

Samenvatting

In 1933 werd door de Zweedse oogarts Hendrik Sjögren een syndroom beschreven bestaande uit de klinisch trias van keratoconjunctivitis sicca, xerostomie en rheumatoide artritis. Tegenwoordig wordt het naar deze Zweedse arts genoemde syndroom gedefinieerd als een auto-immuun exocrinopathie. In de diagnostiek van het syndroom van Sjögren (SS) speelt het sublabiale speekselklier (SSG= sublabial salivary gland) biopt een centrale rol. De aanwezigheid van lymfocyttaire foci wordt tot op heden als een noodzakelijke voorwaarde beschouwd om de diagnose SS te stellen, waarbij een focus score van meer dan 1 lymfocytair focus per 4 mm² SSG weefsel als norm wordt gehanteerd.

In Hoofdstuk 1 worden achtereenvolgens een historisch overzicht, een samenvatting van de huidige stand van zaken en een opsomming van de meest gebruikte diagnostische onderzoeksmethoden gegeven. De tekortkomingen en beperkingen van de genoemde onderzoeksmethoden worden eveneens besproken. De belangrijkste begrippen en definities, die voor de diagnostiek van het syndroom van Sjögren (SS) van belang zijn, worden in het eerste hoofdstuk geïntroduceerd. Speciale aandacht wordt besteed aan de histopathologische veranderingen, die gezien worden in de grote en kleine speekselklieren van patienten met SS. Op grond van literatuur gegevens wordt aangetoond dat het algemeen aanvaarde histopathologische criterium (een focus score >1) voor de bevestiging van SS ernstige tekortkomingen toont en dat meer specifieke en sensitieve classificatie regels noodzakelijk zijn. Het doel van het in dit proefschrift beschreven onderzoek was het nagaan of de betrouwbaarheid van het sublabiale speekselklier biopt als diagnosticum voor SS kan worden verhoogd door de introductie van morfometrische en immunohistochemische technieken. De volgende vraagstellingen werden hierbij geformuleerd:

1. Komt een focus score >1 (>1 lymfocytair focus per 4

- mm² SSG weefsel) ook voor in normale sublabiale speekselklieren?
2. Wat zijn de veranderingen in het SSG weefsel als gevolg van het fysiologisch verouderings proces en is het mogelijk de veranderingen in de verschillende weefsel componenten te beschrijven met eenvoudige wiskundige modellen?
 3. Zijn de veranderingen in het SSG weefsel van patiënten met SS (zoals atrofie van acini, interstitiele fibrose, hyperplasie en ductectasie van de intralobulaire ducti en een diffuus lymfoplasmacytair infiltraat) te beschouwen als leeftijdsafhankelijke veranderingen of zijn ze van belang voor de diagnostiek van SS?
 4. Is het mogelijk diagnostische criteria te ontwikkelen met een hoge specificiteit en sensitiviteit, waarbij gebruik gemaakt wordt van kwantitatieve histologische parameters?
 5. Wat is de diagnostische betekenis van het kwantificeren van de immunoglobuline bevattende cellen in het SSG biopt?
 6. Zijn de hoge percentages IgG- en IgM-bevattende plasma cellen in het SSG weefsel een expressie van een locale of systemische B-cel en plasma cel hyperactiviteit?
 7. Kan de morfometrische diagnostiek van SS worden verbeterd door combinatie van histomorfometrische en immunohistochemische parameters?
 8. Is het mogelijk onderscheid te maken tussen de primaire en secundaire vorm van SS door middel van een SSG biopt?
 9. Kan SS een histologisch beeld geven dat lijkt op dat van andere ziekten die gepaard kunnen gaan met een sicca syndroom?

