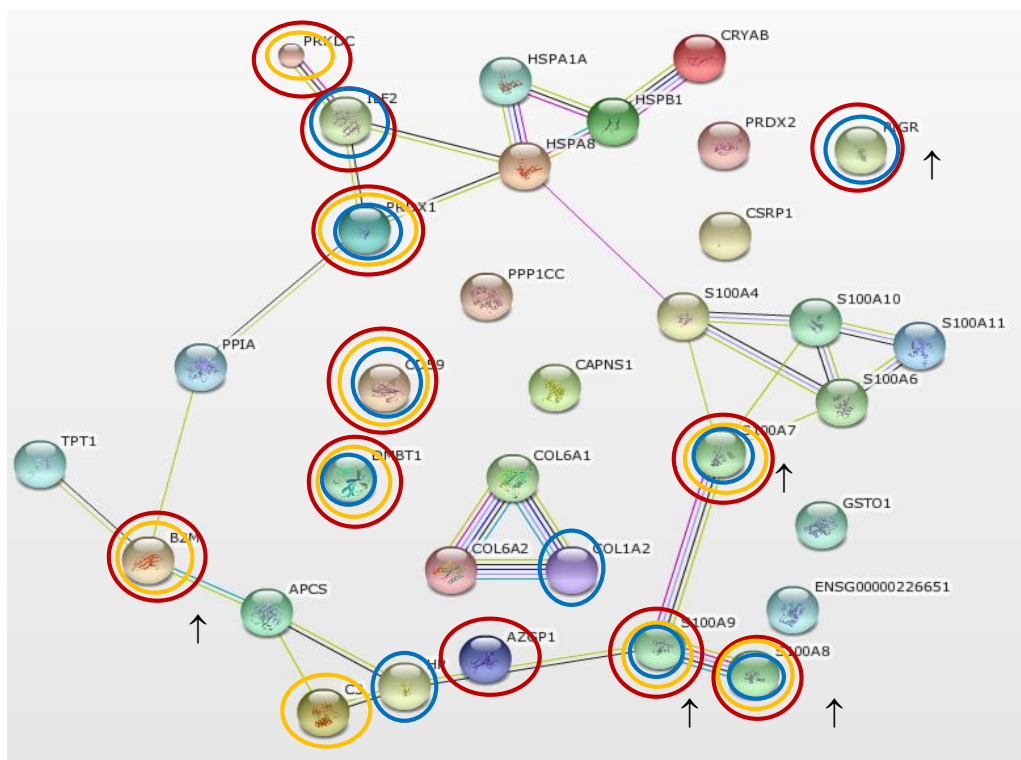


Figura 14 Rede interatómica gerada no STRING onde identifica as Proteínas alteradas na SS: Setas representam as proteínas aumentadas; Círculos a vermelho representam as proteínas envolvidas com a resposta imune; Círculos a laranja representam as proteínas envolvidos na resposta imune inata e os círculos a azul representam as proteínas envolvidas nos processos do sistema imunológico

As proteínas assinaladas (Figura 9) representam processos imunológicos específicos na SS, as proteínas rodeadas a vermelho estão envolvidas com os processos da resposta imune, as rodeadas a laranja estão envolvidas na resposta imune inata e as rodeadas a azul estão envolvidas nos processos do sistema imunológico.

Na figura 6 podemos visualizar também através do uso da ferramenta STRING a interação das Proteínas Identificadas nos Processos Imunológicos na SS, e quais as que se encontram aumentadas (↑).

Os processos de autoimunidade são ativados quando o indivíduo se encontra num meio em que é mais suscetível, essa ativação ocorre devido aos mecanismos imunológicos existentes.

As Respostas imunes adaptativas aberrantes e a ativação dos mecanismos da imunidade inata desregulada estão relacionados com várias patologias nomeadamente as doenças do sistema autoimune.

O sistema imune inato é constituído por um grande repertório de células e componentes humorais que têm a capacidade de estabelecer os mecanismos efetores rápidos que protegem o organismo dos fatores externos.

O paralelo envolvimento das diferentes vias de sinalização e a extensa interligação entre os vários mediadores pró-inflamatórios leva a uma redundância e a uma ampliação da resposta imune inata do organismo. A regulação desregulada desta rede está envolvida na auto-inflamação.

A heterogeneidade das atividades pró e anti-inflamatórias estão relacionadas com os processos de propagação ou de infra-regulação destes mecanismos, o que leva a dano nos tecidos.

As proteínas encontram-se então envolvidas nos processos imunológicos estão relacionadas com a intensidade da resposta imune, quando essa resposta se encontra exacerbada a linfo-proliferação e a produção de auto-anticorpos ocorre de forma aumentada.

As proteínas estudadas como tendo relação com a SS, estão envolvidas nesses processos biológicos de resposta imune exacerbada por parte do organismo.

As proteínas pró-inflamatórias S100 (A8,A9) apresentam um potencial meio de diagnóstico e terapêutica para doenças imunes e o entendimento das suas funções biológicas é essencial (94).

A ativação de células do sistema imunológico nomeadamente o complexo S100 A8/S100A9, aumenta a adesão a células endoteliais e a proteínas da matriz extracelular (94).

As proteínas do complexo S100 estão envolvidas no processo de ativação de células imunes importantes para a patogénese da inflamação, o que desencadeia a produção e proliferação de citocinas (94).

A B2M é o maior complexo de histocompatibilidade da classe I antigénio presente na superfície da membrana de várias células nucleadas, incluindo infiltrados de linfócitos e epitélio de glândulas salivares (30).

O aumento dos níveis desta proteína na saliva em pacientes com PSS pode estar relacionado com a atividade inflamatória glandular

A ativação dos linfócitos B parece ser a aberração imunorregulatória mais consistente com a SS.

Os recetores de imunoglobulinas ligam os ramos do sistema imunológico celular e humoral, tendo estas funções importantes na ativação e na modulação de respostas imunes (95).

A sinalização equilibrada através de ativação e inibição desses recetores regula a atividade de várias células no sistema imunitário (95).

Foi adicionado em anexo (anexo D) um resumo, sob a forma de Poster, dos principais resultados obtidas com as metodologias seguidas.

V. CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

Os resultados da presente investigação sugerem:

A falta de dados epidemiológicos nacionais, confiáveis e atualizados sobre a SS corroborou com uma realidade há muito identificada.

Epidemiologicamente a SS é uma doença autoimune, relativamente frequente na população, com maior incidência em pacientes do sexo feminino e a sua história natural não está completamente esclarecida.

A xerostomia e a xeroftalmia são as queixas mais comuns. Porém é de salientar que muitos doentes têm índices de QdV muito diminuídos comparáveis a outras doenças reumáticas como a Artrite Reumatoide ou o Lupus.

Para além dos sintomas/sinais clínicos característicos desta condição, uma minuciosa história médica e médica dentária é imprescindível para um correto diagnóstico, sendo necessário exames complementares para o confirmar.

Numa amostra salivar, verifica-se um total de 440 de proteínas, sendo que 397 são oriundas das glândulas salivares minor, 2 oriundas da parótida, 21 proteínas oriundas da saliva total e 4 delas aparecem em todas as amostras.

Foram encontradas no OralCard 477 proteínas salivares envolvidas na SS, destas 33 estão envolvidas na resposta imunológica. Através da identificação destas 33 proteínas obteve-se as funções biológicas, utilizando o UniProt. Das 33 proteínas envolvidas na resposta imunológica, 5 delas encontram-se aumentadas (P05109; P06702; P31151; P61769; P01833).

Este trabalho permitiu compilar e caracterizar sumariamente as proteínas de maior interesse na SS, assim como identificar quais os processos biológicos mais relevantes em que estão envolvidas

VI. PERSPETIVAS FUTURAS

6. PERSPETIVAS FUTURAS

A recente evolução de metodologias e equipamentos na área da proteómica, permite-nos enfatizar a importância que a sialoquímica poderá adquirir como um valioso auxiliar de diagnóstico de consulta, permitindo-nos melhorar significativamente a qualidade dos cuidados, não só médicos, mas também de áreas complementares como a Medicina Dentária e reduzir o custo da doença.

Parece-nos premente a passagem dos atuais métodos complementares de diagnóstico da SS, muitas das vezes evasivos, dispendiosos e não conclusivos, para um outro contrastante, cuja importância tem vindo a ser enfatizada que é o diagnóstico salivar, não evasivo e pouco dispendioso.

Independentemente de todas as vicissitudes, o diagnóstico deverá ser efetuado o mais cedo possível, de forma a instituir precocemente as terapêuticas disponíveis (substituto salivares e lacrimais, medidas de higiene e pilocarpina ou cevimelina) objetivando minorar as complicações locais e melhorar a QdV e o prognóstico.

Tendo em conta a importância dos dados de quantificação de proteínas alteradas na SS, sugere-se o desenho de estratégias laboratoriais que permitam essa quantificação em volumes reduzidos de amostra, dadas as limitações de produção de saliva dos pacientes com SS.

Pretende-se que este trabalho contribua para o avanço na compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na patofisiologia da SS e na descoberta de potenciais biomarcadores salivares, investigação essa, na qual esperamos dar o nosso contributo.

