

Fibrosis és zsíros infiltráció jelenségének vizsgálata  
szisztémás autoimmun betegek kisnyálmirigyeiben,  
számítógépes képanalízis segítségével

**Ph.D értekezés**

Dr. Katona Krisztián

**Témavezető:**

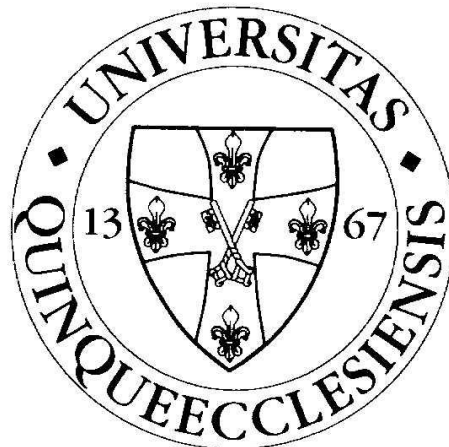
Dr. Tornóczki Tamás

**Program vezető:**

Dr. Miseta Attila

**Doktori iskola vezetője:**

Dr. Kovács L. Gábor



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Pathológiai Intézet

2018

## Tartalom

Rövidítések jegyzéke .....	4
Bevezetés .....	6
Kisnyálmirigyek anatómiája és szövettana, élettana .....	6
Kisnyálmirigyek, mint diagnosztikus eszközök .....	9
Kisnyálmirigy biopsziás mintavétel .....	9
Kisnyálmirigyekben előforduló hisztopatológiai elváltozások .....	10
<i>Gyulladás és lymphoepithelialis lézió</i> .....	10
<i>Fibrosis</i> .....	11
<i>Zsíros infiltráció (Zs)</i> .....	13
<i>Acinus vesztés és ductalis hám metaplasia</i> .....	14
Autoimmun betegségek, autoimmunitás .....	15
Rheumatoid arthritis (RA) .....	16
Systemas sclerosis (SSc) .....	17
Systemas Lupus Erythematosus (SLE) .....	18
Sjögren syndroma (SS) .....	19
Kevert kötőszöveti betegség (MCTD-mixed connective tissue disease) és Nem differenciált kötőszöveti betegség (NDC-non differentiated connective tissue disease) .....	19
Overlap-szindrómák .....	20
Autoantitestek .....	20
Kisnyálmirigy elváltozások szisztémás autoimmun betegségekben .....	22
Célkitűzés .....	26
Anyagok és módszerek .....	27
Betegek és biopsziás minták .....	27
Adatgyűjtés .....	27
Digitalizálás és számítógépes képanalízis .....	28
Statisztikai analízis .....	32
Eredmények .....	34
Kontrollok .....	35
Gyulladás (fókusz) .....	35
Fibrosis .....	36
Zsíros infiltráció .....	41
BMI, életkor, acinaris hám-vesztés, hisztológiai csoportok .....	45

<b>Megbeszélés.....</b>	<b>52</b>
<b>A lobuláris fibrosis, gyulladásos infiltráció és zsíros infiltráció kapcsolata a szisztémás autoimmun betegségekkel és autoantitestekkel.....</b>	<b>52</b>
<b>Zsíros infiltráció .....</b>	<b>56</b>
<b>Lobuláris fibrosis .....</b>	<b>58</b>
<b>Összefoglalás.....</b>	<b>59</b>
<b>Új eredmények.....</b>	<b>60</b>
<b>Közlemények jegyzéke.....</b>	<b>61</b>
<b>Irodalomjegyzék.....</b>	<b>62</b>
<b>Köszönetnyilvánítás .....</b>	<b>75</b>
<b>Függelék.....</b>	<b>76</b>

## **Rövidítések jegyzéke**

ANA-anti nuclearis antitest

ANCA-Anti neutrophil cytoplasmic antitest

SM- Smith

APS-ecetsavas Alcian-kék-picrosirius-vörös

AT-antitest

bLEL-benignus lymphoepithelialis lézió

CCP-ciklikus citrullinált proteinek

CRP-C reaktív protein

CV-cardiovascularis

dg.- diagnózis

DM- diabetes mellitus

dsDNS- kettős szálú deoxyribonucleinsav

ECM- extracellularis mátrix

ENA-extrahálható nuclearis antigén(ek)

F-fibrosis

Gy-fókusz formáló gyulladós infiltráció

HE-haematoxylin-eosin

IgA/IgG/IgM-immunoglobulin A/G/M

Jo-histidil tRNS synthetase

KIR- központi idegrendszer

KNYMB-kisnyálmirigy biopszia

KNYM-kisnyálmirigy

LESA- lymphoepithelialis sialoadenitis

MALT- mucosa associated lymphoid tissue/mucosa asszociált lymphoid szövet

MCTD-mixed connective tissue disease/kevert kötőszöveti betegség

NDC- non differentiated collagenosis/ nem differenciált collagenosis

PAS-perjódsv-Schiff

RA-Rheumatoid Arthritis

RF-rheuma faktor

SCL-70-topoisomerase I

SLE-Systemas Lupus Erythematosus

snRA- seronegatív Rheumatoid Arthritis

spRA-seropozitív Rheumatoid Arthritis

$\beta$ 2GP- $\beta$ 2-glycoprotein

SS-a-Sjögren-syndroma-kapcsolt antigén A

SS-b-Sjögren-syndroma-kapcsolt antigén B

SSc-Systemas sclerosis

SS-Sjögren syndroma

Zs-zsíros infiltráció

We- Westergreen vörösvértest szedimentáció

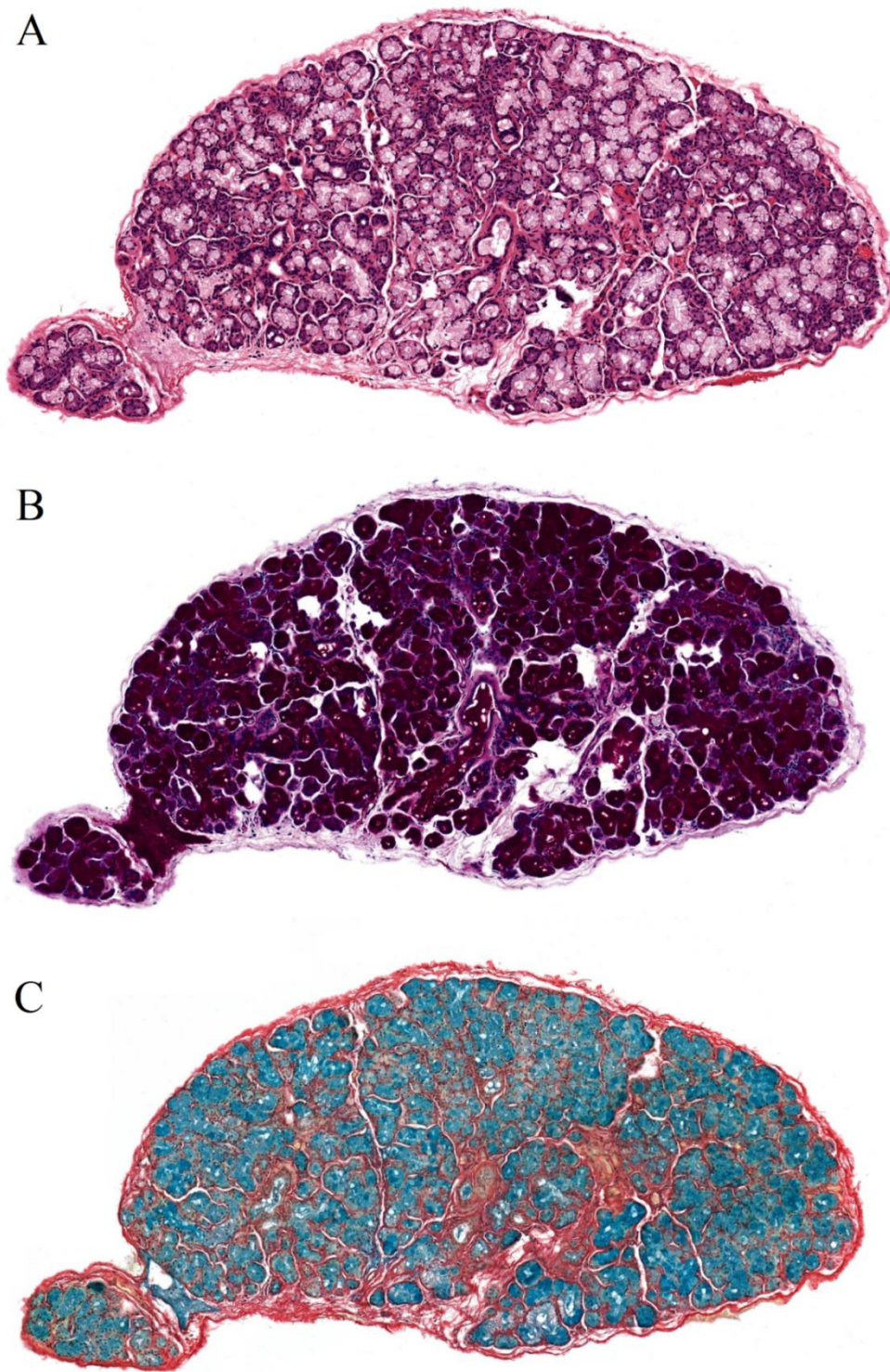
## **Bevezetés**

### **Kisnyálmirigyek anatómiája és szövettana, élettana**

Három pár nagynyálmirigyünk mellett több száz 1-5 mm átmérőjű kisnyálmirigy (KNYM) található szájüregünkben a nyálkahártya alatt. A bucca, a szájpadlás, a nyelv illetve az ajkak submucosus szöveteiben helyezkednek el. Tubuloalveoláris mirigyek szekrétumukat egyetlen ductus excretoriusukon át közvetlenül a szájüreg mucosalis felszínére juttatják. Folyamatos nyáltermelésükkel fontos szerepet töltenek be a nyálkahártya nedvesítésében és védelmében.[1,2] Amylase termelésük kevésbé jelentős ám védő funkciójú glycoproteineket (lactoferrin), valamint enzimeket (lysozim, sialoperoxidase) juttatnak a szájüregbe.[3,4]

A nagy nyálmirigyekhez hasonlóan szövettanilag két részre oszthatók: mirigyállományra (parenchyma), mely végkamrákból (acinusok) és kivezető csövekből (ductusok) valamint a parenchymát tagoló és összekötő lazább kötőszövetből, erekből és idegekből álló stromára.[1,2] Szemben a nagy nyálmirigyekkel a kisnyálmirigyek nem rendelkeznek valódi tokkal, de egyes területeken (mint az alsó ajkak) a mirigyeket körülvevő kötőszövet fejlettsége lehetővé teszi azok elkülönítését és szeparált eltávolítását mintavétel során.[5] További különbség a nagynyálmirigyekkel szemben, hogy a kivezető cső rendszer kevésbé fejlett és a bazális csíkolattal rendelkező ductalis hámszövet csaknem teljesen hiányoznak.[6] E megfigyelés magyarázhatja a termelt nyál ion összetételének eltérését a nagynyálmirigyek szekrétumával szemben. A kisnyálmirigyek parenchymájában túlnyomóan mucinosus acinusokat figyelhetünk meg, de kis számban kevert (seromucinosus) végkamrák is előfordulnak. Kivételt képeznek a nyelvgyökön található kisnyálmirigyek (von Ebner féle nyálmirigyek), melyek kizárólag serosus végkamrákkal rendelkeznek és szekrétumuk lipase-t tartalmaz. Tandler és mtsai. három cikkből álló munkájukban alsó ajkak kisnyálmirigyeket vizsgálva írták le e mirigyek ultrastruktúráját.[6–8] Megfigyeléseik [7] szerint a nyáltermelő sejtek mucin denzitásukat tekintve változatosak voltak (az alkalmazott toluidinkék festék színmélysége változó volt), nem csak a sejtek között, de egy sejten belül is megfigyelhető volt intenzitás különbség. Az elektronmikroszkópos értékelésnél e jelenség elektrondenzitás különbségként volt látható. A parenchyma fontos részét képezik az acinusokhoz szorosan kapcsolódó, illetve a ductusok kezdeti szakaszát körülölelő, contractilis myoepithelialis sejtek, melyek összehúzódásukkal az acinaris

sejtek ürülését és a szekrétum továbbítását segítik.[1,2,6] A mirigyállomány összekötő és tagoló lazarostos kötőszövet fibrocytából és az általuk termelt extracellularis mátrixból (ECM) áll. Az ECM fő alkotóelemei a rostok (elsősorban collagen) és az amorf alapállomány glycoproteinjei (hyaluronsav, heparan sulphat) és proteoglycanjai (laminin, fibronectin). A collagen I és III rostok által alkotott váz lobulusokra tagolja a mirigyállományt míg a collagen IV rostok a bazális membránt kialakítva ölelik körbe a végkamrákat és ductusokat.[9] *(1.kép)*



1. kép. Ép morfológiájú kisnyálmirigy lupe nagyítással A-hematoxylin-eosin (HE) festéssel B-Perjódsvav-Schiff (PAS) festéssel és C-ecetsavas alciánkék-picrosirius (APS) festéssel. Figyeljük meg a strukturálisan megőrzött, döntően mucinosus acinaris szerkezetet, melyet vékony, collagen rostok alkotta stroma választ el. A HE festés a rutin diagnosztikához, a PAS festés a nyáktartalom (püspöklila) kiemelésére míg az APS festés mucin tartalmú acinusok (kék) és a kötőszövet (piros) közti kontraszt kiemelésére szolgál, ezáltal biztosítva a képanalízishez szükséges feltételeket.



