

Debreceni Orvostudományi Egyetem Stomatologiai Klinika* (igazgató: Dr. Szentpétery József egyetemi tanár) Hajdú-Bihar Megyei Tanács Kórház Rendelőintézet Központi Laboratóriuma** (főigazgató főorvos: Dr. Pinczés László) Debreceni Orvostudományi Egyetem III. sz. Belgyógyászati Klinika*** (igazgató: Dr. Szegedi Gyula egyetemi tanár), Debrecen

Immunglobulinok lézernefelometriás meghatározása Sjögren-szindrómás betegek parotis nyálából

DR. NAGY GÁBOR*, DR. PATVAROS ISTVÁN**, DR. TAMÁSI LÁSZLÓ***,
DR. ZEHER MARGIT***, DR. SZENTPÉTERY JÓZSEF*

Az autoimmun betegségek csoportjába sorolt Sjögren-szindrómát klinikailag a xerostomia, keratoconjunctivitis sicca és valamilyen kötőszöveti betegség (pl. rheumatoid arthritis, systemás lupus erythematosus (SLE), polymyositis stb.) hármasa jellemzi. Egyéb autoimmun betegség társulása nélkül, ha csak az első két tünet jelentkezik, primer „sicca” szindrómáról beszélünk. A „sicca” komponens kialakulásáért az exokrin mirigyeket károsító autoimmun természetű gyulladásos infiltrátum felelős. Hisztokémiai módszerekkel kimutatták, hogy az infiltráló sejtek IgG, IgA, IgM aktivitást mutatnak [1, 15]. A kórkép etiológiája a mai napig sem tisztázott pontosan, bár a legújabb kutatások számos immunológiai hasonlóságot tártak fel a Sjögren-szindróma és a „szerezett immunhiányos tünetegyüttes (AIDS)” között [14].

Az utóbbi években egyre növekszik azoknak a vizsgálatoknak a száma, melyek a nyálösszetevők változásának jelentőségét tanulmányozzák a betegség patomechanizmusában, és diagnosztikus értéket tulajdonítanak neki. Az anorganikus komponensek mennyiségi viszonyait már meglehetősen pontosan sikerült tisztázni [2, 3, 10, 13], az immunglobulinokat illetően azonban az irodalmi adatok nagyon ellentmondóak [1, 6, 7, 8, 12]. Az általában használt géldiffúziós módszereknél két probléma merül fel. Egyrészt a módszer viszonylagos alacsony érzékenysége miatt a nyál előzetes koncentrálására van szükség, ami a kis mennyiségű, viszkózus nyálminták esetében nehézkes. További nehézséget jelent a rendszer kalibrálása is, mivel a nyálban található szekretoros IgA polimer, míg a szérum IgA monomer szerkezetű. A szerzők egy része tisztított nyál vagy colostrum IgA-t használ standardként, ezeket nehéz beszerezni és a polimerek eloszlása nem feltétlenül egyezik meg a nyáléval. Ezeknek a nehézségeknek a kiküszöbölésére ajánlották *Virella* és mtsai (1978) a lézernefelometriát, melynek fő előnye az immundiffúzióval szemben: 1. a minta koncentrációja nem szükséges, mivel ez a módszer legalább 100-szor érzékenyebb, mint a géldiffúziós, 2. a meghatározás a polietilén-glikol precipitáción alapul, a létrejött kicsapódott részecske méretét elhanyagolhatóan befolyásolja, hogy a mintában szekretoros, vagy monomer IgA található. Vizsgálataink során a lézernefelometriás technikával kívántuk elemezni, hogy Sjögren-szindrómás betegek parotis nyálában mely immunglobulinok találhatóak és ezek mennyisége hogyan változik a nyáleválasztás ingerlésének hatására.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat 15 Sjögren-szindrómás beteg parotis nyálából végeztük. (A sicca szindrómához társuló autoimmun kórkép 14 esetben rheumatoid arth-

Érkezett: 1986. július 7.
Elfogadva: 1987. március 30.

ritis, 1 esetben pedig SLE volt.) A diagnózis felállításában a jellegzetes klinikai tüneteken kívül az immunológiai, szemészeti és sialographiás vizsgálatok, valamint az ajak biopszia útján nyert kis nyálmirigyek szövettani vizsgálata nyújtott segítséget. Kontrollcsoportként egészséges, kötőszöveti és nyálmirigybetegség semmilyen tünetét nem mutató személyek szolgáltak, akiknek kor és nem szerinti eloszlása hasonló volt a betegekéhez.