VII. BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

1. Fox RI. Sjögren's syndrome. *The Lancet*. 2005;366(9482):321-31.
2. R. MANTHORPE KF-LHlaJUP. Sjogren's Syndrome: A Review with Emphasis on Immunological Features. *Allergy*. 1981;36:139-53.
3. Caffery B, Simpson T, Wang S, Bailey D, McComb J, Rutka J, et al. Factor analysis of the clinical characteristics of primary Sjogren syndrome. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry*. 2010;87(10):742-50.
4. Galvez J, Saiz E, Lopez P, Pina MF, Carrillo A, Nieto A, et al. Diagnostic evaluation and classification criteria in Sjogren's Syndrome. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 2009;76(1):44-9.
5. Maldini C, Seror R, Fain O, Dhote R, Amoura Z, De Bandt M, et al. Epidemiology of primary Sjogren's syndrome in a French Multi-Racial/Ethnic area. *Arthritis care & research*. 2013.
6. Sanchez-Guerrero J, Perez-Dosal MR, Cardenas-Velazquez F, Perez-Reguera A, Celis-Aguilar E, Soto-Rojas AE, et al. Prevalence of Sjogren's syndrome in ambulatory patients according to the American-European Consensus Group criteria. *Rheumatology*. 2005;44(2):235-40.
7. Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, et al. Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjogren's syndrome in Japanese patients. *Modern rheumatology / the Japan Rheumatism Association*. 2013;23(2):219-25.
8. Lochter H, Pelck R, Manthorpe R. Clinical manifestations correlated to the prevalence of autoantibodies in a large (n=321) cohort of patients with primary Sjogren's syndrome: a comparison of patients initially diagnosed according to the Copenhagen classification criteria with the American-European consensus criteria. *Autoimmunity reviews*. 2005;4(5):276-81.
9. 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*. 2006;45(9):1077-86.

10. Barcelos Filipe PJV, Parente Manuela, Medeiros Dina, Sousa Miguel, Figueiredo Rui, Miguel Cláudia, Teixeira Ana. Aplicabilidade da sialometria e instrumentos de avaliação de queixas secas na consulta de síndrome de Sjogren. *Orgão da Sociedade Portuguesa de Reumatologia*. 2009;34:212-8.
11. Ambatipudi KS, Swatkoski S, Moresco JJ, Tu PG, Coca A, Anolik JH, et al. Quantitative proteomics of parotid saliva in primary Sjogren's syndrome. *Proteomics*. 2012;12(19-20):3113-20.
12. Larche MJ. A short review of the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Autoimmunity reviews*. 2006;5(2):132-5.
13. 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*. 2006;45(2):187-91.
14. Gran JT. Diagnosis and definition of primary Sjogren's syndrome. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2002;31(2):57-9.
15. Baldini C, Talarico R, Tzioufas AG, Bombardieri S. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a critical review. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):9-14.
16. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, Baer A, Challacombe S, Lanfranchi H, 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 & research*. 2012;64(4):475-87.
17. Farnaud SJ, Kostic O, Getting SJ, Renshaw D. Saliva: physiology and diagnostic potential in health and disease. *TheScientificWorldJournal*. 2010;10:434-56.
18. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Wolff A. Sjogren's syndrome: the diagnostic potential of early oral manifestations preceding hyposalivation/xerostomia. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*. 2005;34(1):1-6.
19. Baldini C, Pepe P, Quartuccio L, Priori R, Bartoloni E, Alunno A, et al. Primary Sjogren's syndrome as a multi-organ disease: impact of the serological

profile on the clinical presentation of the disease in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology*. 2013.

20. Steinfeld S, Cogan E, King LS, Agre P, Kiss R, Delporte C. Abnormal distribution of aquaporin-5 water channel protein in salivary glands from Sjogren's syndrome patients. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2001;81(2):143-8.

21. Kalk WW, Vissink A, Stegenga B, Bootsma H, Nieuw Amerongen AV, Kallenberg CG. Sialometry and sialochemistry: a non-invasive approach for diagnosing Sjogren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002;61(2):137-44.

22. Pijpe J, van Imhoff GW, Spijkervet FK, Roodenburg JL, Wolbink GJ, Mansour K, et al. Rituximab treatment in patients with primary Sjogren's syndrome: an open-label phase II study. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(9):2740-50.

23. Thomas E HEM, Hajer A, Silman A J. Sjogren ´s Syndrome a community based study of prevalence and impact. *British Journal of Rheumatology* 1998;37.

24. Bave U, Nordmark G, Lovgren T, Ronnelid J, Cajander S, Eloranta M-L, et al. Activation of the type I interferon system in primary Sjogren's syndrome: A possible etiopathogenic mechanism. *Arthritis & Rheumatism*. 2005;52(4):1185-95.

25. Hjelmervik TO, Petersen K, Jonassen I, Jonsson R, Bolstad AI. Gene expression profiling of minor salivary glands clearly distinguishes primary Sjogren's syndrome patients from healthy control subjects. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(5):1534-44.

26. Chen PH, Yang YH, Lin YT, Lee JH, Wang LC, Yu HH, et al. Clinical characteristics of children with positive anti-SSA/SSB antibodies. *Rheumatology international*. 2013.

27. Solomon AJ, Hills W, Chen Z, Rosenbaum J, Bourdette D, Whitham R. Autoantibodies and Sjogren's Syndrome in multiple sclerosis, a reappraisal. *PloS one*. 2013;8(6):e65385.

28. Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjogren syndrome. *Archives of internal medicine*. 2004;164(12):1275-84.

29. Civilibal M, Canpolat N, Yurt A, Kurugoglu S, Erdamar S, Bagci O, et al. A child with primary Sjogren syndrome and a review of the literature. *Clinical pediatrics*. 2007;46(8):738-42.
30. Liu J, Duan Y. Saliva: a potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral oncology*. 2012;48(7):569-77.
31. Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Stone JH, Siso A, Bosch X. Treatment of primary Sjogren syndrome: a systematic review. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2010;304(4):452-60.
32. Baldini C, Giusti L, Ciregia F, Da Valle Y, Giacomelli C, Donadio E, et al. Correspondence between salivary proteomic pattern and clinical course in primary Sjogren syndrome and non-Hodgkin's lymphoma: a case report. *Journal of translational medicine*. 2011;9:188.
33. Schall GL, Anderson LG, Wolf RO, Herdt JR, Tarpley TM, Jr., Cummings NA, et al. Xerostomia in Sjogren's syndrome. Evaluation by sequential salivary scintigraphy. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1971;216(13):2109-16.
34. Fleissig Y, Deutsch O, Reichenberg E, Redlich M, Zaks B, Palmon A, et al. Different proteomic protein patterns in saliva of Sjogren's syndrome patients. *Oral diseases*. 2009;15(1):61-8.
35. Manthorpe R, Frost-Larsen K, Isager H, Prause JU. Sjogren's syndrome. A review with emphasis on immunological features. *Allergy*. 1981;36(3):139-53.
36. Gonzalez S, Sung H, Sepulveda D, Gonzalez M, Molina C. Oral manifestations and their treatment in Sjogren's syndrome. *Oral diseases*. 2014;20(2):153-61.
37. Barboza Marcello Nova Colombo BGNC, Melo Gustavo Mendonça, Sato Elclo, Dantas Maria Cristina Nlshlwakl, Dantas Paulo Ellas Correa, Felberg Sérgio Correlation between signals and symptoms of dry eye in Sjogren's syndrome patients *Arquivo Brasileiro Oftalmologia* 2008;71(4):547-52.
38. Hernandez-Molina G, Sanchez-Hernandez T. Clinimetric methods in Sjogren's syndrome. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2013;42(6):627-39.
39. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version

of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002;61(6):554-8.

40. Cornec D, Jousse-Joulin S, Pers JO, Marhadour T, Cochener B, Boisrame-Gastrin S, et al. Contribution of salivary gland ultrasonography to the diagnosis of Sjogren's syndrome: toward new diagnostic criteria? *Arthritis and rheumatism*. 2013;65(1):216-25.

41. Malladi AS, Sack KE, Shiboski SC, Shiboski CH, Baer AN, Banushree R, et al. Primary Sjogren's syndrome as a systemic disease: a study of participants enrolled in an international Sjogren's syndrome registry. *Arthritis care & research*. 2012;64(6):911-8.

42. Sardenberg F, Goursand D, Polletto LT, Vale MP, Zarzar PM, Paiva SM. Oral manifestations and treatment of a child with Sjogren's syndrome. *Journal of dentistry for children*. 2010;77(2):102-5.

43. Likar-Manookin K, Stewart C, Al-Hashimi I, Curtis W, Berg K, Cherian K, et al. Prevalence of oral lesions of autoimmune etiology in patients with primary Sjogren's syndrome. *Oral diseases*. 2013;19(6):598-603.

44. Voulgarelis M, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Mortality in Sjogren's syndrome. *Clinical and experimental rheumatology*. 2008;26(5 Suppl 51):S66-71.

45. Lima DP, Diniz DG, Moimaz SA, Sumida DH, Okamoto AC. Saliva: reflection of the body. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2010;14(3):e184-8.

