

Histopathologisch onderzoek van het lipbiopt wordt door velen beschouwd als de meest ziektespecifieke test bij de diagnostiek van het Sjögren's syndroom. Er bestaat echter nog geen eenstemmigheid over de interpretatie van de histopathologische bevindingen. Een graad IV focale lymfocyttaire adenitis, hetgeen overeenkomt met de aanwezigheid van meer dan 1 lymfocytair focus per 4 mm² labiaal speekselklierweefsel (focus score groter dan 1), wordt door velen als norm gehanteerd. Dit criterium resulteert echter in hoge aantallen fout positieve en fout negatieve diagnoses.

In hoofdstuk 1 wordt een overzicht van de literatuur gegeven met betrekking tot de Sjögren's syndroom diagnostiek, en in het bijzonder de betekenis van het lipbiopt. Een nieuw en veelbelovend diagnostisch criterium voor Sjögren's syndroom met hoge specificiteit en sensitiviteit, gebaseerd op de percentages IgA- en IgG-bevattende plasma cellen in het lipbiopt werd recent beschreven.

De studie, beschreven in dit proefschrift, had tot doel de mogelijkheden van kwantitatief immunohistologisch onderzoek van lipbiopten verder te onderzoeken, waarbij de nadruk lag op diagnostiek, prognose en pathogenese van het Sjögren's syndroom.

In hoofdstuk 2 zijn de effecten van weefselfixatie en immunohistologische kleurtechniek op het kwantificeren van plasmacellulaire infiltraten in speekselklier weefsel bestudeerd. Gelamelleerd submandibulair speekselklierweefsel werd om en om gefixeerd in een 4% gebufferde formaline oplossing of een sublumaatformaline oplossing. Weefselcoupes werden gekleurd met een indirecte immunoperoxidase of een peroxidase anti-peroxidase (PAP) techniek en plasmacellen werden gekwantificeerd door 3 onafhankelijke onderzoekers. Relatieve aantallen immunoglobuline (Ig)-bevattende plasma cellen bleken minder beïnvloed te zijn te zijn door systematische fouten ten gevolge van weefselfixatie en immunohistologische kleurtechniek dan absolute aantallen Ig-bevattende plasma cellen. De beste reproduceerbaarheid tussen verschillende onderzoekers werd verkregen in coupes van sublumaatformaline gefixeerd weefsel gekleurd volgens de PAP techniek. Deze combinatie van weefsel fixatie en kleurtechniek werd vervolgens gebruikt in de andere kwantitatief immunohistologische studies, beschreven in dit proefschrift.

In hoofdstuk 3 werd kwantitatief immunohistologisch onderzoek toegepast op lipbiopten van 80 gezonde individuen, 46 patiënten met het Sjögren's syndroom, 5 patiënten met "waarschijnlijk Sjögren's syndroom", 36 patiënten met keratoconjunctivitis sicca (KCS) met een lymfocyttaire focus score kleiner dan 1 in het lipbiopt en 18 patiënten met reumatoïde artritis zonder klinisch bewijs voor het Sjögren's syndroom. Een criterium gebaseerd op percentages IgA- en IgG-bevattende plasma cellen [discriminant functie (DF) = $0.062 \times \%IgA - 0.088 \times \%IgG - 4.387$; de diagnose Sjögren's syndroom wordt gesteld bij DF kleiner dan -2] gaf de beste classificatie resultaten (specificiteit 98.8%, sensitiviteit 97.5%). Een criterium gebaseerd op het percentage IgA-bevattende plasma cellen (de diagnose Sjögren's syndroom wordt gesteld bij een percentage IgA-bevattende plasma cellen kleiner dan 70) had een specificiteit van 98.8% en een sensitiviteit van 95.0%. De reproduceerbaarheid van dit kwantitatief immunohistologisch onderzoek was tussen verschillende onderzoekers 97%; kwantificering van plasmacellen kon accuraat worden uitgevoerd door analisten. In deze studie is voor het eerst aangetoond dat het met behulp van kwantitatief immunohistologisch onderzoek mogelijk is om 1) de diagnose Sjögren's syndroom te bevestigen in lipbiopten van patiënten met KCS zonder een graad IV focale lymfocyttaire adenitis; en 2) onderscheid te maken tussen een graad IV focale lymfocyttaire adenitis in

labiale speekselklieren van patiënten met Sjögren's syndroom en van patiënten met reumatoïde artritis zonder Sjögren's syndroom. Deze studie toont aan dat kwantitatief immunohistologische criteria een hogere sensitiviteit en ziekte specificiteit hebben dan het veel gebruikte graad IV lymfocyttaire adenitis criterium, hetgeen overeen komt met een lymfocyttaire focus score groter dan 1. Het wordt aanbevolen deze criteria op te nemen in de internationale diagnostische criteria voor het Sjögren's syndroom.