A nyál gyűjtését reggel 8–10 óra között éhgyomorral végeztük a Stenon vezetékbe vezetett vékony műanyag cső segítségével [4]. Néhány perces várakozás után a nyugalmi körülmények között elválasztott nyálát 10–15 percig fogtuk fel. A nyáleválasztás ingerlésére 2%-os citromsavat csepegtettünk a nyelv szélére percnként háromszor. A mintagyűjtést 1–2 perc múlva kezdtük el és 3–5 percig folytattuk a szekréció ütemétől függően. Az immunglobulinok meghatározását *Virella* és mtsai-hoz (1978) hasonlóan lézernefelometrián végeztük. Vizsgálatainkhoz Hyland PDQ™ lézernefelométert, a gyár által készített immunglobulin tesztek és referencia szérumot használtunk. A szignifikancia számításokat Student-féle t-próba módszerrel végeztük.

Eredmények

A vizsgált mintákban jól mérhető koncentrációban mutattunk ki IgG-t, IgA-t, IgM-et, mind a nyugalmi nyálból, mind a citromsavas ingerlést követő szekrécióból.

A kontrollcsoportban az ingernyálat vizsgálva az immunglobulin koncentrációk a nyugalmi szinthez képest szignifikánsan ($p < 0,01$) csökkentek, az IgG és IgM esetében mintegy felére, az IgA pedig kb. harmadára. A Sjögren-szindrómás betegek a kontroll-csoporthoz képest mindhárom immunglobulin esetében szignifikánsan ($p < 0,01$) magasabb koncentrációt mutattak a nyu-

I. táblázat

Nyugalmi parotisnyál mennyisége és immunglobulin tartalma egészséges kontrollokban és Sjögren-szindrómás betegekben ($\bar{x} \pm SD$)

	Szekréció ml/min	IgG mg/l	IgA mg/l	IgM mg/l
Kontroll (n=15)	0,11 $\pm 0,07$	33,0 $\pm 11,4$	142,5 $\pm 46,3$	17,4 $\pm 3,5$
Sjögren-szindr. (n=15)	0,35 $\pm 0,011$	107,7 $\pm 56,1$	438,7 $\pm 152,3$	78,8 $\pm 15,1$

II. táblázat

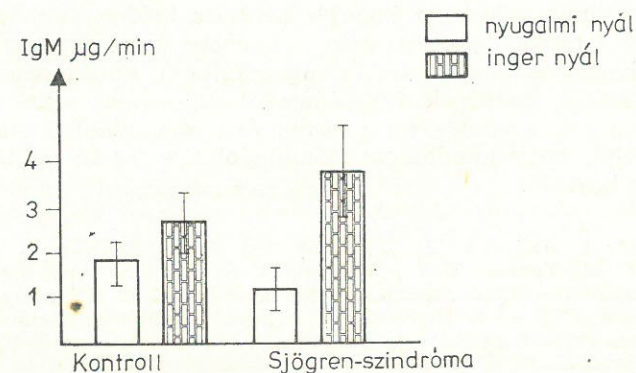
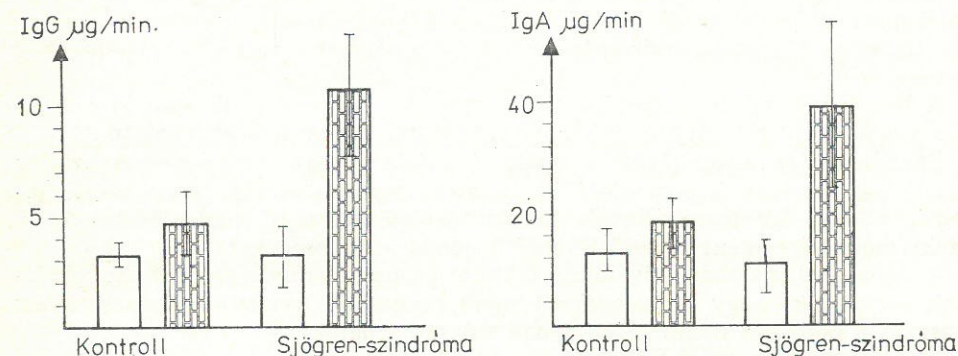
Parotisnyál mennyisége és immunglobulin tartalma citromsavas ingerlést követően ($\bar{x} \pm SD$)