46. Wilmarth PA, Riviere MA, Rustvold DL, Lauten JD, Madden TE, David LL. Two-dimensional liquid chromatography study of the human whole saliva proteome. *Journal of proteome research*. 2004;3(5):1017-23.

47. Quinto GG, Campos M, Behrens A. Autologous serum for ocular surface diseases. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*. 2008;71(6 Suppl):47-54.

48. Pinheiro MN, Jr., dos Santos PM, dos Santos RC, Barros Jde N, Passos LF, Cardoso Neto J. [Oral flaxseed oil (*Linum usitatissimum*) in the treatment for dry-eye Sjogren's syndrome patients]. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*. 2007;70(4):649-55.

49. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Ratiglia R. The cornea in Sjogren's syndrome: an in vivo confocal study. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007;48(5):2017-22.
50. Turner M, Jahangiri L, Ship JA. Hyposalivation, xerostomia and the complete denture: a systematic review. *Journal of the American Dental Association*. 2008;139(2):146-50.
51. Mathews SA, Kurien BT, Scofield RH. Oral manifestations of Sjogren's syndrome. *Journal of dental research*. 2008;87(4):308-18.
52. Rosa N, Correia MJ, Arrais JP, Lopes P, Melo J, Oliveira JL, et al. From the salivary proteome to the OralOme: comprehensive molecular oral biology. *Archives of oral biology*. 2012;57(7):853-64.
53. Dodds MW, Johnson DA, Yeh CK. Health benefits of saliva: a review. *Journal of dentistry*. 2005;33(3):223-33.
54. Amerongen AV, Veerman EC. Saliva--the defender of the oral cavity. *Oral diseases*. 2002;8(1):12-22.
55. Lamy E, Mau M. Saliva proteomics as an emerging, non-invasive tool to study livestock physiology, nutrition and diseases. *Journal of proteomics*. 2012;75(14):4251-8.
56. Al Kawas S, Rahim ZH, Ferguson DB. Potential uses of human salivary protein and peptide analysis in the diagnosis of disease. *Archives of oral biology*. 2012;57(1):1-9.
57. Castagnola M, Cabras T, Vitali A, Sanna MT, Messana I. Biotechnological implications of the salivary proteome. *Trends in biotechnology*. 2011;29(8):409-18.
58. Chiappin S, Antonelli G, Gatti R, De Palo EF. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007;383(1-2):30-40.
59. Hu S, Xie Y, Ramachandran P, Ogorzalek Loo RR, Li Y, Loo JA, 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.
60. Granger DA, Kivlighan KT, Fortunato C, Harmon AG, Hibel LC, Schwartz EB, et al. Integration of salivary biomarkers into developmental and behaviorally-

oriented research: problems and solutions for collecting specimens. *Physiology & behavior*. 2007;92(4):583-90.

61. Spielmann N, Wong DT. Saliva: diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral diseases*. 2011;17(4):345-54.

62. Schipper RG, Silletti E, Vingerhoeds MH. Saliva as research material: biochemical, physicochemical and practical aspects. *Archives of oral biology*. 2007;52(12):1114-35.

63. Amado FM, Vitorino RM, Domingues PM, Lobo MJ, Duarte JA. Analysis of the human saliva proteome. *Expert review of proteomics*. 2005;2(4):521-39.

64. Schenkels LCPM, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV. Biochemical Composition of Human Saliva in Relation To Other Mucosal Fluids. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1995;6(2):161-75.

65. Engelen L, van den Keybus PA, de Wijk RA, Veerman EC, Amerongen AV, Bosman F, et al. The effect of saliva composition on texture perception of semi-solids. *Archives of oral biology*. 2007;52(6):518-25.

66. Miller BE, Deutsch O, Redlich M, Konttinen YT, Benoliel R, Zaks B, et al. Sialochemistry and cortisol levels in patients with Sjogren's syndrome. *Oral diseases*. 2012;18(3):255-9.

67. Denny P, Hagen FK, Hardt M, Liao L, Yan W, Arellanno M, et al. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. *Journal of proteome research*. 2008;7(5):1994-2006.

68. de Almeida Pdel V, Gregio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *The journal of contemporary dental practice*. 2008;9(3):72-80.

69. Lamkin MS, Oppenheim FG. Structural features of salivary function. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*. 1993;4(3-4):251-9.

70. Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *The Journal of prosthetic dentistry*. 2001;85(2):162-9.

71. Greabu Maria BM, Mohora Maria, Totan Alexadra, Didilescu Andreea, Spinu Tudor, Totan Cosmin, Miricescu Daniela, Radulescu Radu. Saliva – a

diagnostic window to the body , both in health and in disease *Journal of Medicine and Life*. 2009;2(2).

72. Hu S, Loo JA, Wong DT. Human saliva proteome analysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1098:323-9.

73. Baldini C, Giusti L, Ciregia F, Da Valle Y, Giacomelli C, Donadio E, 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 research & therapy*. 2011;13(6):R194.

74. Amado FM, Ferreira RP, Vitorino R. One decade of salivary proteomics: current approaches and outstanding challenges. *Clinical biochemistry*. 2013;46(6):506-17.

75. Kaufman E, Lamster IB. The Diagnostic Applications of Saliva-- a Review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 2002;13(2):197-212.

76. Neyraud E, Sayd T, Morzel M, Dransfield E. Proteomic analysis of human whole and parotid salivas following stimulation by different tastes. *Journal of proteome research*. 2006;5(9):2474-80.

77. Vitorino R, Barros AS, Caseiro A, Ferreira R, Amado F. Evaluation of different extraction procedures for salivary peptide analysis. *Talanta*. 2012;94:209-15.

78. Lamey PJ, Nolan A. The recovery of human saliva using the Salivette system. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*. 1994;32(9):727-8.

79. Thongboonkerd V. *Proteomics of human body fluids : principles, methods, and applications*. Totowa, N.J.: Humana Press; 2007. xiii, 533 p. p.

80. Walz A, Stuhler K, Wattenberg A, Hawranke E, Meyer HE, Schmalz G, et al. Proteome analysis of glandular parotid and submandibular-sublingual saliva in comparison to whole human saliva by two-dimensional gel electrophoresis. *Proteomics*. 2006;6(5):1631-9.

81. Hu S, Wang J, Meijer J, leong S, Xie Y, Yu T, et al. Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjogren's syndrome. *Arthritis and rheumatism*. 2007;56(11):3588-600.

82. Michaud GA, Snyder M. Proteomic approaches for the global analysis of proteins. *BioTechniques*. 2002;33(6):1308-16.

83. Yan W, Apweiler R, Balgley BM, Boontheung P, Bundy JL, Cargile BJ, et al. Systematic comparison of the human saliva and plasma proteomes. *Proteomics Clinical applications*. 2009;3(1):116-34.
84. Brewis IA, Brennan P. Proteomics technologies for the global identification and quantification of proteins. *Advances in protein chemistry and structural biology*. 2010;80:1-44.
85. Rabilloud T, Chevallet M, Luche S, Lelong C. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Past, present and future. *Journal of proteomics*. 2010;73(11):2064-77.
86. Perez P, Kwon YJ, Alliende C, Leyton L, Aguilera S, Molina C, et al. Increased acinar damage of salivary glands of patients with Sjogren's syndrome is paralleled by simultaneous imbalance of matrix metalloproteinase 3/tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and matrix metalloproteinase 9/tissue inhibitor of metalloproteinases 1 ratios. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(9):2751-60.
87. Asatsuma M, Ito S, Watanabe M, Takeishi H, Nomura S, Wada Y, et al. Increase in the ratio of matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in saliva from patients with primary Sjogren's syndrome. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;345(1-2):99-104.
88. Ram M, Sherer Y, Shoenfeld Y. Matrix metalloproteinase-9 and autoimmune diseases. *Journal of clinical immunology*. 2006;26(4):299-307.
89. Arrais JP, Rosa N, Melo J, Coelho ED, Amaral D, Correia MJ, et al. OralCard: a bioinformatic tool for the study of oral proteome. *Archives of oral biology*. 2013;58(7):762-72.
90. UniProt C. Update on activities at the Universal Protein Resource (UniProt) in 2013. *Nucleic acids research*. 2013;41(Database issue):D43-7.
91. Mi H, Guo N, Kejariwal A, Thomas PD. PANTHER version 6: protein sequence and function evolution data with expanded representation of biological pathways. *Nucleic acids research*. 2007;35(Database issue):D247-52.
92. Thomas PD, Campbell MJ, Kejariwal A, Mi H, Karlak B, Daverman R, et al. PANTHER: a library of protein families and subfamilies indexed by function. *Genome research*. 2003;13(9):2129-41.

93. Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. *Nucleic acids research*. 2013;41(Database issue):D808-15.
94. Foell D, Roth J. Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease. *Arthritis and rheumatism*. 2004;50(12):3762-71.
95. Takai T. Roles of Fc receptors in autoimmunity. *Nature reviews Immunology*. 2002;2(8):580-92.