## **Kisnyálmirigyek, mint diagnosztikus eszközök**

KNYMB-ás minták diagnosztikus értéke nem csak Sjögren syndromában (SS) hanem más betegségekben, mint sarcoidosisban [10,11] és szisztémás amyloidosisban[12–14] is ismert. A Chisholm által 1968-ban leírt alsó ajak kisnyálmirigy biopsziás mintavétel [15] és a bioptátumok hisztológiai értékelése ma is kiemelt jelentőséggel bír a SS diagnosztikájában. Az elmúlt évek számos tanulmánya is igazolta a KNYMB minták értékelésének kiemelkedő szenzitivitását és specificitását SS esetén.[16–19] A Chisolm által bevezetett gyulladásoz fókusz (50 vagy több lymphocytá aggregátuma a mirigyállomány 4 mm<sup>2</sup>-es területén) és a létrehozott értékelő rendszer ma is a diagnosztika alapját képzí.

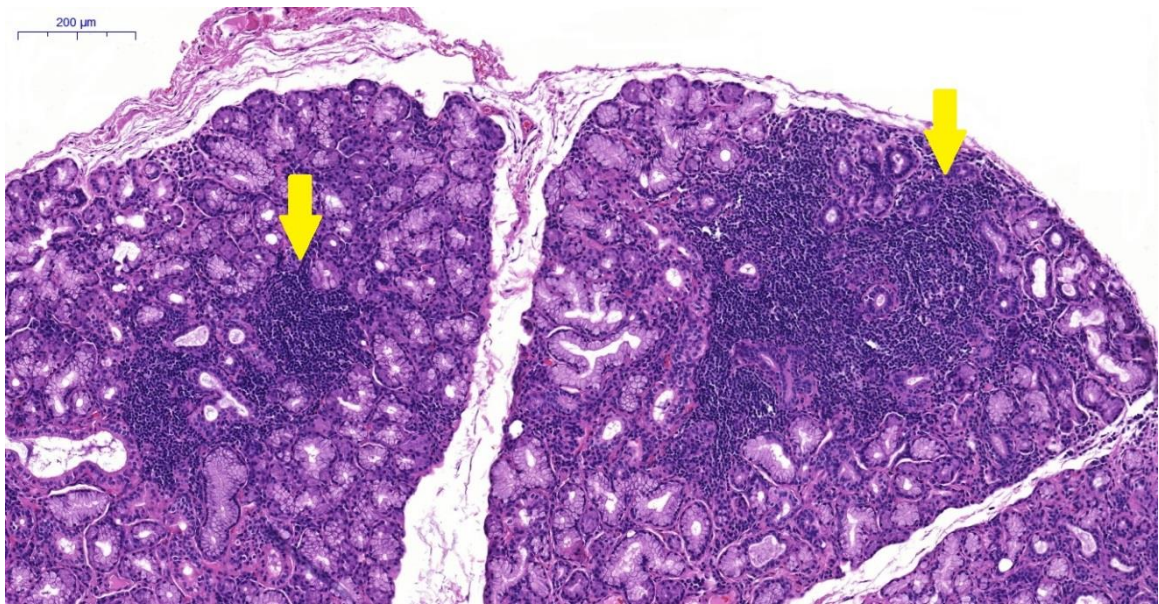
### **Kisnyálmirigy biopsziás mintavétel**

Szemben a korábban használt parotis biopsziával az alsó ajakból vett kisnyálmirigy biopszia kevesebb kockázattal jár, ugyanakkor a mintában fellelhető gyulladásoz infiltrátum szoros kapcsolatot mutat a SS fennállásával. A mintavétel menetére több különböző ajánlást találunk a szakirodalomban.[15,16,20–26] Klinikánkon a Greenspan [25] által leírt technikához hasonlóan történik a mintavétel: az alsó ajak belső oldalán a vestibularis áthajlásba adott terminális, infiltrációs érzéstelenítést (1 ml LIDOCAIN-ADRENALIN 20 mg/ 0,01 mg/ml oldatos injekció) követően az alsó ajakfékkel párhuzamosan attól 1 cm-re laterálra vertikális 1-2 cm-es submucosus metszést ejtünk. 3-6 nyálmirigyét távolítunk el majd a sebet nem felszívódó varrattal egyszerű csomós öltésekkel zárjuk. A beteget instruáljuk majd varratszedésre 1 héttel a beavatkozást követően rendeljük vissza. A bioptátumokat 6%-os formalinban tárolva küldjük a szövettani vizsgálatra.

## Kisnyálmirigyekben előforduló hisztopatológiai elváltozások

### *Gyulladás és lymphoepithelialis lézió*

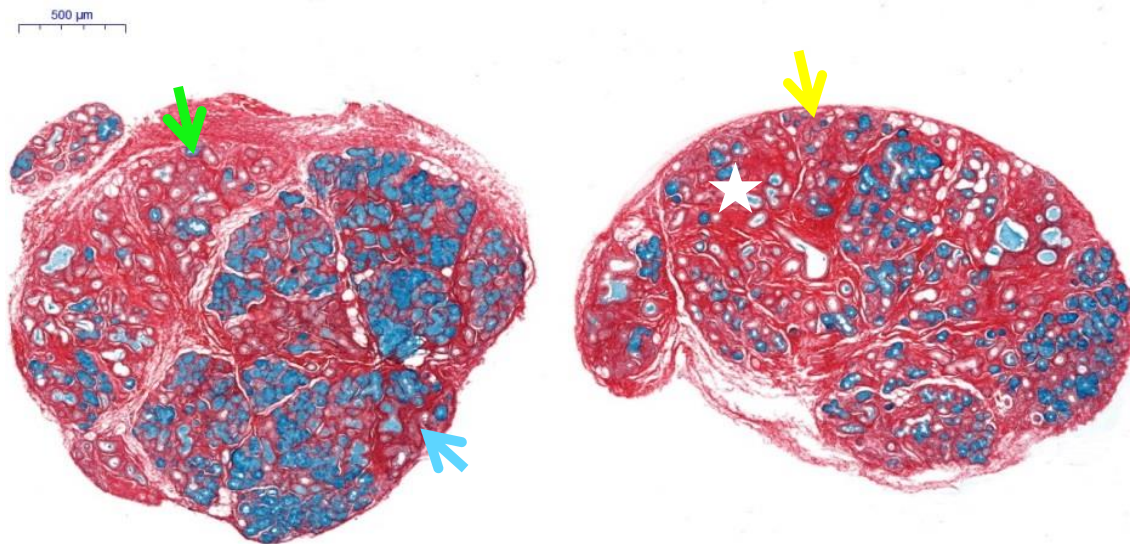
SS szempontjából a mirigyekben előforduló gyulladás gradálása elsődleges jelentőséggel bír. A Chisholm [15] által leírt rendszer és a bevezetett fókuszt (2. kép) érték egyike a három objektív kritériumnak [27–29] a SS diagnosztikus kritérium rendszerében. A gyulladás kiterjedtsége (grádus) mellett több kutatócsoport is vizsgálta az infiltrátum minőségét, sejtes összetételét, a fókusztok méretét, csíracentrum formálódását [5,25,30–33] valamint immunhisztokémiai módszerekkel igyekeztek növelni a módszer szenzitivitását és specificitását.[34,35] A Godwin által 1952-ben [36], Morgan és Castleman által 1953-ban [37] leírt benignus lymphoepithelialis lézió (bLEL) illetve ennek előfordulása nyálmirigy gyulladás kapcsán (lymphoepithelialis sialoadenitis-LESA) jellegzetes kép a SS páciensek parotis biopsziás mintáiban ám ritkán jelenik meg a KNYMB-ban.



2. kép. Fókuszt formáló gyulladásos infiltrátum (sárga nyilak) HE festett KNYMB mintában. Figyeljük meg a periductalisan elhelyezkedő 50 sejtet meghaladó lymphoplasmocytás gyulladásos beszűrődést és a környezetében látható megtartott mirigyállományt!