In Hoofdstuk 2 zijn de resultaten beschreven van een onderzoek naar de aanwezigheid van lymfocyttaire infiltraten in SSG biopten van 68 gezonde individuen. Hieruit is gebleken dat in 15 biopten (22%) een focale lymfocyttaire adenitis aanwezig was en in 6 biopten (9%) bedroeg de focus score meer dan 1 lymfocytair infiltraat per 4 mm² SSG weefsel. Op grond van deze bevindingen en de veronderstelling dat de incidentie van een focale lymfocyttaire adenitis met een focus score >1 in patiënten met een sicca syndroom niet kleiner is dan in de normale populatie, werd geconcludeerd dat het histopathologisch criterium voor SS (= focus score >1) kan resulteren in 9% fout positieve diagnoses. In de 68 SSG biopten werden ook

de onderstaande 11 histomorfometrische parameters bepaald om de histologische veranderingen in het SSG weefsel als gevolg van het fysiologisch verouderingsproces te bestuderen. Deze 11 histomorfometrische parameters zijn: de volume percentages van de acini, het fibreus weefsel, de vaten, de intralobulaire ducti (ILD), het diffuus lymfoplasmacytair infiltraat (DLPI) en de lymfocyttaire foci, alsmede de lengtedichtheid van de ILD, de buiten- en binnen-diameter van de ILD, het verschil tussen buiten- en binnen-diameter en de verhouding tussen binnen- en buiten-diameter van de ILD. Statistische analyse van de data toonde aan dat een lineair regressie model gebruikt kon worden om de leeftijdsafhankelijkheid van de morfometrische parameters te beschrijven. Uit de lineaire regressie analyse van de histomorfometrische parameters is gebleken dat de histologische veranderingen, die in het SSG weefsel van patienten met SS worden beschreven (zoals atrofie van acini, interstitiele fibrose, hyperplasie en ductectasie van de intralobulaire ducti) ook optreden als gevolg van het verouderings proces.

In Hoofdstuk 3 zijn de resultaten van een vergelijkend morfometrisch onderzoek aan SSG biopten van een controle groep en een groep SS patienten besproken. Uit de resultaten van dit onderzoek is gebleken dat de histologische veranderingen in het SSG weefsel van SS patienten niet uitsluitend kunnen worden toegeschreven aan de gevolgen van het fysiologisch verouderings proces. De graduele verschillen tussen beide processen kunnen gebruikt worden om de controle groep van de SS groep te onderscheiden.

In Hoofdstuk 4 wordt gebruik gemaakt van deze graduele verschillen om concrete histomorfometrische diagnostische classificatie regels op te stellen. Een stapsgewijze lineaire discriminant analyse uitgevoerd op 10 voor de leeftijd gecorrigeerde histomorfometrische parameters resulteerde in een discriminant functie Y, die afhankelijk is van 5 histomorfometrische parameters en een correctie term voor de leeftijd. Deze parameters zijn, in volgorde van afnemend discriminerend vermogen: Vol% DLPI, Vol% ILD, Vol% acini, de verhouding tussen binnen- en buiten-diameter van de ILD en volume percentage vaten. Substitutie van de leeftijd en de gemeten waarden van de 5 histomorfometrische parameters in de discriminant functie Y levert een discriminant score op. Als de discriminant score Y kleiner is dan -1.27 wordt de diagnose SS gesteld.

Toepassing van dit selectie criterium resulteerde in een onjuiste classificatie van 2 van de 68 controle biopten en 1 van de 20 SS biopten. Dit komt overeen met een specificiteit van 97%, een sensitiviteit van 95% en een totaal percentage onjuiste classificaties van 3.4%. Naast deze hoge specificiteit en sensitiviteit heeft het gebruik van de discriminant score Y het voordeel dat de aanwezigheid van lymfocyttaire foci geen vereiste meer is om de diagnose SS te kunnen stellen.