VIII. ANEXOS

ANEXO A

PL2857	40S ribosomal protein S28	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL2858	60S ribosomal protein L30	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL2859	60S ribosomal protein L31	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL2913	60S ribosomal protein L11 ELL-associated antigen RW121	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL2937	Poly(ADP-ribose) polymerase 4 (PAP4) (EC 2.2.1.18) (Oxythiolin A) (Cytosolic A-binding protein) (Ratuma-4)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL2987	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40 (UCEP2) (Ubiquitin A52 residue ribosomal protein fusion product 1) (Cleaved into: Ubiquitin; 60S ribosomal protein)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL3104	14-3-3 protein zeta/beta (Protein kinase C inhibitor protein 1) (KCIIP-1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL3220	40S ribosomal protein S21	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL3241	Eukaryotic translation initiation factor 5A1 (eIF-5A1) (eIF-5A1) (Eukaryotic initiation factor 5A) (eIF-5A) (eIF-5A) (eIF-5A) (eIF-5A) (eIF-5A)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL3244	Quanine nucleoside binding protein subunit beta 2like 1. Cell cycle/transition-inducible gene 21 protein (Quanine nucleoside-binding protein subunit beta 1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL3769	Nucleic-acid-binding protein-binding protein 1 (C/CAAT-binding transcription factor 1 subunit A) (CBF-A) (DNA-binding protein B) (DBP-B) (E2A-related factor 1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL7812	Sional nucleoside complex catalytic subunit BEC1A (EC 4.2.1.81) (Endonucleosidase SP18) (Microsome sional nucleoside 18 kDa subunit) (SPaa 18 kDa)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8104	Elongation factor 1alpha 1 (EF1A) (Elongation factor Tu) (EF1-Tu) (Eukaryotic elongation factor 1 A) (MEF1A-1) (Eucaryotic wcapote cluster ment)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8363	Tubulin alpha 1B chain (Tubulin subunit alpha 1B) (Tubulin alpha-1B) (Tubulin alpha-1B) (Tubulin alpha-1B) (Tubulin alpha-1B) (Tubulin alpha-1B)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8371	Tubulin beta 4B chain (Tubulin beta-2 chain) (Tubulin beta-2C chain)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8451	Histone H3.1 (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3) (Histone H3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8571	Hemoglobin subunit beta (Beta-globin) (Hemoglobin beta chain) (Cleaved into: LRV-hemophrin-7)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL8905	Hemoglobin subunit alpha (Alpha-globin) (Hemoglobin alpha chain)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL9417	Guanidino S-transferase omase 1 (GSTO1) (EC 2.3.1.18) (Guanidino S-transferase omase 1.1) (GSTO1.1) (Guanidino-S-transferase dependent dehydroascorbate)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL9527	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PK catalytic subunit) (DNA-PKcs) (EC 2.7.1.1) (DNPK1) (p46)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL9404	4-aminobutanoic aminotransferase, mitochondrial (EC 2.6.1.19) (5S)-S-aminoc-2-methylpropionate transaminase) (EC 2.6.1.22) (GSAB aminotransferase) (G)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
PL9373	60S ribosomal protein L24 (60S ribosomal protein L24)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
P99999	Cytochrome c	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q00326	Phosphatase carrier protein, mitochondrial (Phosphatase transport protein) (PTP) (Phosphate carrier family 25 member 3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q00610	Cleavin heavy chain 1 (Cleavin heavy chain on chromosome 17) (CLC1-17)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q00765	Receptor expression-enhancing protein 5 (Polych locus protein 1) (Protein TR2)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q00849	Phenylethanolamine N-methyltransferase (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT) (NMT)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q01965	Tetraspanin 22 (Kia-1) (tetraspanin domain protein 22) (TSPAN22) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1) (KIA1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q02543	60S ribosomal protein L18a	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q02578	60S ribosomal protein L8 (Raglanin-related protein C40) (Tva response enhancer element-binding protein 107) (TvaRBE107)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q03113	Quanine nucleoside binding protein subunit alpha-12 (G alpha-12) (G-protein subunit alpha-12)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q03203	Pancreatic activator complex subunit 11 (11S nucleolar complex subunit alpha) (REG alpha) (Activator of multicatalytic proteinase subunit 11) (inactivator form)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q03630	Parasitoidin-1 (EC 1.11.1.15) (Nuclear killer cell-activating factor A) (NKCF-A) (Protein kinase-associated gene protein) (PKAG) (Thiosulfonate peroxidase 2)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q07020	60S ribosomal protein L18	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q09257	Quinone oxidoreductase (EC 1.6.5.5) (NAD(P)H:quinone reductase) (Dna-oxynitric)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q09682	Neurotactin differentiation-associated protein (Neurotactin)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q12903	Nucleolar enhancer-binding factor 2 (Nuclear factor of activated T-cell) (NF-ATc2)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q12931	Heat shock protein 75 kDa, mitochondrial (HSP 75) (TRP-associated protein 1) (Tumor necrosis factor type 1 receptor-associated protein) (TRAP-1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13011	Ornithine decarboxylase (EC 4.1.1.17) (Ornithine decarboxylase) (EC 4.1.1.17) (Ornithine decarboxylase) (Ornithine decarboxylase) (Ornithine decarboxylase) (Ornithine decarboxylase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13182	Parasitoidin-4 (EC 1.11.1.15) (Nucleolar complex subunit alpha) (ADE37) (ADE37-2) (Parasitoidin IV) (Pn-IV) (Thiosulfonate peroxidase A0372) (Thiosulfonate peroxidase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13228	Selenium binding protein 1 (56 kDa selenium-binding protein) (SBP1) (SBP5)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13444	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 valset 1 (UEV-1) (UBC-1) (UBA1) (UBA1) (UBA1) (UBA1) (UBA1) (UBA1) (UBA1) (UBA1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13510	Acid ceramidase (AC) (ACDase) (Acid CDase) (EC 3.5.1.23) (Acid ceramidase desacylase) (N-acetylglucosamine 6-phosphate) (NAGase) (32 kDa heat shock protein)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13578	Heat shock protein 70 kDa (HSP 70) (Heat shock protein 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70) (HSP 70)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q13748	Tubulin alpha-3CD chain (Alpha-tubulin 3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3) (Tubulin alpha-3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15005	Signal peptide complex subunit 2 (EC 3.4.4.1) (Mitochondrial signal peptidase 25 kDa subunit) (SPaa 25 kDa subunit)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15084	Protein disulfide isomerase A6 (EC 5.1.4.1) (Endoplasmic reticulum protein 5) (ER protein 5) (ER5) (Protein disulfide isomerase P5) (Thiosulfonate domain)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15288	Ras-related protein Rab-35 (GTP-binding protein RAT) (Ras-related protein Rab-C)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15363	Tarantula toxin domain-containing protein 2 (Membrane protein 224A) (p24) (p24 family protein beta-1) (p24beta1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15365	Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (Alpha-CP1) (Poly(ADP-ribose) polymerase 1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1) (PARP1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15366	Poly(ADP-ribose) polymerase 2 (Alpha-CP2) (Poly(ADP-ribose) polymerase 2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2) (PARP2)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q15683	Synaptotagmin-like protein 3 (Synaptotagmin)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q2KX55	Keratin, type II cytoskeletal 79 (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79) (Keratin-79)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	17432506