## ***Fibrosis***

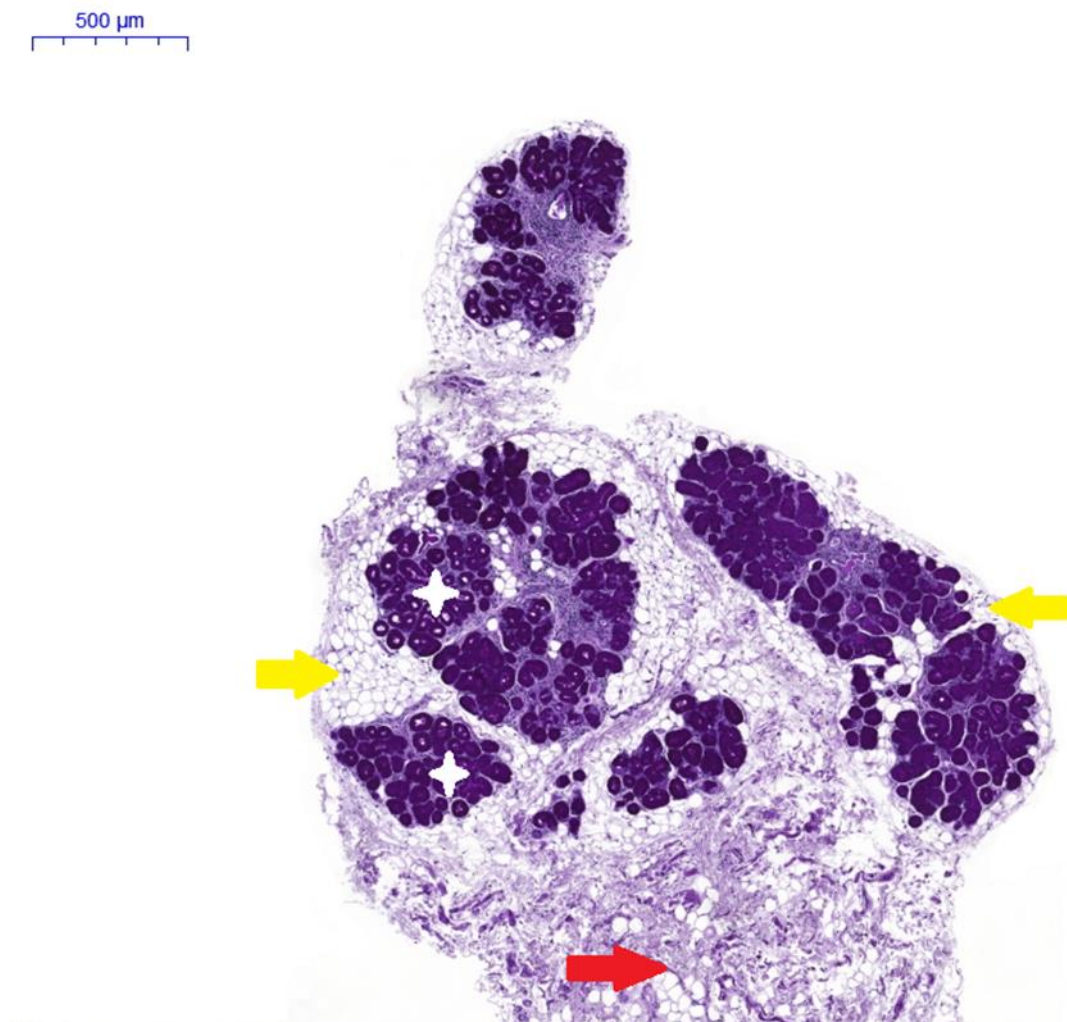
A KNYMB mintákban előforduló fibrosist több cikk is megemlíti [25,26,44,45,31,33,38–43], ám ezek csekély része fókuszál magára a jelenségre. A lobuláris fibrosist megfigyelték SS-ban [25,33,38,41,46,47], rheumatoid arthritis-ben (RA) [44], systemas sclerosis-ban (SSc) [26] és systemas lupus erythematosus-ban (SLE) [26]) szenvedő betegek KNYMB mintáiban is. Más tanulmányokban egészséges idősök nyálmirigyeiben írták le a jelenséget.[39,42,43,48] Egy esetben speciális étkezési szokáshoz (kínai gyógynövények) társultan fordult elő lobuláris fibrosis kisnyálmirigyben.[40] A jelenséget általában szubjektíven kvantálták mindössze néhány esetben kísérelték meg a kötőszöveti szaporulat objektív vagy szemi-objektív értékelését.[35,38,40] A pathogenesis tekintetében is megosztott az irodalom: leggyakrabban az öregedéshez társult jelenségnek [39,41–43,45,48] ritkábban egyes szisztémás autoimmun betegséghez (RA [44], SLE [26], SSc [26]) társult elváltozásnak tekintik. A lobuláris fibrosis kiterjedése, lokalizációja, mintázata kevéssé vizsgált. Megfigyeléseink szerint a fibrosis gyakran nem minden mirigy lobulust (partialis) és a lobulusokon belül sem minden területet érint egységesen (focalis).(3. kép) A partialis és focalis jelenségek etiológiája ismeretlen. A fibrosis, mint szövettani jelenség reparációs folyamat. A hegeképződés oka nem mindig ismert. Etiológiai faktor lehet a fizikai ártalom, gyógyszer mellékhatás, és krónikus gyulladásos kórképek is, de a végeredmény minden esetben fokozott collagen és egyéb mátrixprotein lerakódás.[49–52]



3. kép. Lobularis fibrosis jelensége lupe nagyítású APS festett kisnyálmirigyeken. A fibrosis érintheti a teljes KNYM-et (diffúz, sárga nyíl) vagy a KNYM egyes lobulusait egészében (partialis, zöld nyíl) illetve egy mirigyen belül egyes lobulusok kisebb területeit (focalis-kék nyíl). Figyeljük meg, hogy a fibrosis még diffúz formában sem azonos mértékben érinti az összes lobulust, súlyosabb esetekben (\*) jól megfigyelhető a jelenség kapcsán megjelenő acinaris hám vesztés és a ductusok számának növekedése (ductalis hám metaplasia)

### **Zsíros infiltráció (Zs)**

A KNYMB mintákban gyakran megfigyelhető különböző mértékű zsírszöveti infiltráció. (4. kép) A jelenséget több közlemény is említi [25,26,31,33,38,43–45,53] ám kevesen vizsgálták behatóan [33,38,45,53]. A fibrosishoz hasonlóan az öregedéshez társuló jelenségnek tekintik.[33,43,45] Néhány szerző gyakrabban figyelte meg a jelenséget egyes szisztémás autoimmun betegségek, pl. SSc, RA [26] vagy SS [53] kapcsán. A jelenség ismert más szervekben és szövetekben, mint pl. a myocardiumban [54], és pancreasban [55,56]. Ezen esetekben a zsíros infiltráció szoros összefüggést mutatott az elhízással.

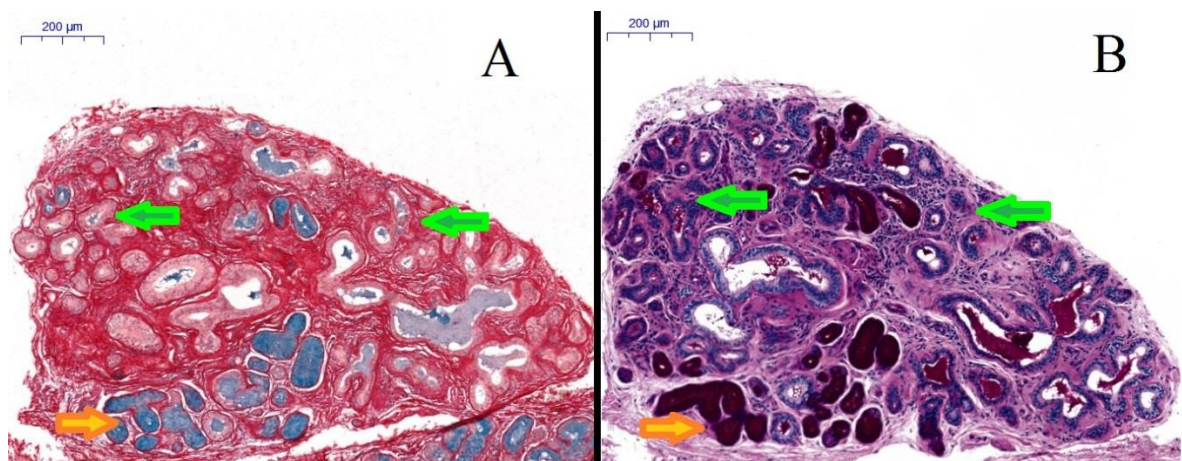


4. kép. Intra- és peripherolobuláris zsíros infiltráció (sárga nyíl), extralobuláris kötőszövet és zsír (piros nyíl) KNYMB mintában. Figyeljük meg, hogy az acinaris hám(\*) a zsírosan infiltrált területektől eltekintve megtartott.



### *Acinus vesztés és ductalis hám metaplasia*

A végkamrák pusztulása (acinus vesztés, „atrophia”) a mucint termelő sejtek eltűnésével és a ductalis, osztódásra képes hámsejtek proliferációjával jár (ductalis hám metaplasia). (5. kép) Az acinaris hámsejtek károsodását több tényező is kiválthatja (pl. gyulladás, fibrosis) [25,26,31,33,42,44,48] és mind szisztémás autoimmun betegségben szenvedő betegek [25,26,31,33,44], mind idősek [42,43,45,48,57] KNYMB mintáiban láthatjuk. Segerberg [48] 102 beteg postmortem mintáinak vizsgálatakor jóval gyakrabban figyelt meg acinaris vesztést (valamint fibrosist és zsíros infiltrációt) az idős páciensek ajak nyálmirigyeiben, mint a könny- vagy submandibularis nyálmirigyekben. E jelenségek összességét a mirigyeket érő, az élet folyamán akumulálódó, külső hatások következményének tekintették. Kikutchi és mtsai. [57] szintén gyakrabban figyelték meg az acinaris vesztés jelenségét az ajak nyálmirigyekből vett mintákban, mint a submandibularis vagy sublingualis nyálmirigyekben és autopsias vizsgálatukban az életkorhoz kapcsolt jelenségként írták le. Llamas-Gutierrez és mtsai. [33] SS páciensek KNYMB mintáit vizsgálva írtak le korrelációt a betegség illetve az előforduló gyulladásos fókuszok jelenléte ( $\geq 1$ ) és az acinaris vesztés között. A végkamrák méretének csökkenése illetve ezzel együtt a mucin termelő sejtek zsugorodása valamint számuk csökkenése a mirigyfunkció redukációjához és ezáltal xerostomia kialakulásához vezethet.



5. kép. Acinaris hám-vesztés és ductalis hám metaplasia (zöld nyilak) kötőszövetesen átépült kisnyálmirigy lobulusban APS (A) és PAS (B) festéssel. Narancssárga nyíllal egy megtartott struktúrájú lobulus is látható.

## **Autoimmun betegségek, autoimmunitás**

Az autoimmun betegségek olyan kórképek, melyekben a szervezet immunrendszere idegenként ismer fel egyes saját struktúrákat és immunválasz kíséretében megpróbálja azokat megsemmisíteni. E betegségek incidenciája elérheti az 5%-ot.[58] A folyamat lehet lokális/szerv specifikus (pl.:Hashimoto thyreoiditis, Basedow-Graves betegség, I típusú diabetes mellitus) vagy több szervet/szervrendszert érintő szisztémás (pl.:SLE, RA, SS, SSc).[58] Pontos etiológiájuk nem ismert ám kialakulásukban fontos szerepet játszik a genetikai hajlam [59,60] valamint környezeti tényezők (vírus fertőzés [61], disbiosis [62], dohányzás [63], diétás szokások [64]). Egyes szerzők felvetik a lehetőségét, hogy minden autoimmun betegség egy fertőzés késői szakaszának felel meg, ahol a kórokozó okozta kezdeti fertőzés felelős az immuntolerancia elvesztéséért.[61] Minden egyén szervezetében termelődnek autoreaktív lymphocyták ám azon T- és B-sejtek, melyek erősen autoreaktívak eliminálódnak a negatív szelekció során. Egyes fertőző ágensek antigénjeire adott válaszreakció, amennyiben ezen antigének valamely saját struktúrára hasonlítanak, olyan T és B sejtek szelektálódását eredményezhetik, melyek nemcsak a kórokozót, de saját sejteket is felismernek. E folyamat molekuláris mimikri néven ismert. Bár a folyamat iniciálásáért felelős ágenst ritkán sikerül azonosítani, a kialakuló sejt és szövetkárosodás valamint a fellépő gyulladás (T- és/vagy B-sejtek illetve antitestek által fenntartott) és következményes elváltozások minden kórkép esetén hasonlóak. Ezen krónikus betegségek nemcsak az élettartamot csökkentik, de az életminőséget is jelentősen rontják. Lefolyásuk hullámzó, remissziók és relapszusok váltakozása jellemzi őket. Többségük (SLE, SS, RA, SSc) gyakoribb nők körében, mint férfiaknál és a betegség manifesztációja gyakran 40 éves kor utánra tehető.[65]

## **Rheumatoid arthritis (RA)**

Leggyakoribb krónikus szisztémás autoimmun megbetegedés, mely elsősorban az ízületeket érinti, de extraarticularis tünetek is előfordulhatnak. Megfelelő kezelés nélkül progresszív károsodás miatt ízületi deformitás és mozgáskorlátozottság alakul ki. Háromszor gyakoribb nőknél, mint férfiaknál. A betegség a kórlefolyás és diagnosztika szerint két altípusra a seronegatív és seropozitív RA-re (snRA és spRA) [66–69] osztható. Utóbbi esetén rheuma faktorok [70] (RF) és/vagy ciklikus citrullinált fehérjék elleni antitestek (anti-CCP) mutathatók ki [71,72] a beteg vérében. Előbbi antitestek az immunglobulin G (IgG) konstans régiója (Fc) ellen termelődnek, komplexet képezve cirkulálnak és a savós hártyákon, ízületekben lerakódva aktiválják a komplement rendszert, elősegítve ezáltal a szövetkárosító gyulladás kialakulását és fenntartását. A tünetek között szimmetrikus kéz kisízületi gyulladás, reggeli kéz merevség, carpalis alagút syndroma, inakon megjelenő rheumás csomók szerepelnek.[73] Extraarticularis érintettség fordulhat elő a szívben (peri- és myocarditis), tüdőben [74] (pleuritis, fibrosis), szemeken[75] (keratoconjunctivitis sicca). A betegség nem csak az életminőséget csökkenti, de légzőrendszeri, cardiovascularis szövődmények valamint a megnövekedett daganat kockázat (lymphoma, leukemia) [76] miatt magasabb mortalitással [77] is jár. Az alapbetegség kapcsán emelkedik továbbá a fertőzések és a csontritkulás kockázata. Diagnosztikus kritérium rendszerében a szubjektív tünetek (ízületi merevség és fájdalom) mellett objektív ízületi érintettség (synovitis), laboreltérések (C-reaktív protein vagy fokozott süllyedés, RF vagy anti-CCP pozitivitás) [78,79] és jellegzetes röntgen elváltozások a kéz kisízületeiben (osteoporosis, erosio) is szerepelnek.[80,81]