	Szekréció ml/min	IgG mg/l	IgA mg/l	IgM mg/l
Kontroll (n=15)	0,399 $\pm 0,08$	15,67 $\pm 9,2$	52,0 $\pm 22,2$	9,93 $\pm 4,3$
Sjögren-szindr. (n=15)	0,14 $\pm 0,095$	65,0 $\pm 35,1$	314,2 $\pm 108,2$	44,0 $\pm 33,8$

galmi és inger nyálban egyaránt. A citromsavos ingerlést követően mért immunglobulin koncentrációk Sjögren-szindrómás betegekénél szintén csökkentek a nyugalmihoz képest, de kisebb mértékben, mint a kontroll-csoportnál. Eredményeinket az I. és II. táblázatban foglaltuk össze.

Az immunglobulinok szekrécióját vizsgálva a nyugalmi állapotban kiválasztott mennyiségek az IgG és IgA esetében nem különböztek jelentős mértékben, míg az IgM Sjögren-szindrómásoknál 1,12 $\mu\text{g}/\text{min}$, a kontrollcsoport 1,77 $\mu\text{g}/\text{min}$. értéket mutatott (nem szignifikáns).

Az inger nyál vizsgálatánál a Sjögren-szindrómások az egészségesekéhez viszonyítva kifejezetten magasabb ($p < 0,01$) szekréciót mutattak mindhárom immunglobulin esetében (1. ábra).



1. ábra. Egészséges kontrollok és Sjögren-szindrómás betegek parotisnyálában kiválasztott immunglobulinok mennyisége ($\mu\text{g}/\text{min}$) nyugalmi körülmények között és citromsavos ingerlést követően. a) IgG (nyugalmi-ingernyál) kontroll, Sjögren-szindróma. b) IgG (nyugalmi-ingernyál) kontroll, Sjögren-szindróma. c) IgM (nyugalmi-ingernyál) kontroll, Sjögren-szindróma.

Megbeszélés

A nyálban található immunglobulinok meghatározásának technikai nehézségeit jelzi, hogy pl. Stuchell és mtsai (1984) szignifikánsan emelkedett IgA, IgG szinteket találtak Sjögren-szindrómás betegek nyálában, míg Tsianos és mtsai (1985) IgG-t és IgM-et nyomokban sem tudtak kimutatni immundiffúziós technikával. Mach munkacsoportja szintén csak IgA-t talált a Mancini-

féle módszerrel egészségesek parotis nyálában, s így az általuk Sjögren-szindrómás betegekben kimutatott IgM és IgG-t diagnosztikus jelentőségűnek tartják (Mach és mtsai 1976).

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy az egészségesek parotis nyála IgA-n kívül IgG-t és IgM-et is tartalmaz mérhető koncentrációban.