Q8P552	LPF0762 protein, C5b/6	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q17188	60S ribosomal protein S27 like	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q27401	L-xylulose reductase (XRI) (EC 1.1.1.10) (Carbonyl reductase III) (D-xylulose 5-phosphate reductase) (Xylulose 5-phosphate reductase) (Xylulose 5-phosphate reductase) (Xylulose 5-phosphate reductase) (Xylulose 5-phosphate reductase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q27495	Tarantula toxin domain-containing protein 4 (Endoplasmic reticulum stress-response protein 25) (ERS25) (GMP25a) (Protein NF kappa-B activator)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q28923	Thiosulfonate peroxidase protein 5 (Endoplasmic reticulum oxidase protein 46) (ER protein 46) (ER46) (Thiosulfonate peroxidase p46)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29101	Thiosulfonate peroxidase/hydrolase-like domain-containing protein 1	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29102	Mucin 7 (MUC-7) (Mucin-7) (Salivary mucin-7)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29103	Protein Nba-1 (Transmembrane protein 161) (Transmembrane protein 167A)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29104	Arabinoside glucosyltransferase 3 homolog (AG-3) (AG3) (AG-3) (Arabinoside glucosyltransferase 3) (Arabinoside glucosyltransferase 3) (Arabinoside glucosyltransferase 3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29254	Zinc transporter SLC39A7 (SLC39 family zinc transporter protein Kx4) (Really interesting new gene 5) (RIN5) (Really interesting new gene 5) (RIN5) (Really interesting new gene 5) (RIN5)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29252	Histone H1s	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29216	Transcriptional activator GCN5 (Gcn5) (GCN5-like protein 1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q29918	LPF0552 protein, C19orf103 (Hyaluronan-25) (H25) (Stromal cell-derived growth factor SP20)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30601	Protein FAM3D	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30632	BTB/POZ domain-containing protein NCTD21 (Plein) (Predominantly fetal expressed T1 domain)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30640	Zinc finger protein 166 homolog B	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30653	Up-regulated during skeletal muscle growth protein 5 (Diabetes-associated protein in insulin-sensitive tissues) (PQV) (Fibrin-associated protein 2)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30674	Cytosolic non-specific dipeptidase (EC 3.4.13.18) (NDP dipeptidase 2) (Glutamate carboxypeptidase-like protein 1) (Peptidase A)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q30741	Nba-like protein 1 (Nba-1) (Mucroninase inosidase by ER) (MUCINASE) (Protein FAM20B)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q31845	Apoptosis-inducing protein 1 (Protein FAM121B)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q31846	Transmembrane protein 109 (TMEM109) (TMEM109)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q31847	Transmembrane emp24 domain-containing protein 9 (GMP25) (Glycoprotein 25L) (p24 family protein alpha-2) (p24alpha2) (p25)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32028	Protein Nbaan Cell growth-inhibiting gene 39 protein (Protein FAM124A)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32024	Mucin-5B (MUC5B) (Glycosylated mucin) (High molecular weight salivary mucin MG1) (Mucin-5 sub-type B, tachylectin-like) (Salivary gland mucin)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32025	GTP-binding protein SAR1 (COPII-associated small GTPase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32026	Sialic acid synthase (N-acetylneuraminic synthase) (EC 2.5.1.58) (N-acetylneuraminic 9-phosphate synthase) (EC 2.5.1.57) (N-acetylneuraminic acid synthase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32027	Oxiglycylase 1 (DNA damage-regulated overexpressed in cancer 40) (DOCO) (GTP-binding protein 3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32028	Peptide chain elongation factor 1 (PCEF1) (EC 2.3.1.18) (Peptide chain elongation factor 1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1) (PCEF1)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32029	Ribosome-binding protein 1 (180 kDa ribosome receptor homolog) (RR) (EB130-related protein) (Ribosome receptor protein)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32030	Distal-chaperone mannose-binding domain subunit 1 (QPM mannose complex subunit 3) (Distal-chaperone mannose synthase subunit 3) (Distal-chaperone)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32031	Quanine nucleoside binding protein O19 (GSDO) subunit gamma-12	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32032	Delivered in malignant brain tumor 1 protein (Glucocorticoid 346) (G346) (Hem) (Salivary acetyltransferase) (SAG) (Surfactant outer-membrane-associated Dolinoin)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32033	Novel Zebrafish-like kinase (Novel Zebrafish-like kinase) (EC 2.7.1.50) (ZLNK-like kinase)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32034	Protein FAM3A	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32035	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3 (VDAC-3) (VDAC3) (Dual mitochondrial membrane protein 3)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32036	Protein empty helix 2 (MIR-binding superfamily protein) (Putative secreted protein 2a5) (Transmembrane protein 4)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32037	Dihydrogenase reductase 2DR family member 7 (EC 1.1.1.1) (Retinal short-chain dihydrogenase reductase 4) (nsDR4)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32038	Transmembrane emp24 domain-containing protein 5 (p24 family protein gamma-2) (p24gamma2) (p26)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32039	Transmembrane emp24 domain-containing protein 7 (p24 family protein gamma-3) (p24gamma3) (p27)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32040	Transmembrane emp24 domain-containing protein 3 (Membrane protein 248) (p24 family protein gamma-4) (p24gamma4) (p28)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32041	Talin 1	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32042	Hypoxia up-regulated protein 1 (150 kDa oxygen-regulated protein) (ORP-150) (170 kDa glucose-regulated protein) (GRP-170)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32043	CD2-associated protein (Adaptor protein CM5) (Cas) (paired with multiple SH2 domains)	homo sapiens (Human)	x	270150	68012859	Adult	19384392
Q32044							