## **Systemas sclerosis (SSc)**

Legmagasabb eset specifikus mortalitással járó krónikus szisztémás autoimmun betegség.[82–84] Kötőszöveti betegség, mely test szerte collagen lerakódással jár, valamint az erek obliterációjával és következményes szervi infarktusokkal. Ismert limitált (elsősorban a bőrt és kevésbé a belső szerveket érintő) CREST szindrómaként számon tartott, valamint a belső szerveket is érintő diffúz forma. Nőknél kb. négyszer gyakoribb, mint férfiaknál. Bőrtünetekre a periférián (kezeken) megjelenő ödéma majd induráció és végül atrophia jellemző, mely centripetálisan terjed, gyakori tünet még a Raynaud jelenség (hideg hatására fellépő spazmus az ujjak artériáiban), mely érzéketlenséget, fájdalmat okozhat és azok elfehéredését/kékülését eredményezheti. A nyelőcső érintettsége esetén dysphagia, tüdőérintettség esetén a fibrosis következtében restriktív dyspnoe alakulhat ki. Érintett lehet még a szív (pericarditis) és a vesék (vese infarktusok) is.[81] A betegséghez társult magasabb mortalitás háttérében elsősorban a cardiopulmonalis szövődmények állnak.[84] A laboreltérések között kiemelendő a centromer ellenes antitestek (ACA) és a topoisomerase I ellenes antitestek (anti-SCL-70) gyakori jelenléte.[85] A diagnosztikus kritérium rendszerben a bőrelváltozások mellett, kapillár-mikroszkópos vizsgálati lelet, laboratóriumi eltérések és tüdőfibrosis radiológiai lelete [86] szerepel.

## **Systemas Lupus Erythematosus (SLE)**

Klasszikus krónikus gyulladással collagenosis, melyet a szervek kis artériáiban, arterioláiban lerakódó immunkomplexek (DNS-antiDNS) által kiváltott vasculitis hoz létre. Tízszer gyakoribb nőknél, mint férfiaknál. Szintén ismert bőrre lokalizálódó cutan lupus erythematosus és belső szervi érintettséggel járó szisztémás forma. Genetikai hajlam mellett a betegség iniciálásának hátterében több környezeti faktort (UV sugárzás, gyógyszerek, vírusfertőzések, dohányzás) azonosítottak. Patogenezisében a külső hatásra (lásd fentebb) bekövetkező nagyfokú sejt apoptózis során felszabaduló, és az apoptoticus testek nem megfelelő eliminációja miatt felhalmozódó nuclearis antigének elleni antitest termelés kulcsszerepet játszik. A betegségben gyakran megjelenő bőrtünetek között szerepel a pillangó-erythema, oronasalis fekélyek, hegesedő alopecia. Gyakran érintettek a szív (pericarditis), tüdők (pleuritis), vesék (nephritis) és akár a központi idegrendszert is.[81] Laboreltérések között kiemelendő a kettős szálú DNS ellenes antitestek (anti-dsDNS), anti-Smith (anti-SM), és anti-Ro/Anti-SS-a antitestek gyakori jelenléte.[87] Antiphospholipid antitestek (lupus anticoagulans, anti-cardiolipin, anti- $\beta$ 2-glycoprotein) jelenléte szintén gyakoribb. Utóbbiak jelenléte fokozott alvadási hajlamhoz, multiplex trombózisokhoz vezethet és a terhések esetén a magzati halálozás kockázatát is növeli. A betegség kapcsán észlelt fokozott mortalitás is nagyjából a cardiovascularis szövődményeknek, ritkábban a fertőzéseknek vagy az emelkedett daganat (lymphoma, méhnyakrák) kockázatnak a következménye.[88] A diagnózis felállításakor [89] a bőrtünetek, laboratóriumi eltérések mellett ízületi eltéréseket (nem erosív arthritis), fényérzékenységet és szervi érintettségeket (tüdő, szív, vese) is figyelembe vesznek.

## **Sjögren syndroma (SS)**

Krónikus szisztémás autoimmun betegség, mely első sorban az exokrin mirigyeket érinti. Nőknél kilencszer gyakoribb, mint férfiaknál. Glandularis (xerophthalmia, xerostomia) és extraglandularis (bőr, ízületi, tüdő, vese, erek, KIR) tünetek is előfordulhatnak.[81,90] Az extranodalis, mucosa asszociált lymphoid szövetből kiinduló daganatok (MALT-lymphoma) [91–93] kockázata több, mint 40-szeres SS páciensek esetén.[94–96] A labor eltérések között fontos kiemelni a gyorsult süllyedést (We-Westergreen) a normál vagy enyhén emelkedett C-reaktív protein (CRP) mellett, anti-SS-a és/vagy anti-SS-b pozitivitást.[97] Utóbbiak a diagnosztikus kritériumrendszer részét képezik, a kismirigy hisztopatológiai lelet (fókusz érték), csökkent nyál- és könnytermelés vizsgálata és a szubjektív (sicca) panaszok mellett. A betegség diagnosztikus rendszerében [27–29,98,99] az évek folyamán több változás történt, ám a KNYMB-ban előforduló gyulladós fókusz(ok) hisztológiai értékelése az objektív paraméterek egyikeként fontos részét képezi valamennyi rendszernek.[100,101]

## **Kevert kötőszöveti betegség (MCTD-mixed connective tissue disease) és Nem differenciált kötőszöveti betegség (NDC-non differentiated connective tissue disease)**

MCTD (Sharp syndroma) olyan szisztémás autoimmun betegséget jelöl, mely SLE-re, SSc-ra, polymyositisre, dermatomyositisre jellemző tüneteket (myositis, arthritis, Raynaud jelenség, nyelőcső dysmotilitás, interstitialis tüdőbetegség, pulmonális hipertensio) együttesen mutat, valamint magas titerű ribonucleoprotein ellenes antitest (anti-RNP) pozitivitás jellemez.[102] A kezdetben jellemző kevert jellegű eltérések után a betegség gyakran progrediál SLE vagy SSc kórképekbe.[87] A szakirodalom nem egységes a tekintetben, hogy ezt a betegséget egyáltalán külön entitásként kell-e kezelni.[103]

NDC olyan autoimmun eredetű tünetegyüttest illetve objektív labor eltéréseket jelöl, melyek összessége nem elégíti ki egyik szisztémás autoimmun betegség kritérium rendszerét sem. Nőknél ezen bizonytalan eredetű jelek és tünetek gyakoribbak. A NDC-ként klasszifikált esetek gyakran progrediálnak valamely besorolható szisztémás autoimmun betegséggé.[87,104]

## **Overlap-szindrómák**

Szemben a NDC-al az overlap szindrómák olyan eseteket jelölnek, ahol a klinikai kép több szisztémás autoimmun betegség diagnosztikus kritériumrendszerének is megfelel. Az ismert kombinációk közül a SS-RA, SS-SLE, SS-SSc (szakirodalomban, mint „secunder” SS, bármely szisztémás autoimmun betegséghez társultan), RA-SLE, Scleroderma-polymyositis overlap diagnózisok talán a legismertebbek és leggyakoribbak.[102,105–107]

## **Autoantitestek**

Az saját struktúrák ellen termelődő autoantitestek kimutatása több szisztémás autoimmun betegség diagnosztikájában kiemelt jelentőséggel bír. Az autoreaktív plasmasejtek által termelt immunoglobulinok (Ig) kimutatására több módszer alkalmaznak. A diagnosztikus paletta fejlesztése ma is folyik egyre szenzitívebb, olcsóbb, megbízhatóbb eljárások létrehozására és validálására. Napjainkban az egyik leggyakrabban használt és általánosan elfogadott eljárás az enzim kötött ellenanyag vizsgálat (ELISA).[108] Az 1. táblázat a leggyakoribb, szisztémás autoimmun betegségekben kimutatható antigéneket, az ellenük termelődő autoantitesteket és jelentőségüket mutatja.[78,109–111]

Antitestek	Név	Antigén	Pozitivitás	Alkalmazás, kapcsolat		
<b>ANA</b>	antinuclearis antitestek	DNS és RNS asszociált proteinek, nukleolusz, centromer	kötőszöveti betegségek, öregedés, tumorok, gyógyszer mellékhatás	szűrőteszt autoimmun betegség gyanú esetén		
	<b>anti-ENA</b>	extrahálható nuclearis antigén ellenes antitestek	nuclearis antigének	több kötőszöveti betegség	ANA pozitivitás esetén pontosítás	
	<b>anti-</b>	<b>SS-A/Ro</b>	Sjögren syndroma kapcsolt antigén A ellenes antitest	52&60 kDa RNS asszociált proteinek	SS>SLE>(RA)	SLE-ben congenitalis teljes szívblokk, neonatalis lupus, sicca tünetek és nephritis kockázat ↑
		<b>SS-B/La</b>	Sjögren syndroma kapcsolt antigén B ellenes antitest/ Lupus La protein ellenes antitest	RNS III polimerase 48kDa-os transzkripció termináló faktora	SS>SLE	diagnosztika
		<b>U1-RNP</b>	U1-ribonukleoprotein ellenes AT	U1-snRNP-spliceosoma	MCTD> (SLE, RA,SSc, myositis)	SLE esetén fotosensitivitás, de nephritis kockázat ↓
		<b>SM</b>	Anti-Smith antitest	U2-U4-6 snRNP-spliceosoma	SLE	KIR érintettség/ lupus nephritis/ tüdő fibrosis kockázat ↑
		<b>SCL-70</b>	anti-topoizomerase 1	topoizomerase 1	Ssc	mortalitás↑ és interstitialis tüdőbetegség kockázat↑
	<b>Jo-1</b>	hisztidil-RNS szintáz ellenes AT	hisztidil RNS synthase	polymyositis/dermatomyositis	betegség diagnózis és monitorozás	
	<b>anti-nucleosoma</b>	nukleosoma ellenes antitest	dsDNS-histon	SLE	betegség aktivitás monitorozása	
	<b>anti-dsDNS</b>	kettőszálú dezoxiribonukleinsav ellenes AT	dsDNS	SLE	betegség aktivitás monitorozása, lupus nephritis kockázat ↑	
	<b>ACA</b>	centromer ellenes AT	centromer proteinek	CREST/primer biliaris cirrhosis	CREST esetén: izolált pulmonalis hypertonia és bélbetegség kockázat ↑, de tüdő fibrosis kockázat ↓	
<b>ANCA (anti neutrophil cytoplasmatis AT)</b>	<b>c-ANCA/PR3</b>	proteinase 3 ellenes antitest	proteinase 3	Wegener granulomatosis	betegség/ kezelés sikerességének monitorozása	
	<b>p-ANCA/MPO</b>	myeloperoxidase ellenes AT	myeloperoxidase	Microscopic polyangiitis		
<b>RF</b>	rheumatoid faktor	IgG Fc régiója	RA>SS,SLE,SSc, öregedés, fertőző betegségek	RA esetén extraarticularis tünetek és izületi erózió		
<b>anti-CCP</b>	ciklikus citrullinált proteinek ellenes AT	ciklikus citrullinált fehérjék	RA	mortalitás↑, CV szövődmények, izületi erózió, RA manifesztációja előtt évekkal pozitív lehet		
<b>antiphospholipid antitestek</b>	phospholipidek elleni antitestek	β2GP (béta 2 glycoprotein), cardiolipin, lupus anticoagulans (La), prothrombin, foszfatidil serin	kötőszöveti betegségek, antiphospholipid syndroma, fertőzések	thrombosis hajlam ↑		

1. táblázat. Autoantitestek és jelentőségük szisztémás autoimmun betegségekben.

