

Indice

Agradecimientos	ii
Lista de abreviaturas	vii
Resumen	x
Abstract	xii
Introducción	1
<i>Síndrome de Sjögren</i>	1
<i>Etiología del síndrome de Sjögren</i>	1
<i>Factores Genéticos</i>	4
<i>Estrés de retículo, respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) y autoinmunidad</i>	5
<i>Glándulas salivales y estrés de RER</i>	8
<i>Epigenética</i>	10
<i>Metilación del DNA</i>	12
Regulación de la transcripción y metilación de promotores.	12
<i>Epigenética y autoinmunidad</i>	14
<i>Epigenética e inflamación</i>	16
Hipótesis	19
Objetivo general	19
Objetivos específicos	19
Materiales y Métodos	20
<i>Pacientes con síndrome de Sjögren primario e individuos controles</i>	20
<i>Obtención de GSL</i>	22
<i>Cultivo de células HSG en dos dimensiones (2D)</i>	22
<i>Extracción de DNA genómico</i>	22
<i>Identificación de islas CpG y diseño de partidores</i>	23
<i>Modificación con bisulfito</i>	24
<i>Reacción en cadena de la polimerasa sensible a metilación (MS-PCR)</i>	25

<i>Methylation-Sensitive High Resolution Melting (MS-HRM)</i> -----	25
<i>Extracción de RNA total</i> -----	27
<i>Electroforesis de RNA en geles de agarosa-formaldehído</i> -----	28
<i>Síntesis de cDNA</i> -----	28
<i>PCR en Tiempo Real</i> -----	28
<i>Metilación global del DNA en la GSL</i> -----	29
<i>Caracterización del infiltrado inflamatorio en GSL de pacientes SS</i> -----	30
<i>Análisis de correlación</i> -----	31
<i>Análisis estadístico</i> -----	31
Resultados -----	32
Objetivo general 1. Analizar el estado de metilación global del DNA y de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α en GSL de pacientes SS y controles. -----	32
<i>Objetivo específico 1. Determinar el nivel de metilación global del DNA en GSL de pacientes SS e individuos controles</i> -----	32
<i>Objetivo específico 2. Determinar el índice de metilación de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α (IRE1α, XBP-1 y GRP78) en GSL de pacientes SS e individuos controles.</i> -----	36
<i>Estado de metilación de la región promotora de XBP-1 en GSL</i> -----	41
<i>Objetivo específico 3. Correlacionar los niveles glandulares de mRNA de TNF-α o IFN-γ con el índice de metilación de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α (IRE1α, XBP-1 y GRP78).</i> -----	42
Objetivo general 2. Evaluar el efecto de citoquinas pro-inflamatorias en el estado de metilación de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α en células HSG. -----	44
<i>Objetivo específico 1. Determinar el índice de metilación de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α (IRE1α y GRP78) bajo el efecto de TNF-α e IFN-γ</i> -----	44
Anexo 1. Determinar los niveles de mRNA de DNMT1 en GSL de pacientes SS y controles y en células HSG tratadas con citoquinas. -----	46
Discusión -----	48
<i>Nivel de metilación global en glándulas salivales labiales.</i> -----	48
<i>Estado de metilación de las regiones promotoras para los genes IRE1α, XBP-1 y GRP78</i>	51

<i>Índice de metilación de las regiones promotoras de genes de la vía IRE1α (IRE1α, XBP-1 y GRP78) bajo el efecto de TNF-α e IFN-γ</i> -----	53
Conclusiones -----	58
Bibliografía -----	60
Anexo 2: Acta de aprobación del consentimiento informado -----	68
Figura Suplementaria 1 -----	75