ANEXO B

UniProtKBAC	Protein Name	Regulation	Disease	General annotation (function)
000299	Chloride intracellular channel protein 1;CL	0		FUNCTION: Can insert into membranes and form chloride ion channels. Channel activity depends on the pH. Membrane insertion seems to be redox-regulated and may occur only under oxidizing conditions. Involved in regulation of the cell cycle.
P00738	Haptoglobin;HP;ortholog	0	Anhaptoglobinemia (AHP) [MIM:614081]: A condition characterized by the absence of the serum glycoprotein haptoglobin. Serum levels of haptoglobin vary among normal persons: levels are low in the neonatal period and in the elderly, differ by population, and can be influenced by environmental factors, such as infection. Secondary hypohaptoglobinemia can occur as a consequence of hemolysis, during which haptoglobin binds to free hemoglobin. Congenital haptoglobin deficiency is a risk factor for anaphylactic non-hemolytic transfusion reactions.	FUNCTION: As a result of hemolysis, hemoglobin is found to accumulate in the kidney and is secreted in the urine. Haptoglobin captures, and combines with free plasma hemoglobin to allow hepatic recycling of heme iron and to prevent kidney damage. Haptoglobin also acts as an Antimicrobial; Antioxidant, has antibacterial activity and plays a role in modulating many aspects of the acute phase response. Hemoglobin/haptoglobin complexes are rapidly cleared by the macrophage CD163 scavenger receptor expressed on the surface of liver Kupfer cells through an endocytic lysosomal degradation pathway.; FUNCTION: Uncleaved haptoglobin, also known as zonulin, plays a role in intestinal permeability, allowing intercellular tight junction disassembly, and controlling the equilibrium between tolerance and immunity to non-self antigens.
P01024	Complement C3;C3;ortholog	0	Complement component 3 deficiency (C3D) [MIM:613779]: A rare defect of the complement classical pathway. Patients develop recurrent, severe, pyogenic infections because of ineffective opsonization of pathogens. Some patients may also develop autoimmune disorders, such as arthralgia and vasculitic rashes, lupus-like syndrome and membranoproliferative glomerulonephritis. Macular degeneration, age-related, 9 (ARMD9) [MIM:611378]: A form of age-related macular degeneration, a multifactorial eye disease and the most common cause of irreversible vision loss in the developed world. In most patients, the disease is manifest as ophthalmoscopically visible yellowish accumulations of protein and lipid that lie beneath the retinal pigment epithelium and within an elastin-containing structure known as Bruch membrane. Hemolytic uremic syndrome atypical 5 (AHUSS) [MIM:612925]: An atypical form of hemolytic uremic syndrome. It is a complex genetic disease characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, renal failure and absence of episodes of enterocolitis and diarrhea. In contrast to typical hemolytic uremic syndrome, atypical forms have a poorer prognosis, with higher death rates and frequent progression to end-stage renal disease.	FUNCTION: C3 plays a central role in the activation of the complement system. Its processing by C3 convertase is the central reaction in both classical and alternative complement pathways. After activation C3b can bind covalently, via its reactive thioester, to cell surface carbohydrates or immune aggregates.; FUNCTION: Derived from proteolytic degradation of complement C3, C3a anaphylatoxin is a mediator of local inflammatory process. It induces the contraction of smooth leukocytes, increases vascular permeability and causes histamine release from mast cells and basophil leukocytes.; FUNCTION: Acylation stimulating protein: adipogenic hormone that stimulates triglyceride (TG) synthesis and glucose transport in adipocytes, regulating fat storage and playing a role in postprandial TG clearance. Appears to stimulate TG synthesis via activation of the PLC, MAPK and AKT signaling pathways. Ligand for CSAR2. Promotes the phosphorylation, ARRB2-mediated internalization and recycling of CSAR2 [PubMed:8376604, PubMed:2909530, PubMed:9059512, PubMed:10432298, PubMed:15833747, PubMed:16333141, PubMed:19615750].
P01833	Polymeric immunoglobulin receptor;PIGR;	+		FUNCTION: This receptor binds polymeric IgA and IgM at the basolateral surface of epithelial cells. The complex is then transported across the cell to be secreted at the apical surface. During this process a cleavage occurs that separates the extracellular (known as the secretory component) from the transmembrane segment.
P02511	Alpha-crystallin B chain;CRYAB;ortholog	0	Myopathy, myofibrillar, 2 (MFM2) [MIM:608810]: A neuromuscular disorder that results in weakness of the proximal and distal limb muscles, weakness of the neck, velopharynx and trunk muscles, hypertrophic cardiomyopathy, and cataract in a subset of patients. Cataract 16, multiple types (CTRCT16) [MIM:613763]: An opacification of the crystalline lens of the eye that frequently results in visual impairment or blindness. Opacities vary in morphology, are often confined to a portion of the lens, and may be static or progressive. In general, the more posteriorly located and dense an opacity, the greater the impact on visual function. CTRCT16 includes posterior polar cataract, among others. Posterior polar cataract is a subcapsular opacity, usually disk-shaped, located at the back of the lens. Myopathy, myofibrillar, fatal infantile hypertonic, alpha-B crystallin-related (MFMFIH-CRYAB) [MIM:613869]: A muscular dystrophy with onset in the first weeks of life after a normal neonatal period. Affected infants show rapidly progressive muscular rigidity of the trunk and limbs associated with increasing respiratory difficulty resulting in death before age 3 years. Cardiomyopathy, dilated III (CMD11) [MIM:615184]: A disorder characterized by ventricular dilation and impaired systolic function, resulting in congestive heart failure and arrhythmia. Patients are at risk of premature death.	FUNCTION: May contribute to the transparency and refractive index of the lens. Has chaperone-like activity, preventing aggregation of various proteins under a wide range of stress conditions. FUNCTION: Can interact with DNA and histones and may scavenge nuclear material released from damaged circulating cells. May also function as a calcium-dependent lectin.
P02743	Serum amyloid P-component;APCS;ortholog	0		
P04632	Calpain small subunit 1;CAPN1;ortholog	0		FUNCTION: Regulatory subunit of the calcium-regulated non-lysosomal thiol-protease which catalyzes limited proteolysis of substrates involved in cytoskeletal remodeling and signal transduction.
P04792	Heat shock protein beta-1;HSPB1;ortholog	0	Charcot-Marie-Tooth disease 2F (CMT2F) [MIM:606595]: A dominant axonal form of Charcot-Marie-Tooth disease, a disorder of the peripheral nervous system, characterized by progressive weakness and atrophy, initially of the peroneal muscles and later of the distal muscles of the arms. Charcot-Marie-Tooth disease is classified in two main groups on the basis of electrophysiologic properties and histopathology: primary peripheral demyelinating neuropathies (designated CMT1 when they are dominantly inherited) and primary peripheral axonal neuropathies (CMT2). Neuropathies of the CMT2 group are characterized by signs of axonal degeneration in the absence of obvious myelin alterations, normal or slightly reduced nerve conduction velocities, and progressive distal muscle weakness and atrophy. Nerve conduction velocities are normal or slightly reduced. Onset of Charcot-Marie-Tooth disease type 2F is between 15 and 25 years with muscle weakness and atrophy usually beginning in feet and legs (peroneal distribution). Upper limb involvement occurs later. Neuropathy, distal hereditary motor, 2B (HMN2B) [MIM:608634]: A neuromuscular disorder. Distal hereditary motor neuropathies constitute a heterogeneous group of neuromuscular disorders caused by selective degeneration of motor neurons in the anterior horn of the spinal cord, without sensory deficit in the posterior horn. The overall clinical picture consists of a classical distal muscular atrophy syndrome in the legs without clinical sensory loss. The disease starts with weakness and wasting of distal muscles of the anterior tibial and peroneal compartments of the legs. Later on, weakness and atrophy may expand to the proximal muscles of the lower limbs and/or to the distal upper limbs.	FUNCTION: Involved in stress resistance and actin organization.
P05109	Protein S100-A8;S100A8;ortholog	+		FUNCTION: S100A8 is a calcium- and zinc-binding protein which plays a prominent role in the regulation of inflammatory processes and immune response. It can induce neutrophil chemotaxis and adhesion. Predominantly found as calprotectin (S100A8/A9) which has a wide plethora of intra- and extracellular functions. The intracellular functions include: facilitating leukocyte arachidonic acid trafficking and metabolism, modulation of the tubulin-dependent cytoskeleton during migration of phagocytes and activation of the neutrophilic NADPH-oxidase. Activates NADPH-oxidase by facilitating the enzyme complex assembly at the cell membrane, transferring arachidonic acid, an essential cofactor, to the enzyme complex and S100A8 contributes to the enzyme assembly by directly binding to NCF2/P67PHOX. The extracellular functions involve proinflammatory, antimicrobial, oxidant-scavenging and apoptosis-inducing activities. Its proinflammatory activity includes recruitment of leukocytes, promotion of cytokine and chemokine production, and regulation of leukocyte adhesion and migration. Acts as an alarmin or a danger associated molecular pattern (DAMP) molecule and stimulates innate immune cells via binding to pattern recognition receptors such as Toll-like receptor 4 (TLR4) and receptor for advanced glycation endproducts (AGER). Binding to TLR4 and AGER activates the MAP-kinase and NF-kappa-B signaling pathways resulting in the amplification of the proinflammatory cascade. Has antimicrobial activity towards bacteria and fungi and exerts its antimicrobial activity probably via chelation of Zn(2+) which is essential for microbial growth. Can induce cell death via autophagy and apoptosis and this occurs through the cross-talk of mitochondria and lysosomes via reactive oxygen species (ROS) and the process involves BNIP3. Can regulate neutrophil number and apoptosis by an anti-apoptotic effect; regulates cell survival via ITGAM/ITGB and TLR4 and a signaling mechanism involving MEK-ERK. Its role as an oxidant scavenger has a protective role in preventing exaggerated tissue damage by scavenging oxidants. Can act as a potent amplifier of inflammation in autoimmunity as well as in cancer development and tumor spread.
P06702	Protein S100-A9;S100A9;ortholog	+		FUNCTION: S100A9 is a calcium- and zinc-binding protein which plays a prominent role in the regulation of inflammatory processes and immune response. It can induce neutrophil chemotaxis, adhesion, can increase the bactericidal activity of neutrophils by promoting phagocytosis via activation of SYK, PI3K/AKT, and ERK1/2 and can induce degranulation of neutrophils by a MAPK-dependent mechanism. Predominantly found as calprotectin (S100A8/A9) which has a wide plethora of intra- and extracellular functions. The intracellular functions include: facilitating leukocyte arachidonic acid trafficking and metabolism, modulation of the tubulin-dependent cytoskeleton during migration of phagocytes and activation of the neutrophilic NADPH-oxidase. Activates NADPH-oxidase by facilitating the enzyme complex assembly at the cell membrane, transferring arachidonic acid, an essential cofactor, to the enzyme complex and S100A8 contributes to the enzyme assembly by directly binding to NCF2/P67PHOX. The extracellular functions involve proinflammatory, antimicrobial, oxidant-scavenging and apoptosis-inducing activities. Its proinflammatory activity includes recruitment of leukocytes, promotion of cytokine and chemokine production, and regulation of leukocyte adhesion and migration. Acts as an alarmin or a danger associated molecular pattern (DAMP) molecule and stimulates innate immune cells via binding to pattern recognition receptors such as Toll-like receptor 4 (TLR4) and receptor for advanced glycation endproducts (AGER). Binding to TLR4 and AGER activates the MAP-kinase and NF-kappa-B signaling pathways resulting in the amplification of the proinflammatory cascade. Has antimicrobial activity towards bacteria and fungi and exerts its antimicrobial activity probably via chelation of Zn(2+) which is essential for microbial growth. Can induce cell death via autophagy and apoptosis and this occurs through the cross-talk of mitochondria and lysosomes via reactive oxygen species (ROS) and the process involves BNIP3. Can regulate neutrophil number and apoptosis by an anti-apoptotic effect; regulates cell survival via ITGAM/ITGB and TLR4 and a signaling mechanism involving MEK-ERK. Its role as an oxidant scavenger has a protective role in preventing exaggerated tissue damage by scavenging oxidants. Can act as a potent amplifier of inflammation in autoimmunity as well as in cancer development and tumor spread.