## **Kisnyálmirigy elváltozások szisztémás autoimmun betegségekben**

Bár a KNYMB-ás minták hisztopatológiai értékelésének csak SS diagnosztikus kritérium rendszerében van elfogadott jelentősége, a KNYM-ek szerkezeti eltéréseit más szisztémás autoimmun betegségekben is megfigyelték.

A mintákban előforduló gyulladást Chisholm 1968-ban megjelent tanulmánya óta [15] sokan vizsgálták. Kevésbé tanulmányozott jelenségek, mint a fibrosis vagy a zsíros infiltráció is megjelennek egyes publikációkban. 1969-ben ugyancsak Chisholm[41] elemezte a „sicca komplex”-es, SS-ban, RA-ben, és egyéb kötőszöveti betegségben szenvedő betegektől vett KNYMB mintákban előforduló hisztológiai elváltozásokat. Vizsgálatukban a SS és „sicca komplex” csoportba tartozó betegek esetén gyakrabban volt megfigyelhető szignifikáns gyulladás, interstitialis fibrosis és „ductalis hyperplasia”, mint a RA és egyéb kötőszöveti betegség csoportban.

Greenspan és mtsai. [25] 1974-ben SS-ás, SS gyanús és sicca tüneteket mutató más kötőszöveti betegségben szenvedő páciensektől, valamint 53 elhunytól autopsia kapcsán vett KNYM mintáit vizsgálták. A gyulladással fókuszok jelenléte mellett értékelték a plasmasejtek és hízósejtek számát az infiltrátumokban, elemezték az acinaris „depléciót”, fibrosist és a zsíros infiltrációt, utóbbiakat egy szubjektív skálán. Grade 4-es (FS>1) gyulladást csak SS-ás páciensek mintái esetén találtak és sikerült pozitív korrelációt kimutatniuk az acinaris depléció mértéke és a fókusz érték növekedése között. A fókusz érték ugyancsak pozitívan korrelált a fókuszok méretével. A plasmasejtek száma fordítottan arányult a fókuszok méretéhez, míg hízósejtek esetén nem sikerült semmilyen összefüggést felfedezniük. Az acinaris depléció gyulladás hiányában zsíros infiltrációhoz vagy fibrosishoz társultan fordult elő.

Ugyancsak 1974-ben Tarpley és mtsai. [31] SS-ban, RA-ben, SS-RA overlap-ben és egyéb más nem kötőszöveti betegségben szenvedő betegek KNYMB mintáit felhasználva hozták létre hisztológiai értékelési rendszerüket. A nyálmirigy lobulusokban megfigyelhető gyulladás mellett a fibrosis és a zsíros infiltráció is szerepet kapott a mirigydestrukciót értékelő rendszerükben. Az így pontozott minták közül a SS-ban szenvedők mintái jelentősen magasabb értékeket kaptak (a mirigyállományi destrukció jelentősebb volt), mint a RA-es vagy SS-RA betegeké.

Friedman és mtsai. 1979-ben [26] 70 szisztémás autoimmun betegségben (SS, SSc,

SLE, RA) szenvedő páciens KNYMB mintáját vizsgálták. Megfigyelték, hogy a gyulladással fókuszok SS esetén a leggyakoribbak és RA esetén a legritkábbak. Az alacsonyabb grádusú gyulladásokban a plasmasejtek aránya magas volt, míg fókuszokat formáló gyulladások esetén a lymphocyták domináltak. Hízósejteket gyakran fibrosishoz asszociáltan figyelték meg. Collagen felhalmozódást főként a SSc-os és SLE-s csoportban láttak. Zsíros infiltrációt pedig gyakrabban figyelték meg a RA-ben szenvedők mintáiban, mint SSc-os betegekében.

Chisholm és Fridman munkáival szemben Markkanen és mtsai. 1989-ben RA-os és egészséges kontrollok KNYM-eiben előforduló elváltozásokat értékelték Tarpley rendszere [31] szerint, planimetriás vizsgálatokkal kiegészítve. A fibrotikus terület aránya pozitívan korrelált a fókuszok számával, és a súlyos fibrosis gyakoribb volt a RA csoportban, mint a kontrollban. A zsíros infiltráció és a RA között nem mutattak ki összefüggést.

1998-ban Skopuoli és mtsai. [38] KNYMB-ban vizsgálták az összefüggést a hízósejtek megjelenése és a fibrosis illetve a zsíros infiltráció között. Munkájukhoz 19 SS-ban, 9 SLE-ban, 1 RA-ben és 2 egyéb nem autoimmun betegségekben szenvedő illetve 10 kontroll páciensből vett mintát használtak. Megfigyeléseik szerint a hízósejtek száma és a zsíros infiltráció, valamint a fibrosis kiterjedtsége pozitívan korrelált. A lymphoid infiltrátum intenzitása és a hízósejtek mennyisége között nem találtak összefüggést.

Christodoulou és mtsai. 2010-ben [32] SS-ás betegek KNYMB-ban előforduló gyulladással infiltrátum minőségét vizsgálták immunhisztokémiai módszerrel. Eredményeik szerint a gyulladással infiltrátum perifériás területeiben T lymphocyták míg a centrális részben a B lymphocyták dominálnak. Macrophagok és interdigitáló dendritikus sejtek a ductalis hámsejtekkel gyakran szoros összefüggésben voltak megfigyelhetők. Az infiltrátum grádusának növekedésével a T-sejtek aránya csökkent, míg a B-sejteké nőtt. A T-helper ( $T_H$ ) és cytotoxicus T-sejtek ( $T_C$ ) aránya is változott, míg előbbi száma csökkent, utóbbié konstans maradt így a  $T_C$  sejtek aránya relatíve nagyobb volt a súlyosabb léziókban. A macrophagok száma pozitívan, míg az interdigitáló dendritikus sejteké negatívan korrelált a gyulladással infiltrátum grádusával. NK sejtek száma nem mutatott hasonló összefüggést. Klinikai tünetek és infiltráló sejtek viszonyában folytatva a vizsgálatukat, több szignifikáns összefüggést mutattak ki az infiltrátumot alkotó sejtek minősége és a klinikai tünetek (nyálmirigy

duzzanat, szervi érintettség, ízületi gyulladás stb.) között.

Szintén 2010-ben Hideki Nakamura és mtsai. [47] 14 anti-centromer antitest pozitív, primer SS-ás páciens KNYMB mintájában súlyosabbnak találták a kötőszöveti szaporulatot, mint az ACA negatív SS-ás páciensek mirigyeiben.

Llamas-Gutierrez és mtsai. [33] 2014-es munkájukban SS-ás páciensek KNYMB-ban gyakoribbnak találtak fókuszalkotó gyulladással infiltrátumot, acinaris atrophiat és stromalis fibrosist, mint a kontroll esetekben. A zsíros infiltráció csak az életkorral, míg a fibrosis az életkorral és SS-val is pozitív összefüggést mutatott. A csíracentrum(ok) jelenléte és az acinaris vesztesség pozitívan korrelált a fókusz értékkel.

Fragoulis és mtsai. [112] 2016-ban száraz tüneteket mutató RA betegektől származó KNYM-eket vizsgálva állapították meg, hogy az itt látott gyulladás a SS-ra jellemző infiltrátum összetételétől jelentősen eltér és a gyulladás maga is enyhébb a SS-ban tapasztaltakéhoz viszonyítva. RA-os betegek mintáiban gyakoribbak voltak a dendritikus sejtek, míg a CD4+ T-sejtek ritkábbak.

Korábbi tanulmányunkban (2016) [113] 275, többségében szisztémás autoimmun betegről származó KNYMB-ás mintát feldolgozva vizsgáltuk a zsíros infiltráció összefüggését az életkorral és egyéb paraméterekkel (elhízás mértéke, diabetes mellitus diagnózisa). Az irodalmi adatokból is ismert zsíros infiltráció-öregedés összefüggés mellett az elhízással is pozitív korrelációról számoltunk be. Mindkét esetben a zsíros infiltráció jelenléte mellett annak kiterjedtsége is kapcsolatot mutatott a paraméterekkel. Nem sikerült szignifikáns kapcsolatot kimutatnunk azonban a DM jelenlétével. Független változóként pedig csak az életkor igazolódott a statisztikai analízisben.

Skarstein és mtsai. [53] SS-ás betegek KNYMB mintáiban találták gyakoribbnak a zsíros infiltrációt, mint a száraz kontroll alanyok mintáiban és azt, mint SS-ra jellemző, akár diagnosztikus értékű elváltozást interpretálták. Ezen összefüggést vizsgálva intézetünk mintáit felhasználva 107 SS-ás beteg és 67 azonos átlagéletkorú száraz kontroll KNYMB mintáit összevetve nem találtunk hasonló kapcsolatot.[114] A zsíros infiltrációnak –véleményünk szerint- tehát nincs diagnosztikus jelentősége SS-ban. E megállapításunkat Leehan KM. és mtsai. megerősítették egy 72 SS-ást és 62 száraz kontrollt tartalmazó tanulmányukban.[115]

Ugyancsak Leehan KM és mtsai 2017-es vizsgálatukban [116] erősebb összefüggést



találtak SS-ás betegek KNYMB mintáiban megjelenő fibrosis és a betegség diagnózisa között, mint a fibrosis és az életkor között.

2018-ban megjelent cikkünkben [117] a lobuláris fibrosist vizsgáltuk és kvantáltuk 373 betegől származó KNYMB mintát felhasználva. Megfigyeléseink szerint a collagen szaporulat mértéke korrelált az életkorral, a fibrosis jelensége pozitív összefüggést mutatott az anti-CCP és RF pozitivitással valamint a spRA klinikai diagnózisával. Ugyancsak gyakoribb volt a fibrosis a RA-SS overlap csoportban, ám itt gyakrabban gyulladással együtt jelent meg. A fibrosis ugyancsak gyakoribb volt szisztémás autoimmun betegség pozitív csoportban, mint a negatívban.

A KNYM-ben megfigyelhető gyulladással infiltráció mértékéről, összetételéről és a klinikai tünetekkel, szisztémás autoimmun betegséggel való kapcsolatáról bőséges és közel egybehangzó irodalommal rendelkezünk. A tény, hogy közel 50 éve a SS diagnosztikájában bekövetkezett változások ellenére, a KNYMB-ban megjelenő fókusz formáló gyulladással infiltráció (Gy), minden egyes diagnosztikus rendszer szerves részét képezi, hangsúlyozza a jelenség hisztopatológiai diagnosztikus jelentőségét. A zsíros infiltráció és fibrosis megítélése a KNYMB mintákban, szemben a gyulladással, ellentmondásos. Az ismert publikációk többsége, mint öregedéshez társult elváltozásokat említi e jelenségeket, ám egyes szerzők különböző szisztémás autoimmun betegségekhez társult szövettani elváltozásként számoltak be róluk.

## **Célkitűzés**

Jelenlegi vizsgálatunk fókuszában a KNYMB mintákban előforduló hisztopatológiai elváltozások, elsősorban a lobuláris fibrosis (F) és a zsíros infiltráció (Zs) állnak.