In Hoofdstuk 5 wordt een kwantitatief immunohistochemisch onderzoek beschreven naar de aard en samenstelling van het plasma cellulair infiltraat in 65 controle en 19 SS biopten. Uit dit onderzoek is gebleken dat kwantificering van de immunoglobuline klassen in het plasmacellulair infiltraat in het SSG weefsel zeer belangrijke diagnostische waarde heeft. Deze conclusie is gebaseerd op de grote verschillen die er bestaan tussen de percentages IgA-, IgG- en IgM-bevattende plasma cellen in de aspecifieke adenitis in de controle groep en het ontstekings infiltraat in het SSG weefsel van SS patienten. De discriminant functie DF(1), die in dit hoofdstuk is afgeleid, hangt uitsluitend af van de percentages IgA- en IgG- bevattende plasma cellen. Toepassing van het selectie criterium $DF(1) < -1.19$ op de 65 controle en 19 SS biopten resulteerde in 3 onjuist geclassificeerde controle biopten terwijl alle SS patienten correct werden geclassificeerd. Dit komt overeen met een specificiteit van 95.4%, een sensitiviteit van 100% en een totaal percentage onjuist geclassificeerde gevallen van 3.6%. Deze classificatie resultaten zijn vrijwel identiek aan die van de discriminant functie Y, die gebaseerd is op 5 histomorfometrische parameters. Het bepalen van de discriminant score DF(1) is echter aanzienlijk minder tijdrovend dan die van Y, zodat aan DF(1) de voorkeur moet worden gegeven. In Hoofdstuk 5 wordt verder aangetoond dat er statistisch significante correlaties bestaan tussen de percentages IgG- en IgM-bevattende plasma cellen in het SSG weefsel en de overeenkomstige percentages serum immunoglobulinen. Een stapsgewijze lineaire discriminant analyse uitgevoerd op de percentages IgA-, IgG- en IgM-bevattende plasma cellen en de 5 meest discriminerende histomorfometrische parameters uit de discriminant functie Y resulteerde in een discriminant functie DF(2), welke afhankelijk is van 5 parameters en een correctie term voor de leeftijd. Deze parameters zijn, gegeven in volgorde van afnemend discriminerend vermogen, het percentage IgA-dragende plasma cellen, het volume

percentage diffuus lymphoplasmacytair infiltraat, het percentage IgG-bevattende plasma cellen en de volume percentages van de acini en intralobulaire ducti. Het selectie criterium $DF(2) < -1.79$ voor de diagnose SS heeft een specificiteit van 98.5% en een sensitiviteit van 100%, terwijl het te verwachte totale percentage onjuiste diagnoses 1.2% is. Dus de meest betrouwbare diagnoses worden verkregen met behulp van de discriminant score $DF(2)$, die zowel de informatie over de histologische als immunologische veranderingen in het SSG biopt gebruikt om de diagnose SS te stellen.

Uit de resultaten van het onderzoek beschreven in de Hoofdstukken 4 en 5 kan worden geconcludeerd dat het niet mogelijk is om met behulp van de histomorfometrische en immunohistochemische parameters, die in deze studies werden gebruikt, te discrimineren tussen de primaire en secundaire vorm van SS.

In Hoofdstuk 6 wordt aangetoond dat de zeldzame combinatie van meerkernige reuscellen en epimyoepitheel eilanden een histologisch beeld geeft, dat een sterke gelijkenis toont met het granulomateus ontstekings proces zoals gezien wordt bij sarcoidose. De peroxidase-antiperoxidase (PAP) techniek met antilichamen gericht tegen muramidase is in staat te discrimineren tussen epimyoepitheel eilanden in SS en de epithelioid granulomen in sarcoidose. De epithelioiden cellen zijn muramidase positief terwijl de epimyoepitheel cellen geen muramidase bevatten.

In Hoofdstuk 7 wordt met behulp van de resultaten van de studies, beschreven in de voorafgaande hoofdstukken, een antwoord gegeven op de in Hoofdstuk 1 gestelde vragen en worden deze in een breder kader geplaatst. In de algemene discussie wordt nader ingegaan op de mogelijk-heden voor de (immuno-)patholoog om de in dit proefschrift genoemde diagnostische criteria toe te passen in de dagelijkse praktijk.