		0			
P06703	Protein S100-A6;S100A6;ortholog				<p>FUNCTION: May function as calcium sensor and modulator, contributing to cellular calcium signaling. May function by interacting with other proteins, such as TPR-containing proteins, and indirectly play a role in many physiological processes such as the reorganization of the actin cytoskeleton and in cell motility. Binds 2 calcium ions. Calcium binding is cooperative.</p> <p>FUNCTION: In cooperation with other chaperones, Hsp70s stabilize preexistent proteins against aggregation and mediate the folding of newly translated polypeptides in the cytosol as well as within organelles. These chaperones participate in all these processes through their ability to recognize nonnative conformations of other proteins. They bind extended peptide segments with a net hydrophobic character exposed by polypeptides during translation and membrane translocation, or following stress-induced damage. In case of rotavirus A infection, serves as a post-attachment receptor for the virus to facilitate entry into the cell.</p>
P08107	Heat shock 70 kDa protein 1A/1B;HSPA1A				<p>by hyperextensible skin, atrophic cutaneous scars due to tissue fragility and joint hyperlaxity. Marked by bilateral congenital hip dislocation, hyperlaxity of the joints, and recurrent partial dislocations. Osteogenesis imperfecta 1 (OI1) [MIM:166200]: An autosomal dominant form of osteogenesis imperfecta, a connective tissue disorder characterized by low bone mass, bone fragility and susceptibility to fractures after minimal trauma. Disease severity ranges from very mild forms without fractures to intrauterine fractures and perinatal lethality. Extraskelletal manifestations, which affect a variable number of patients, are dentinogenesis imperfecta, hearing loss, and blue sclerae. OI1 is a non-deforming form with normal height or mild short stature, and no dentinogenesis imperfecta. Osteogenesis imperfecta 2 (OI2) [MIM:166210]: An autosomal dominant form of osteogenesis imperfecta, a connective tissue disorder characterized by low bone mass, bone fragility and susceptibility to fractures after minimal trauma. Disease severity ranges from very mild forms without fractures to intrauterine fractures and perinatal lethality. Extraskelletal manifestations, which affect a variable number of patients, are dentinogenesis imperfecta, hearing loss, and blue sclerae. OI2 is characterized by bone fragility, with many perinatal fractures, severe bowing of long bones, undermineralization, and death in the perinatal period due to respiratory insufficiency. Ehlers-Danlos syndrome, autosomal recessive, cardiac valvular form (EDSCV) [MIM:225320]: A connective tissue disorder characterized by hyperextensible skin, atrophic cutaneous scars due to tissue fragility and joint hyperlaxity. In addition to joint laxity, skin hyperextensibility and friability, and abnormal scar formation, patients have mitral valve prolapse and insufficiency, mitral regurgitation, and aortic insufficiency. Osteogenesis imperfecta 3 (OI3) [MIM:259420]: An autosomal dominant form of osteogenesis imperfecta, a connective tissue disorder characterized by low bone mass, bone fragility and susceptibility to fractures after minimal trauma. Disease severity ranges from very mild forms without fractures to intrauterine fractures and perinatal lethality. Extraskelletal manifestations, which affect a variable number of patients, are dentinogenesis imperfecta, hearing loss, and blue sclerae. OI3 is characterized by progressively deforming bones, very short stature, a triangular face, severe scoliosis, grayish sclera and dentinogenesis imperfecta.</p>
P08123	Collagen alpha-2(I) chain;COL1A2;ortholog				<p>FUNCTION: Type I collagen is a member of group I collagen (fibrillar forming collagen). FUNCTION: Acts as a repressor of transcriptional activation. Inhibits the transcriptional coactivator activity of CITED1 on Smad-mediated transcription. Chaperone. Component of the PRP9-CDCSL complex that forms an integral part of the spliceosome and is required for activating pre-mRNA splicing. May have a scaffolding role in the spliceosome assembly as it contacts all other components of the core complex. Binds bacterial lipopolysaccharide (LPS) et mediates LPS-induced inflammatory response, including TNF secretion by monocytes.</p>
P11142	Heat shock cognate 71 kDa protein;HSPA6				
P12109	Collagen alpha-1(VI) chain;COL6A1;ortholog				<p>Bethlem myopathy (BM) [MIM:158810]: A benign autosomal dominant proximal myopathy characterized by early childhood onset and joint contractures most frequently affecting the elbows and ankles. Ullrich congenital muscular dystrophy (UCMD) [MIM:254090]: UCMD is a congenital myopathy characterized by muscle weakness and multiple joint contractures, generally noted at birth or early infancy. The clinical course is more severe than in Bethlem myopathy. Myosclerosis autosomal recessive (MYOSAR) [MIM:255600]: A condition characterized by chronic inflammation of skeletal muscle with hyperplasia of the interstitial connective tissue. The clinical picture includes slender muscles with firm 'woody' consistency and restriction of movement of many joints because of muscle contractures.</p> <p>FUNCTION: Collagen VI acts as a cell-binding protein.</p>
P12110	Collagen alpha-2(VI) chain;COL6A2;ortholog				
P13693	Translationally-controlled tumor protein;1				<p>FUNCTION: Collagen VI acts as a cell-binding protein. FUNCTION: Involved in calcium binding and microtubule stabilization.</p>
P13987	CD59 glycoprotein;CD59;ortholog				
P21291	Cysteine and glycine-rich protein 1;CSRPI1				<p>FUNCTION: Potent inhibitor of the complement membrane attack complex (MAC) action. Acts by binding to the C8 and/or C9 complements of the assembling MAC, thereby preventing incorporation of the multiple copies of C9 required for complete formation of the osmolytic pore. This inhibitor appears to be species-specific. Involved in signal transduction for T-cell activation complexed to a protein tyrosine kinase.; FUNCTION: The soluble form from urine retains its specific complement binding activity, but exhibits greatly reduced ability to inhibit MAC assembly on cell membranes. FUNCTION: Could play a role in neuronal development. FUNCTION: Stimulates lipid degradation in adipocytes and causes the extensive fat losses associated with some advanced cancers. May bind polyunsaturated fatty acids.</p>
P25311	Zinc-alpha-2-glycoprotein;AZGP1;ortholog				
P26447	Protein S100-A4;S100A4;ortholog				
P31151	Protein S100-A7;S100A7;ortholog				
P31949	Protein S100-A11;S100A11;ortholog				<p>FUNCTION: Facilitates the differentiation and the cornification of keratinocytes. FUNCTION: Involved in redox regulation of the cell. Reduces peroxides with reducing equivalents provided through the thioredoxin system. It is not able to receive electrons from glutaredoxin. May play an important role in eliminating peroxides generated during metabolism. Might participate in the signaling cascades of growth factors and tumor necrosis factor-alpha by regulating the intracellular concentrations of H(2)O(2).</p>
P32119	Peroxiredoxin-2;PRDX2;ortholog				
P36873	Serine/threonine-protein phosphatase PP2A				<p>FUNCTION: Protein phosphatase that associates with over 200 regulatory proteins to form highly specific holoenzymes which dephosphorylate hundreds of biological targets. Protein phosphatase 1 (PP1) is essential for cell division, and participates in the regulation of glycogen metabolism, muscle contractility and protein synthesis. Dephosphorylates RPS6KB1. Involved in regulation of ionic conductances and long-term synaptic plasticity. May play an important role in dephosphorylating substrates such as the postsynaptic density-associated Ca(2+)-calmodulin dependent protein kinase II. Component of the PTW/PP1 phosphatase complex, which plays a role in the control of chromatin structure and cell cycle progression during the transition from mitosis into interphase. FUNCTION: Because S100A10 induces the dimerization of ANXA2/p36, it may function as a regulator of protein phosphorylation in that the ANXA2 monomer is the preferred target (in vitro) of tyrosine-specific kinase.</p>
P60903	Protein S100-A10;S100A10;ortholog				<p>FUNCTION: Component of the class I major histocompatibility complex (MHC). Involved in the presentation of peptide antigens to the immune system. FUNCTION: PPIases accelerate the folding of proteins. It catalyzes the cis-trans isomerization of proline imidic peptide bonds in oligopeptides. FUNCTION: Exhibits glutathione-dependent thiol transferase and dehydroascorbate reductase activities. Has S-(phenacyl)glutathione reductase activity. Has also glutathione S-transferase activity. Participates in the biotransformation of inorganic arsenic and reduces monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsonic acid.</p>
P61769	Beta-2-microglobulin;B2M;ortholog				
P62937	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A;PIPA				<p>FUNCTION: Serine/threonine-protein kinase that acts as a molecular sensor for DNA damage. Involved in DNA nonhomologous end joining (NHEJ) required for double-strand break (DSB) repair and V(D)J recombination. Must be bound to DNA to express its catalytic properties. Promotes processing of hairpin DNA structures in V(D)J recombination by activation of the hairpin endonuclease artemis (DCLRE1C). The assembly of the DNA-PK complex at DNA ends is also required for the NHEJ ligation step. Required to protect and align broken ends of DNA. May also act as a scaffold protein to aid the localization of DNA repair proteins to the site of damage. Found at the ends of chromosomes, suggesting a further role in the maintenance of telomeric stability and the prevention of chromosomal end fusion. Also involved in modulation of transcription. Recognizes the substrate consensus sequence [ST]Q. Phosphorylates Ser-139' of histone variant H2AX/H2AFX, thereby regulating DNA damage response mechanism. Phosphorylates DCLRE1C, c-ABL/ABL1, Histone H1, HSPCA, c-jun/JUN, p53/TP53, PARP1, POU2F1, DHX9, SRF, XRCC1, XRCC1, XRCC4, XRCC5, XRCC6, WRN, MVC and RFA2. Can phosphorylate C1D not only in the presence of linear DNA but also in the presence of supercoiled DNA. Ability to phosphorylate p53/TP53 in the presence of supercoiled DNA is dependent on C1D.</p>
P78417	Glutathione S-transferase omega-1;GSTO1				
P78527	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit				<p>FUNCTION: Involved in redox regulation of the cell. Reduces peroxides with reducing equivalents provided through the thioredoxin system but not from glutaredoxin. May play an important role in eliminating peroxides generated during metabolism. Might participate in the signaling cascades of growth factors and tumor necrosis factor-alpha by regulating the intracellular concentrations of H(2)O(2). Reduces an intramolecular disulfide bond in GDPD5 that gates the ability to GDPD5 to drive postmitotic motor neuron differentiation (By similarity). FUNCTION: Appears to function predominantly as a heterodimeric complex with ILF3. This complex may regulate transcription of the IL2 gene during T-cell activation. It can also promote the formation of stable DNA-dependent protein kinase holoenzyme complexes on DNA. Essential for the efficient restulting of ILF3 (isoform 1 and isoform 2) into the nucleus.</p>
Q06830	Peroxiredoxin-1;PRDX1;ortholog				
Q12905	Interleukin enhancer-binding factor 2;ILF2				

0

Glioma (GLM) [MIM:137800]: Gliomas are benign or malignant central nervous system neoplasms derived from glial cells. They comprise astrocytomas and glioblastoma multiforme that are derived from astrocytes, oligodendrogliomas derived from oligodendrocytes and ependymomas derived from ependymocytes.