### **Célunk:**

1. A hisztológiai jelenségek (Gy, F, Zs) illetve kombinációik gyakoriságának meghatározása különböző szisztémás autoimmun betegségek és sicca kontroll páciensek KNYMB mintáiban
2. A lobuláris fibrosis és zsíros infiltráció objektív mérése számítógépes képanalízis segítségével
3. Az egyes hisztopatológiai elváltozások összefüggésének vizsgálata a klinikai adatokkal (nem, életkor, testtömeg index /BMI/, szisztémás autoimmun betegség jelenléte és típusa) és laboratóriumi paraméterekkel (serum autoantitest titerek)
4. F és Zs jelenségeinek háttérben álló faktorok tisztázása a korábbi publikációknál nagyobb esetszámú vizsgálattal

## **Anyagok és módszerek**

### **Betegek és biopsziás minták**

Kutatásunkban ötszázhetvenhat, 2012 és 2016 között a PTE KK Fogászati és Szájsebészeti Klinikáján vett KNYMB mintát vizsgáltunk a PTE KK Pathológiai Intézetében. A KNYM mintavételre SS iránydiagnózissal és/vagy sicca tünetekkel, többségében a PTE KK klinikáiról, kisebb részben külső rendelőintézetektől (Mohács, Komló, Pécs) utaltak betegeket. A formalinban fixált mintákból dehidrációt majd paraffinba ágyazást követően 4µm-es metszeteket készítettünk. A metszeteket rutinszerűen hematoxylin-eosin (HE) perjódsvav-Schiff (PAS) (mucin kimutatása) és Congo-vörös (amyloid depozitum kimutatása) eljárásokkal festettük. A digitális képanalízishez visszamenőleg, illetve 2016-tól rutinszerűen ecetsavas alcianókék-picrinsav-sirius vörös (APS) festéssel is készítettünk metszetet. Utóbbi a mucin (kék festődés) és a kötőszövet (piros festődés) azonos mintán belüli könnyű elkülöníthetőségét biztosítja a létrehozott szíkontraszt révén. Mind az 576 esetben fénymikroszkóposan vizsgáltuk és újraértékeljük a gyulladásos fókuszok továbbá a lobuláris fibrosis és zsíros infiltráció jelenlétét.

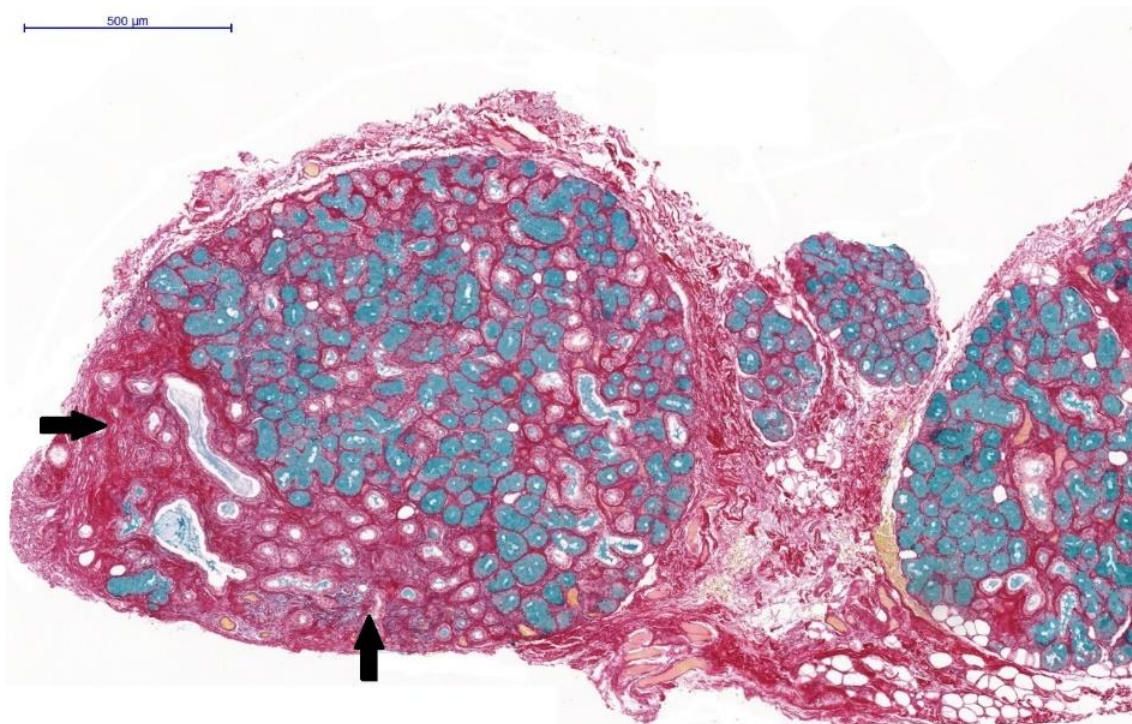
### **Adatgyűjtés**

A klinikai adatokat a mintavételkor felvett anamnézis és központi egyetemi rendszer (eMedsolution) adatbázisából nyertük. A páciensek életkora és neme mellett, amennyiben rendelkezésünkre állt, a testtömeg index (BMI) [118] számításához szükséges testsúly és testmagasság adatokat is, valamint –ha fennállt- a diabetes mellitus (DM) diagnózist is rögzítettük. Utóbbi esetén a betegek saját bevallására és a gyógyszerelési információkra (antidiabetikum, inzulin használat) hagyatkoztunk. A rendelkezésre álló klinikai és laboratóriumi adatokat (eMedsolution) az aktuális kritériumrendszereknek megfelelően újraértékeljük és a betegeket diagnosztikus kategóriákba soroltuk. Az autoantitest titerekre vonatkozó adatokat szintén az eMedsolution adatbázisából nyertük. Betegenként különböző, gyakran nem teljes antitest profil állt rendelkezésünkre, hiszen csak a klinikai diagnózis felállításához és a kezelés tervezéséhez szükséges releváns tesztek végezték el. Az autoantitestek meghatározása konvencionális ELISA módszerrel, validált kitekkel (1. kiegészítő

táblázat) végezték a PTE KK Immunológiai és Biotechnológiai Intézet munkatársai. A kutatást a PTE KK Regionális Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta (ügyiratszám: 6327).

### **Digitalizálás és számítógépes képanalízis**

A fénymikroszkópos vizsgálat után a szövettani elváltozást (fókusz formáló gyulladás, lobuláris fibrosis, zsíros infiltráció) mutató eseteket valamint 35 kontroll (hisztopatológiai elváltozást nem mutató) metszetet válogattuk ki. A fibrosist mutató eseteknél az APS, a zsíros infiltráció pozitív esetekben pedig a PAS festett metszeteket digitalizáltuk a 3DHitech Panoramic MIDI scannarével. Amennyiben zsíros infiltráció és fibrosis is jelen volt a mintában mind az APS, mind a PAS metszeteket digitalizáltuk. Hasonlóképpen jártunk el a kiválasztott kontroll esetekkel is. A további képanalízishez a digitalizált metszeteket használtuk. A 3DHitech CaseViewer szoftverével megnyitott virtuális metszetekben 3-6 kijelölést hoztunk létre a minta méretétől függően, a következő feltételeknek megfelelően: APS festett fibrosisos metszetek esetén -mivel a lobuláris fibrosis felmérése volt a cél- a kijelölések intralobulárisan történtek, elkerülve a ductus excretoriust, interlobuláris septumokat és egyéb extralobuláris kötőszövetet valamint a zsírosan infiltrált területet és a fókuszokat. A mintákban a fibrosis gyakran nem egyenletesen (diffúz módon) és egységesen jelenik meg minden területen, hanem bizonyos esetekben csak partialis vagy focalis. (6. kép)



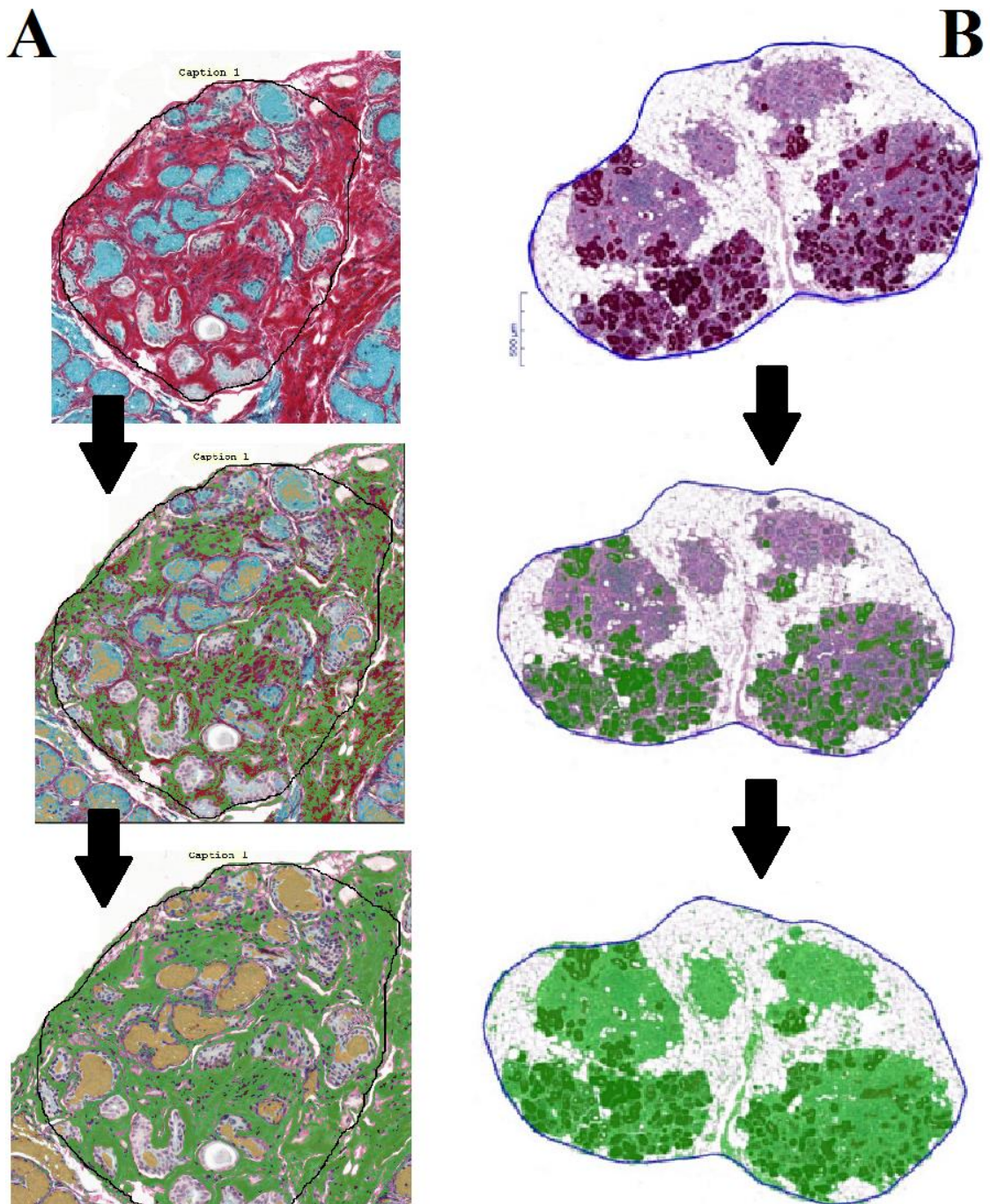
6. kép. Partialis lobularis fibrosis (fekete nyilak) APS festéssel. A jelölt területeken acinus vesztés és ductalis hámmetaplasia látható. Figyeljük meg a felszaporodott collagent (piros) és a ductalis hám kisebb nyáktartalmát (alciánkék festődés hiánya-mucin depléció)!