In hoofdstuk 4 is kwantitatief immunohistologisch onderzoek verricht op labiale speekselklieren van 45 patiënten met het Sjögren's syndroom, 18 patiënten met reumatoïde artritis zonder Sjögren's syndroom en 80 gezonde individuen. Monotypische plasma cellen, gedefinieerd door een κ/λ ratio ≥ 3 , werden slechts gezien bij de oudere Sjögren's syndroom patiënten (>43 jaar). Bij nagenoeg alle patiënten waren de monotypische plasma cellen aanwezig in multiële labiale speekselklieren en IgM/ κ monotypie werd het meest gezien. Bij geen van de Sjögren's syndroom patiënten waren er aanwijzingen voor een systemische lymfoproliferatieve aandoening op het tijdstip dat lipbiopt werd genomen. De prevalentie van monotypische plasma cel populaties in onze Sjögren's syndroom patiënten groep was 22% (10/45); er was geen statistisch significante voorkeur voor primair Sjögren's syndroom. Van klinisch belang is onze observatie dat progressie naar systemische lymfoproliferatieve aandoeningen tot op heden alleen in deze subgroep is opgetreden met een prevalentie van 30% (3/10). Er bestaat dus een subgroep van Sjögren's syndroom patiënten met monotypische plasma cel populaties in hun labiale speekselklierweefsel. Patiënten in deze subgroep lijken een verhoogd relatief risico te hebben om systemische lymfoproliferatieve aandoeningen te ontwikkelen.

In hoofdstuk 5 is het patroon van het La(SSB) antigeen bestudeerd in lipbiopten van individuen met en zonder het Sjögren's syndroom, waarbij gebruik werd gemaakt van een muizen monoclonaal antilichaam gericht tegen het La(SSB) antigeen. Het patroon van het La(SSB) antigeen werd ook bestudeerd in normale weefsels van obductie materiaal, binnen 2 uur postmortaal verkregen. Bij Sjögren's syndroom patiënten werd, in vergelijking met patiënten zonder het Sjögren's syndroom, een duidelijke accumulatie van het La(SSB) antigeen gezien in de nuclei van acinaire cellen van speekselklieren. Bij Sjögren's syndroom patiënten bleek het La(SSB) antigeen ook aanwezig in het cytoplasma als een perinucleaire of diffuse kleuring, soms werd het langs de cel membraan gezien. Dit afwijkende patroon van het La(SSB) antigeen correleerde zeer goed met kwantitatief immunohistologische afwijkingen in het labiale speekselklier weefsel, echter niet met een lymfocyttaire focus score >1 . Een normaal patroon van het La(SSB) antigeen in labiaal speekselklierweefsel van patiënten met reumatoïde artritis met een lymfocyttaire focus score >1 steunt de suggestie die in hoofdstuk 3 werd gedaan, namelijk dat de focale lymfocyttaire adenitis van labiale speekselklieren bij reumatoïde artritis gebaseerd is op een ander pathogenetisch mechanisme dan dat van Sjögren's syndroom. Het afwijkende patroon van het La(SSB) antigeen in labiale speekselklieren van Sjögren's syndroom patiënten steunt de hypothese dat het La(SSB) antigeen zelf een lokale antigeen gedreven immuun reactie kan opwekken. Een afwijkend patroon van het La(SSB) antigeen in labiaal speekselklierweefsel van Sjögren's syndroom patiënten kan tevens als een diagnostische marker worden gebruikt.

In hoofdstuk 6 worden de mogelijkheden van kwantitatief immunohistologisch onderzoek in de kliniek wordt geïllustreerd aan de hand van casuïstiek van 3 patiënten. Hoofdstuk 7 beschrijft de moeilijkheden die men kan tegenkomen bij de differentiatie tussen Sjögren's syndroom en sarcoidosis, en de waarde van lipbiopsie in zulke gevallen.

Conclusies

In de diagnostiek van het Sjögren's syndroom mag een lipbiopsie niet ontbreken. Het verdient aanbeveling het biopt te nemen volgens de weinig traumatische horizontale incisie techniek, waarbij tenminste 3 speekselklierjes dienen te worden verkregen. Om IgA-, IgG-, IgM-, kappa- en lambda- bevattende plasma cellen te visualiseren, wordt het weefsel gefixeerd in sublimaatformaline, en worden 5 μ m serie coupes gekleurd met een PAP techniek. De diagnose Sjögren's syndroom kan worden gesteld als de DF-score kleiner is dan -2 of het percentage IgA-bevattende plasma cellen kleinere is dan 70. Een kappa/lambda ratio ≥ 3 in het plasmacellulaire infiltraat kan wijzen op een verhoogd relatief risico om een systemische monoclonale lymfoproliferatieve aandoening te ontwikkelen.