O9UGM3 Deleted in malignant brain tumors 1 prote

FUNCTION: May be considered as a candidate tumor suppressor gene for brain, lung, esophageal, gastric, and colorectal cancers. May play roles in mucosal defense system, cellular immune defense and epithelial differentiation. May play a role as an opsonin receptor for SFTPD and SPAR in macrophage tissues throughout the body, including epithelial cells lining the gastrointestinal tract. May play a role in liver regeneration. May be an important factor in fate decision and differentiation of transit-amplifying ductular (oval) cells within the hepatic lineage. Required for terminal differentiation of columnar epithelial cells during early embryogenesis. May function as a binding protein in saliva for the regulation of taste sensation. Binds to HIV-1 envelope protein and has been shown to both inhibit and facilitate viral transmission. Displays a broad calcium-dependent binding spectrum against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, suggesting a role in defense against bacterial pathogens. Binds to a range of poly-sulfated and poly-phosphorylated ligands which may explain its broad bacterial-binding specificity. Inhibits cytoinvasion of *S. enterica*. Associates with the actin cytoskeleton and is involved in its remodeling during regulated exocytosis. Interacts with pancreatic zymogens in a pH-dependent manner and may act as a Golgi cargo receptor in the regulated secretory pathway of the pancreatic acinar cell.

ANEXO C

Síndrome de Sjögren, potencial valor de diagnóstico salivar - Case-Report

SÍNDROME DE SJÖGREN: POTENCIAL VALOR DE DIAGNÓSTICO SALIVAR CASE-REPORT

NÁDIA MARTINS¹, ISABEL SANTOS^{2,3}, NUNO ROSA¹ & CLÁUDIA RIBEIRO¹
1-Universidade Católica Portuguesa; 2-Universidade Fernando Pessoa; 3-Instituto Ciências Abel Salazar

INTRODUÇÃO

O Síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune inflamatória crónica de etiologia desconhecida, caracterizada pela infiltração linfocitária focal do epitélio glandular exócrino e de múltiplos órgãos. Divide-se em primária (SSp) e secundária (SSs) segundo apareça isolada ou associada a outras doenças reumáticas autoimunes, que se apresenta como um desafio diagnóstico. É necessária a presença de 4 entre 6 critérios do «American-European Consensus Group», mas o diagnóstico definitivo nem sempre é fácil, sobretudo no que respeita aos exames funcionais.

OBJETIVOS

Os autores apresentam um caso clínico no qual a doente referia sensação de constante obstrução nasal e secura nasal e da orofaringe além de ardência e prurido ocular resistentes à diferente medicação hidratante. Evidenciar a importância, aplicabilidade e utilidade do diagnóstico precoce, fundamentado em biomarcadores salivares, em alternativa a exames de diagnósticos evasivos, como a biópsia das glândulas salivares.

RESULTADOS

O DIAGNÓSTICO FINAL FOI SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMÁRIO



Fig. 1 Língua despapilada, seca; biópsia das glândulas salivares menor do lábio inferior.

A avaliação histopatológica apresentou agregados de linfócitos, células plasmáticas e macrófagos adjacentes ao ácino glandular.



Fig. 2 Atingimento articular das mãos e pés.



No teste ocular de Schirmer a paciente apresentou um valor absoluto de 3,5 mm após 5 minutos, o que indica xeroftalmia.

DISCUSSÃO

TOMADA DE DECISÃO!

CONCLUSÕES

É sabido que o diagnóstico de SSp nem sempre é fácil porque a sua apresentação clínica é variada podendo sugerir mesmo aos clínicos mais experientes outros diagnósticos que deverão ser excluídos. Apesar de não se questionar a fiabilidade de todos os exames e meios de diagnóstico de SSp, os autores sugerem a inclusão de um outro meio complementar de diagnóstico, menos invasivo e a realizar numa fase precoce da doença, baseado na identificação de biomarcadores salivares.

Autor:

ANEXO D

Síndrome de Sjögren: da ómica, à proteómica até ao diagnóstico salivar

SÍNDROME DE SJÖGREN: DA OMICA, À PROTEOMICA ATÉ AO DIAGNÓSTICO SALIVAR

Nádia Martins¹, Carlos Vasconcelos^{2,3}, Isabel Santos⁴, Cláudia Ribeiro^{1,2} & Nuno Rosa¹

1. Universidade Católica Portuguesa; 2. Unidade de Imunologia - Hospital Dental Santa Apolónia; 3. Centro Hospitalar do Porto; 4. Instituto Ciências Médicas Salivar 3. Hospital Beato - Fernando Pessoa.

INTRODUÇÃO

O Síndrome de Sjögren (SS), doença inflamatória crónica, caracterizada por infiltração linfocitária e lesão auto-imune das glândulas exócrinas. As manifestações extraglandulares têm uma incidência até 25%, com prevalência semelhante ou mesmo ligeiramente superior à da Artrite Reumatóide, (em Portugal de 0,3 %) com maior predominância no sexo feminino e que surge geralmente na quarta década de vida. Atualmente, o diagnóstico de SS requer medidas invasivas, como biópsias das glândulas salivares, e carece de especificidade. Na maioria das vezes o diagnóstico é tardio, dificultando a instituição de uma terapêutica adequada aumentando a morbidade e incapacidade dos portadores de SS. Nos últimos anos tem-se observado um interesse crescente em desenvolver biomarcadores salivares para diagnóstico não invasivo de SS, tendo como base as técnicas de proteómica para identificar as potenciais moléculas alvo. Porém, os dados são heterogêneos e encontram-se dispersos na bibliografia, dificultando a sua interpretação. Urge desenvolver estratégias que permitam integrar a informação gerada pelas técnicas ómicas e interpretar funcionalmente esses dados à luz da fisiopatologia da doença.

OBJECTIVOS

Este trabalho tem como principal objetivo a compilação, integração e caracterização do proteoma salivar do SS visando a identificação de potenciais painéis de biomarcadores para diagnóstico precoce, não invasivo desta doença.


MATERIAL E MÉTODOS

Adicionalmente, pesquisou-se o PubMed utilizando as palavras-chave "Sjogren's Syndrome", "saliva", "prote", "diagnostics" de modo a identificar dados que ainda não estivessem depositados no OralCard. As proteínas identificadas foram anotadas e adicionadas ao OralCard de modo a estarem disponíveis à comunidade científica. A caracterização e interpretação funcional, foi feita recorrendo às ferramentas bioinformáticas PANTHER (identificação dos processos biológicos alterados) e STRING (desenho de redes de interação moleculares).

RESULTADOS

O presente trabalho permitiu identificar um total de 440 proteínas na saliva de pacientes com SS sendo que 397 foram identificadas exclusivamente em amostras das glândulas minor, 2 apenas em amostras das glândulas parótidas e 21 na saliva total mas que não apareceram em amostras das glândulas.

Gráfico 1 – Distribuição das proteínas de SS por processos biológicos



Esquema 1 – Interação das proteínas identificadas nos processos imunológicos de SS




Tabela 1- Proteínas que se encontram aumentadas na SS

Gene	Proteína
PSG100	S100A6
PSG102	S100A6
PSG103	S100A7
PSG109	SCN11
PSG104	PI3R

A falta de dados epidemiológicos nacionais, confiáveis e atualizados sobre a SS corroborou com uma realidade há muito identificada.

Epidemiologicamente a SS é uma doença autoimune, relativamente frequente na população, com maior incidência em pacientes do sexo feminino e a sua história natural não está completamente esclarecida.

A xerostomia e a xerofalmitis são as queixas mais comuns. Porém é de salientar que muitos doentes têm índices de ODV muito diminuídos comparáveis a outras doenças reumáticas como a Artrite Reumatóide ou o Lúpus.

Para além dos sintomas clínicos característicos desta condição, uma história médica e médica dentária é imprescindível para um correto diagnóstico, sendo necessário exames complementares para o confirmar.

Numa amostra salivar, verifica-se um total de 440 de proteínas, sendo que 397 são oriundas das glândulas salivares minor, 2 oriundas da parótida, 21 proteínas oriundas da saliva total e 4 delas aparecem em todas as amostras.

Foram encontradas no OralCard 477 proteínas salivares envolvidas na SS, destas 33 estão envolvidas na resposta imunológica. Através da identificação destas 33 proteínas obtive-se as funções biológicas, utilizando o UniProt.

Das 33 proteínas envolvidas na resposta imunológica, 5 delas encontram-se aumentadas (P65189; P66762; P31151; P61789; P51833).

CONCLUSÕES

Este estudo permitiu compilar e caracterizar sumariamente o proteoma salivar do SS, tornando-o disponível a toda a comunidade científica que se dedica ao estudo desta patologia. Tendo em conta a importância dos dados de quantificação de proteínas alteradas em SS, sugere-se o desenho de estratégias laboratoriais que permitam essa quantificação. Pretende-se que este trabalho de investigação contribua para o avanço na compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na fisiopatologia de SS e na descoberta de potenciais biomarcadores salivares desta doença. Este trabalho permitiu compilar e caracterizar sumariamente as proteínas de maior interesse na SS, assim como identificar quais os processos biológicos mais relevantes em que estão envolvidas.

Autor: nadapriscilacmartins@gmail.com