Annak érdekében, hogy a mintákban az átlag kötőszöveti arányt tudjuk meghatározni a kijelölések létrehozásánál a partialis vagy focalis fibrosis eseteiben mind az érintett mind a megkímélt területeken hoztunk létre annotációkat. PAS festett metszetek esetén ezzel szemben teljes mirigyterületeket igyekeztünk kijelölni, melyben a ductusok és akár a gyulladással járó infiltrátum is jelen volt. Bár az alsó ajkak kisnyálmirigyek valódi tokkal nem rendelkeznek, mind a mintavétel, mind pedig a szövettani értékelés során jól elkülöníthetők a környező szövetektől, így a kijelölések létrehozása során az extraglanduláris szövetek könnyen elkerülhetőek. A digitális képanalízishez használt szoftver a 3DHistech Histoquant modulja, mely színek alapján képes felosztani és mérni az egyes területeket. Így APS festett metszeteiken a kötőszövet (főként collagen) piros és a kéken festődő mucin az acinusokban jól elkülöníthető és mérhető. A gyulladással járó fókuszok környezetében a kötőszövet és az infiltrátum viszont nehezen választható el, ezért kerültük ki e területeket a kijelöléseknél. Azoknál a fibrosis pozitív eseteknél, ahol a gyulladás vagy zsíros infiltráció a mérést lehetetlenné tette a mérési adatok hiányoznak. Hasonlóan hiányoznak a digitális metszetek és a mérési eredmények azokban az esetekben, amikor az APS festéshez nem maradt elég szövet a paraffin

blokkban. A zsíros infiltráció kvantálására használt PAS metszetek esetén a különböző tónusú lilára festődő mirigyállomány (benne az acinusokkal, ductusokkal, kötőszövettel, gyulladásos sejtekkel stb.) a szoftver számára jól elkülöníthető a metszetkészítés során kioldódott zsír helyétől (amely fehér, „üres” területként jelenik meg). Mivel a zsír mellett a ductusokból kioldódott mucin és a kisebb repedések is fehér/üres területként jelennek meg a metszetekben még a kontroll esetek kijelöléseiben sem lehetett 100%-os mirigyszöveti (lila terület) arányt mérni. A szoftver használatakor a létrehozott kijelöléseket egyesével szemkontroll mellett kell beállítani, a bevonni kívánt terület (masked area-MA) és a teljes kijelölés (field area- FA) adatok felhasználásával a szoftver százalékos arányban képes kalkulálni a MA arányát a következő képletnek megfelelően:  $MA/FA*100$ . A képletből is láthatóan APS festett metszetek esetén így a kötőszövet és a mucin tartalmú parenchyma % arányát direkt kapjuk meg, míg PAS festett metszetek esetén mirigyterület (lila) arányához jutunk a kijelölt területünkön. A zsíros infiltráció mértékét úgy kapjuk meg, hogy a kapott értéket kivonjuk a 100%-ból.

(7. kép)





7. kép. Kép analízis menete: minden kijelölés esetén egyesével, szemkontroll mellett fokozatosan került bevonásra a mérni kívánt terület. „A” sorozatban a collagen tartalom (zöld fedőszín) és mucin tartalom (sárga fedőszín) míg „B”-ben a mirigy állomány (zöld fedőszín). A lobuláris fibrosis és a zsíros infiltráció méréséhez eltérő elvek szerint hoztuk létre az annotációkat!

## Statisztikai analízis

A statisztikai értékelést SPSS (IBM Corporation, New York, USA, v20.0) programmal végeztük. Szignifikánsnak a  $p < 0,05$  esetén tekintettük az eredményt. A normál átlag collagen és mucin tartalmat illetve az átlag üres területi arányt (PAS metszeten korrelál a zsíros infiltráció mértékével), a 35 kontroll metszet mérési eredményeit felhasználva határoztuk meg. A normális minimális mucin tartalom és maximális collagen tartalom illetve a maximális „üres/fehér” területi arányt a mérések átlagával és kétszeres standard deviációval ( $SD - \sigma$ ) kalkuláltuk. Így előbbi minimum értéket átlag  $-2SD$ , utóbbiak esetén a maximum értékeket pedig átlag  $+2SD$  képlettel határoztuk meg. A statisztikai értékelésnél figyelembe vettük a betegek nemét, életkorát, BMI értékét, DM adatát, klinikai diagnózisait, hisztológiai diagnózisát, és a mérési eredményeinket. A BMI értékeket önállóan és BMI csoportba [118] (2. táblázat) sorolva is (0-5) felhasználtuk.

Kategória		BMI
0-Sovány		<18,5
1-Normál		18,5-24,99
2-Túlsúlyos		25-29,9
3-5 Elhízott	3-moderált	30-34,99
	4-súlyos	35-39,99
	5-nagyon súlyos	>40

2. táblázat. BMI csoportok és jelentésük

A hisztológia elváltozásokat önállóan illetve csoportokat létrehozva is vizsgáltuk. A csoportok: 0-nincs hisztológiai elváltozás, 1-csak fókusz formáló gyulladás (Gy), 2-csak lobuláris fibrosis (F), 3-csak zsíros infiltráció (Zs), 4- a három eltérés együttes jelenléte (Gy+F+Zs); 5- Gy+F (Zs nélkül), 6-Gy+Zs (F nélkül), 7-F+Zs (Gy nélkül) is statisztikai analízisbe vontuk. Az analíziseket az előbb említett hisztológiai csoportok mellett a partialis és focalis jelenségeket mellőzve is lefutattuk, mely esetekben képanalízis során egy vagy több mérés értéke normál tartományon kívülre esett, de a mérések átlaga azon belül volt. Mivel a partialis és focalis fibrosis és zsíros infiltráció



jelentősége nem ismert, e jelenségeket bevonva és kihagyva is elvégeztük a statisztikai elemzést ily módon csökkentve a statisztikát torzító hatást. Amennyiben a statisztikai analízis eredménye a hisztológiai illetve a partialis és focalis hisztológiai jelenségek nélküli csoportokat felhasználva nem mutatott jelentős eltérést, a továbbiakban csak az előbbit ismertetjük részletesen. A klinikai diagnózisok esetén SS, snRA és spRA, SSc, SLE és NDC diagnózis illetve egyéb szisztémás autoimmun betegség (dermatomyositis, vasculitisek stb.) jelenlétét vagy hiányát használtuk fel. A klinikai diagnózisok között külön csoportokat is létrehoztunk: A-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, B-SS és SS overlap (RA nélkül), C-RA és RA overlap (SS nélkül), D-SS-RA overlap, E- egyéb (SLE, SSc, MCTD, NDC, stb). A csoportok létrehozását indokolta, hogy egyes betegségek az E csoportból olyan ritkán szerepeltek, hogy statisztikai analízisnek alávetni nem tudtuk őket. RA és RA overlap csoportot lebontva a snRA és spRA alcsoportokat használva is elvégeztük az értékelést. A statisztikai analízishez használt adatscsoportokat, az adatok limitáló tényezőit és esetszámát a 2. kiegészítő táblázat mutatja.

Kategorikus változók közötti kapcsolat vizsgálatra  $\chi^2$  próbát, nem normális változók esetén két minta összevetésére Mann Whitney tesztet, több minta esetén Kruskal Wallis próbát, normális eloszlású változók esetén T próbákat illetve ANOVA-t, Bonferroni post hoc teszttel alkalmaztunk. Folytonos változók közötti összefüggés elemzésére lineáris regressziót Pearson korrelációs analízissel használtunk. A többváltozós vizsgálat során alkalmazott bináris logisztikus regresszióhoz a paramétereket a „forward selection” módszerével vontuk be, melyek a következők voltak: életkor, nem, BMI érték és csoport, DM diagnózis, klinikai diagnózis csoport, autoantitestek.

## **Eredmények**

576 betegtől származó KNYMB mintát értékeltünk fénymikroszkóposan. A páciensek neme, életkora, hisztológiai diagnózisa minden esetben rendelkezésünkre állt. A minták 69 esetben férfiatól, míg 507 esetben nőtől származtak, a betegek átlagéletkora  $56,21 \pm 13,07$  év. A BMI adat 343 esetben állt rendelkezésünkre (átlag BMI= $27,97 \pm 6,39$ ) míg a DM diagnózisára vonatkozóan 553 esetben találtunk utalást az anamnézisben (90 esetben DM +, 463 DM „nem ismert”). Fénymikroszkópos értékelés során 98 esetben nem figyeltünk meg semmilyen hisztológiai elváltozást (0-negatív), 299 esetben láttunk fókusz formáló gyulladást, 320 esetben fibrosist és 359 esetben zsíros infiltrációt. A hisztológiai diagnózis alapján a következő csoportokat hoztuk létre 0-negatív (98 eset), 1-csak fókusz formáló gyulladás (51 eset), 2-csak fibrosis (24 eset), 3-csak zsíros infiltráció (54 eset), 4-Gy+F+Zs (151 eset), 5-Gy+F (44 eset), 6-Gy+Zs (53 eset), 7-F+Zs (101 eset). A zsíros infiltrációt mutató esetek mindegyikéből rendelkezünk a megfelelő PAS festett metszettel a digitális képanalízishez így 359 átlag zsíros infiltrációs mérési értékkel dolgoztunk. A fibrosist mutató minták esetében az APS festett metszeteket utólag kellett elkészítenünk és két esetben nem állt rendelkezésünkre elegendő szövetminta a blokkban az új metszet készítéséhez. A fibrosist és jelentős gyulladással infiltrációt is tartalmazó esetek közül hétben kiterjedt gyulladás miatt a megfelelő kijelölésekre és a digitális képanalízisre nem volt lehetőségünk, így összesen kilenc fibrosist mutató esetben a mucin-tartalom és collagen tartalom mérési értékei hiányoznak. A szisztémás autoimmun betegség diagnózisa 555 esetben állt rendelkezésünkre, a külsős, nem egyetemi rendelésekről beküldött betegek esetén a reumatológiai diagnózis adat hiányzott.

## Kontrollok

A negatív csoportból kiválasztott 35 PAS és 35 APS festett metszeten határoztuk meg a normál maximális „fehér/üres terület”-„blank area” mennyiségét (zsíros infiltráció):  $4,16 + 2 \times 2,12 = 8,40$  a normál maximális collagen tartalmat:  $12,46 + 2 \times 3,54 = 19,55$  és a normál minimális mucin tartalmat:  $59,89 - 2 \times 4,73 = 50,42$ . A kapott értékeket az esetleges mérési pontatlanságok és a könnyebb kezelhetőség érdekében kerekítettük és a normál maximális zsír tartalmat 10%-nál, a normál maximális collagen tartalmat 20%-nál míg a normál minimális mucin tartalmat: 50%-nál határoztuk meg.

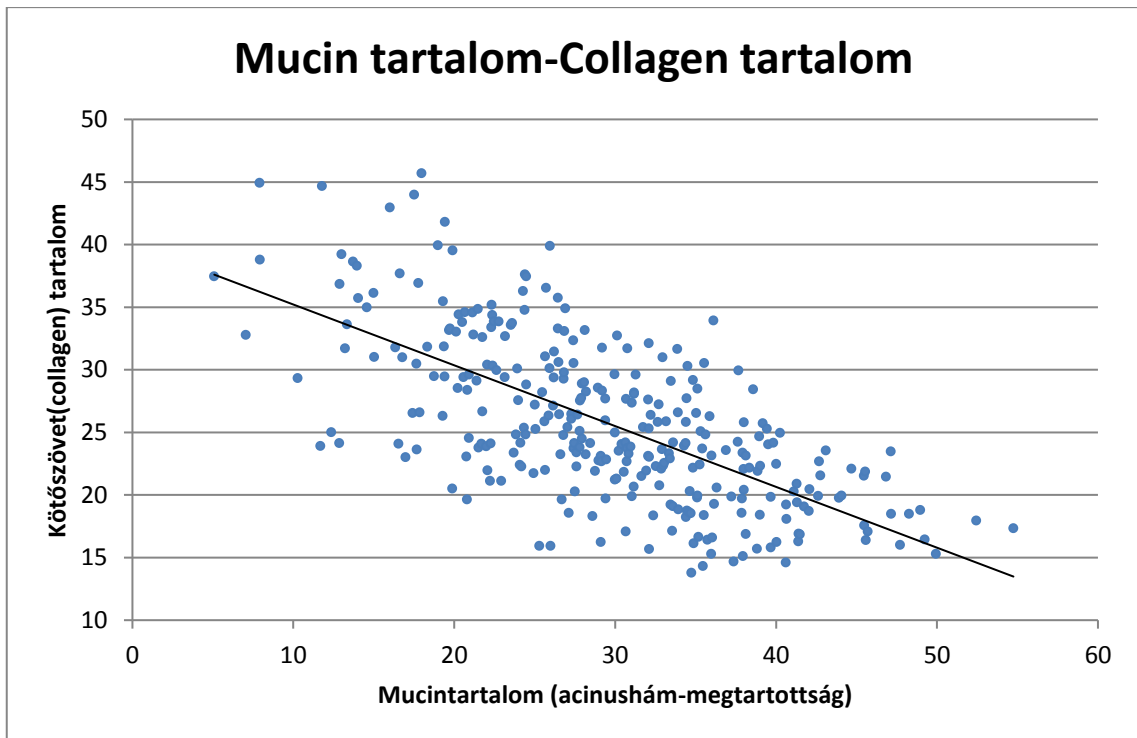
## Gyulladás (fókuszt)

A jelentős (fókuszt formáló) gyulladásos beszűrődést mutató eseteket összevetve a DM klinikai diagnózisával, a páciensek nemével és az elhízással (BMI érték és csoport) nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést ( $p=0,448$ ;  $p=0,469$  és  $p=0,123$ ). Szignifikánsan ( $p<0,001$ ) magasabb volt azonban az átlagéletkor a fókuszt formáló gyulladás pozitív csoportban ( $54,036 \pm 13,475$  vs  $58,217 \pm 12,360$ ), mint a negatívban. Továbbá szignifikánsan magasabb volt mind a fibrosis ( $p<0,001$ ) mind a zsíros infiltráció előfordulása ( $p=0,002$ ) a fókuszt formáló gyulladás pozitív csoportban, mint a negatívban ( $65,6\%$  vs  $44,8\%$  és  $68,2\%$  vs  $56,0\%$ ).