A normál értékeket tekintve eredményeink az IgA és IgM vonatkozásában a lézernefelometriás módszert alkalmazó közleményekkel jól egyeznek, míg IgG esetében kissé magasabb értéket mértünk. A Sjögren-szindrómásoknál mért koncentrációk nagyobb egyéni szórást mutattak, hasonlóan az irodalmi adatokhoz, s értékük szignifikánsan ($p < 0,01$) magasabb volt a kontrollcsoporthoz viszonyítva mindhárom immunglobulin vonatkozásában. Az immunglobulinok koncentrációja a szekréció ütemével fordítottan arányos, amint ez jól ismert az irodalomból [5, 11], azonban a koncentrációk csökkenése ingerlés hatására Sjögren-szindrómásoknál kisebb mértékű volt a kontrollokéhoz képest.

A betegeknek talált magasabb immunglobulin koncentrációk alapján a nyálmirigyeket infiltráló sejtek fokozott aktivitására lehetne következtetni.

Brandtzaeg és mtsai (1971) vizsgálatai alapján meghatároztuk a szekréciós rátákat is, ami az 1 perc alatt kiválasztott immunglobulin mennyiségét jelenti, μg -ban kifejezve. Ennek kiszámításakor ugyanis kiküszöbölhetjük a szekréció egyénenként változó üteméből adódó különbségeket.

A nyugalmi nyálban kiválasztott közel azonos mennyiségű immunglobulinok azt jelzik, hogy a betegeknek mért magasabb nyugalmi koncentrációk pusztán a csökkent nyáleválasztásnak tulajdoníthatók.

Az ingerlyálban meghatározott magasabb szekréciós ráták az ingerlés hatására megnövekedett immunglobulin kiválasztást mutatják, ami jól egyezik Brandtzaeg eredményeivel. Az ingerlés hatására bekövetkező szekréciófokozódás azonban a betegcsoportban sokkal nagyobb (erre utal, hogy a koncentrációk csökkenése is kisebb volt az ingerlyálban). Ennek oka pl. az is lehet, hogy a szekréció ütemének fokozódásakor az acinus sejtek permeabilitása megnövekszik s ez eredményezi a növekedett immunglobulin kiválasztást. Ezt látszik igazolni, hogy mindhárom immunglobulin osztály esetében a fokozódás mértéke hasonló.

IRODALOM: 1. Anderson, L. G., Cummings, N. A., Asofsky, R., Hilton, M. S., Tarpley, T. P. M., Tomasi, T. B., Wolf, P. O., Scholl, G. L. and Talal, N.: Salivary gland immunglobulin and rheumatoid factor synthesis in Sjögren's syndrome. *Am. J. Med.* 53, 456, 1972. — 2. Benedek E.: A parotis-nyál vizsgálatának jelentősége a nem daganatos eredetű nyálmirigy duzzanatok elkülönítésében. *Fogorv. Szle.* 73, 131, 1980. — 3. Benedek E., Berényi B.: A sialochemiai vizsgálatok jelentősége a Sjögren-szindróma diagnózisában. *Orv. Hetil.* 116, 2822, 1975. — 4. Benedek—Spät E., Berényi B., Csiba, A.: A sialochemical study on Sjögren's syndrome. *Arch. Oral Biol.* 20, 649, 1975. 5. Brandtzaeg, P.: Human secretory immunglobulins — VII. Concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration secretory stimulus. *Arch. Oral Biol.* 16, 1295, 1971. 6. Elkon, K. B., Gharavi, A. E., Patel, B. M., Hughes, G. R. V. and Frankel, A.: IgA and IgM rheumatoid factors in serum, saliva and other secretions: relationship to immunglobulin ratios in systemic sicca syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 52, 78, 1983. 7. Herzberg, S. M., White, C., and Wolf, R. O.: Characterization of salivary proteins in patients with Sjögren's syndrome. *Oral Surg.* 36, 814, 1973. 8. Mach, P. S., Amor, B., Messing, B., Chicault, P., Chozlan, R. and Delbarre, F.: Salivary immunglobulin determinations: their diagnostic value in Sjögren's syndrome. *Biomedicine*, 25, 31, 1976. 9. Mandel, I. D.: Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 321, 1980. 10. Mandel, I. D. and Baurmash, H.: Sialochemistry in Sjögren's syndrome. *Oral Surg.* 41, 182, 1976. 11. Mandel, I. D., Khurana, H.:

The relationship of human salivary gamma-A globulin to flow rate. *Arch. Oral Biol.* 14, 1433, 1969. 12. Owens, S. L., Bailey, J. P. and Bollet, A. J.: Studies of parotid saliva in keratoconjunctivitis sicca (KCS). *Arthritis Rheum.* 14, 407, 1971. 13. Stuchell, R.N., Mandel, I. D. and Baurmash, H.: Clinical utilization of sialochemistry in Sjögren's syndrome. *J. Oral Pathol.* 13, 303, 1984. 14. Talal, N.: The biological significance of lymphoproliferation in Sjögren's syndrome. Brooks, P. M. and York, J. R. (Ed.): *Rheumatology -85*. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, 1985., 365—369. 15. Talal, N., Asofsky, R., Lightbody, P.: Immunglobulin synthesis by salivary gland lymphoid cells in Sjögren's syndrome. *J. Clin. Invest.* 49, 49, 1970. 16. Tsianaos, E. B., Tzioufas, A. G., Mavridis, A. K., Sarras, A. K., Papadimitriou, C. S., Tsolas, O. and Moutsopoulos, H. M.: Sialochemistry of patients with autoimmune rheumatoid disease with and without histological manifestations of Sjögren's syndrome. *Ann. of the Rheum. Dis.* 44, 412, 1985. 17. Virella, G., Goudswaard, J., Boackle, R. J.: Preparation of saliva samples for immunochemical determination of immunglobulins and for assay of lysozyme. *Clin. Chem.* 24, 1421, 1978.

Г. Надь, И. Патварош, Л. Тамаши, М. Зехер, Й. Сентпетери: Лазернефелометрическое определение содержания иммуноглобулинов в слюне околоушной железы больных с синдромом Сьёгрена

Паротидная железа больных с синдромом Сьёгрена содержала в достоверно более высокой концентрации как IgG, так и IgA и IgM, как в состоянии покоя, так и при раздражении слюноотделения. Секретированное количество иммуноглобулинов в обеих группах увеличивалось по сравнению с количеством в состоянии покоя, у больных с синдромом Сьёгрена это увеличение вдвое превышало увеличение у здоровых. Авторы предполагают, что это увеличение связано с повышением проницаемости ацинозных клеток.

Nagy G. Dr., Patvaros I. Dr., Tamási L. Dr., Zehner M. Dr. and Szentpétery J. Dr.: *Lazernephelometric diagnosis of immune globulins from the parotis saliva of patients with Sjögren Syndrome.*

The parotis saliva of patients with Sjögren syndrome contained the IgG, IgA and IgM at a significantly higher concentration in both the rest and stimulated saliva. The secreted amount of immune globulins increased in both groups with respect to rest values, in case of patients with Sjögren syndrome the rate of growth was the double of that of the healthy. It is supposed that such growth is connected with the permeability increase of the acinus cells.

Dr. G. Nagy, Dr. I. Patvaros, Dr. L. Tamási, Dr. M. Zehner und Dr. J. Szentpétery: *Lazernephelometrische Bestimmung der Immunglobuline im Parotisspeichel von Patientsten mit Sjögren-Syndrom*

Der Parotisspeichel der Patienten mit Sjögren-Syndrom enthielt IgG, IgA und IgM in signifikant höheren Konzentrationen, sowohl was den Ruhe-, als auch was den Reizspeichel anbelangt. Die sekretierte Menge der Immunglobuline hat sich im Vergleich zum Ruhespeichel in beiden Gruppen erhöht, bei Sjögren Syndrom war das Maß des Anstiegs, im Vergleich zu den Gesunden, das Doppelte. Es wird angenommen, daß die Erhöhung mit der Permeabilitätssteigerung der Azinuszellen zusammenhängt.