A jelenség gyakorisága szignifikánsan ( $p<0,001$ ) eltért a klinikai diagnózis csoportok között. Magas volt a fókuszt formáló gyulladás előfordulása a SS és SS overlap és SS-RA overlap csoportokban ( $\sim 94\%$ ), míg a „nincs igazolható szisztémás autoimmun betegség” csoportban, és az „egyéb szisztémás autoimmun betegség” csoportban jóval ritkábban figyeltük meg ( $\sim 27\%$  és  $\sim 28\%$ ). RA és RA-overlap diagnózis mellett utóbbi értékekhez hasonlóan alacsony volt a fókusztok előfordulása (snRA:  $23,5\%$ , spRA:  $40,0\%$ ).

## Fibrosis

A metszetekben mért collagen százalékos aránya negatív korrelációt mutatott az acinushám- megtartottsággal ( $p < 0,001$ ,  $r = 0,669$ ). (1. ábra)



1. ábra. A mucin tartalom (acinushám-megtartottság) és a collagen tartalom (fibrosis) összefüggése

A fibrosis mértéke azonban nem mutatott szignifikáns összefüggést az életkorral ( $p = 0,099$ ). Nem mutatkozott összefüggés a fibrosis jelenléte, és DM klinikai diagnózisa ( $p = 0,274$ ) illetve a páciensek neme ( $p = 0,102$ ), BMI értéke ( $p = 0,057$ ) vagy BMI csoportok ( $p = 0,089$ ) között. A BMI csoportok között nem tért el szignifikánsan az átlagos collagen tartalom ( $p = 0,627$ ). Szignifikánsan magasabb volt azonban az átlagéletkor ( $p < 0,001$ ;  $48,934 \pm 13,487$  vs  $62,025 \pm 9,266$ ) és a zsíros infiltráció ( $p < 0,001$ ;  $42,2\%$  vs  $78,4\%$ ) előfordulása a fibrosis pozitív csoportban, mint a negatívban.

Klinikai diagnózisok közül a fibrosis jelenléte pozitívan korrelált a SS ( $p = 0,002$ ,  $63,03\%$  F+) és spRA ( $p < 0,001$ ,  $78,33\%$  F+) diagnózisokkal. (3. és 4. táblázat). A többi betegséggel nem mutatott korrelációt a jelenség.

	SS	snRA	spRA	SLE	SSc	NDC	Egyéb
<b>Lobuláris fibrosis</b>	0,002	0,591	<0,001	0,07	0,631	0,657	0,115
<b>Zsíros infiltráció</b>	0,003	0,149	0,063	0,246	0,946	0,221	0,294
<b>Hisztológiai csoportok</b>	<0,001	na	0,028	na	na	na	0,055
<b>Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül</b>	<0,001	na	0,018	na	na	na	0,033

3. táblázat. Összefüggés a klinikai diagnózisok és hisztológia jelenségek és csoportok között. A szignifikáns összefüggések zölddel jelölve. A pirossal jelölt esetekben (na) a statisztikai értékeléshez nem állt rendelkezésre elegendő adat.

	<b>Lobuláris fibrosis</b>		$\Sigma$
	<i>negatív</i>	<i>pozitív</i>	
<b>SS <i>negatív</i></b>	173 (68,90%)	171 (56,30%)	344 <b>(62,00%)</b>
<b>SS</b>	78 (31,10%)	133 (43,80%)	211 <b>(38,00%)</b>
$\Sigma$	251	304	555
<b>spRA <i>negatív</i></b>	238 (94,80%)	257 (84,50%)	495 <b>(89,20%)</b>
<b>spRA</b>	13 (5,20%)	47 (15,50%)	60 <b>(10,80%)</b>
$\Sigma$	251	304	555

4. táblázat. A fibrosis előfordulása SS és spRA esetekben. Késsel kiemelve az összes eset %-os megoszlása. Figyeljük meg, hogy a SS-ás esetek 63%-ban (133/211) míg a spRA-os esetek 78%-ban (47/60) pozitívak voltak lobuláris fibrosisra (piros keret).

A collagen tartalom százalékban kifejezett átlag értéke (a fibrosis mértéke) azonban nem mutatott szignifikáns különbséget a nemek ( $p=0,441$ ), a DM pozitív és negatív ( $p=0,176$ ) és az egyes autoimmun betegség pozitív és negatív esetek között (SS:  $p=0,093$ ; szero-RA:  $p=0,397$ ; szero+RA:  $p=0,439$ ; SSc:  $p=0,617$ ; NDC:  $p=0,961$ ; egyéb szisztémás autoimmun betegség:  $p=0,361$ ), kivéve SLE diagnózis mellett ahol a fibrosis átlag értéke szignifikánsan alacsonyabb volt ( $p=0,01$  SLE negatív:  $N=287$  medián:

24,790% max.: 45,710% min.: 13,800%, SLE pozitív: N=6 medián: 20,089%, max: 22,780% min: 16,615%). Nem mutatkozott továbbá jelentős összefüggés az átlag collagen tartalom (fibrosis mértéke) és az egyes autoantitest jelenléte/hiánya között (ANA p=0,196; dsDNS p=0,184; nucleosoma:p=0,217; ENA: p=0,350; RFIgA: p=0,139; RFIgM: p= 0,588 RFIgG: p=0,954; anti-CCP: p=0,619; anti-centromer: p=0,505; anti-Anti-SS-a: p=0,350; anti-Anti-SS-b: p=0,849; anti-SM: p=0,550; anti-RNP: p=0,172; anti-SCL-70: p=0,860; anti-Jo: p= 0,959; ANCA: p=0,472; anti-cardiolipin: p=0,513; anti-  $\beta$ 2GP: p=0,935). Pozitív korreláció volt azonban megfigyelhető a jelenség és az RF IgA és IgG (p=0,004; 68,47% F+ és 0,016; 66,12% F+) és az anti-CCP (p=0,001; 74,65% F+) pozitivitás között, míg negatív korrelációt találtunk a jelenség és az anti-dsDNS (p=0,01; 37,50% F+ ) és anti-SS-a(p=0,007; 40.30% F+) pozitivitás között.(5. és 6. táblázat) Három esetben (Jo, SCL-70, SM) nem állt rendelkezésre elég adat a statisztikai próba elvégzéséhez.

	F	Zs	Hisztológiai csoport	Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül
<b>ANA</b>	0,205	0,629	0,014	0,070
<b>anti-dsDNS</b>	0,010	0,919	na	na
<b>anti-nucleosoma</b>	0,452	0,158	0,029	0,064
<b>anti-ENA</b>	0,147	0,107	0,002	0,005
<b>RF</b>	<b>IgA</b>	0,004	0,377	0,057
	<b>IgM</b>	0,271	0,866	0,367
	<b>IgG</b>	0,016	0,595	0,110
<b>anti-CCP</b>	0,001	0,864	0,006	0,026
<b>ACA</b>	0,439	0,732	na	na
<b>anti-SS-a</b>	0,007	0,006	<0,001	0,001
<b>anti-SS-b</b>	0,114	0,013	na	na
<b>anti-SM</b>	na	na	na	na
<b>anti-RNP</b>	0,577	0,002	na	na
<b>anti-SCL-70</b>	na	na	na	na
<b>anti-Jo</b>	na	na	na	na
<b>ANCA</b>	0,553	0,402	na	na
<b>anti-cardiolipin</b>	0,672	0,132	0,315	na
<b>anti-<math>\beta</math>2GP</b>	0,432	0,429	0,523	0,679

5. táblázat. Szignifikancia értékek az egyes autoantitestek és hisztológia kapcsán. Zölddel emeltük ki a szignifikáns összefüggéseket, pirossal (na) pedig azokat ahol nem állt rendelkezésre elegendő adat a statisztikai próba elvégzéséhez.

	<b>Lobuláris fibrosis</b>			
		<i>Negatív</i>	<i>Pozitív</i>	$\Sigma$
<b><i>anti-dsDNS</i></b>	<i>Negatív</i>	217 87,90%	285 94,10%	502 91,30%
	<i>Pozitív</i>	30 12,10%	18 5,90%	48 8,70%
$\Sigma$		247	303	550
<b><i>RF-IgA</i></b>	<i>Negatív</i>	197 84,90%	223 74,60%	420 79,10%
	<i>Pozitív</i>	35 15,10%	76 25,40%	111 20,90%
$\Sigma$		232	299	531
<b><i>RF-IgG</i></b>	<i>Negatív</i>	190 82,30%	221 73,40%	411 77,30%
	<i>Pozitív</i>	41 17,70%	80 26,60%	121 22,70%
$\Sigma$		231	301	532
<b><i>anti-CCP</i></b>	<i>Negatív</i>	194 91,50%	220 80,60%	414 85,40%
	<i>Pozitív</i>	18 8,50%	53 19,40%	71 14,60%
$\Sigma$		212	273	485
<b><i>anti-SS-a</i></b>	<i>Negatív</i>	203 83,50%	278 91,10%	481 87,80%
	<i>Pozitív</i>	40 16,50%	27 8,90%	67 12,20%
$\Sigma$		243	305	548

6. táblázat. Fibrosis megoszlása anti-dsDNS, RF IgA és IgG, anti-CCP és anti-SS-a pozitív és negatív esetek között. Kékkel kiemelve az összes eset %-os megoszlása a csoportokban. Figyeljük meg, hogy a RF IgA pozitív esetek 68%-a (76/111) pozitív lobuláris fibrosisra, míg ez az arány RF IgG és CCP esetén 66% (80/121) és 75% (53/71) (piros keret).

A fibrosis jelenléte mind a klinikai diagnózis csoportokkal ( $p < 0,001$ ), mind a RA szerológia alapján kialakított klinikai diagnózis csoportokkal ( $p < 0,001$ ) és a szisztémás autoimmun betegség pozitív/negatív csoportokkal ( $p = 0,001$ ) szignifikáns összefüggést mutatott. Az első összehasonlításban a fibrosis előfordulása a vártnál alacsonyabb volt szisztémás autoimmun betegség negatív és egyéb szisztémás autoimmun betegség pozitív csoportokban, míg magasabb mind a SS és SS overlap (RA nélkül) mind az RA és RA overlap (SS nélkül) mind az RA-SS overlap csoportokban. (7. táblázat)

p<0,001		Klinikai diagnózis csoportok					Σ
		A	B	C	D	E	
F	Negatív	93 55,70%	71 40,10%	16 29,10%	7 23,30%	64 50,80%	251 45,20%
	Pozitív	74 44,30%	106 59,90%	39 70,90%	23 76,70%	62 49,20%	304 54,80%
Σ		167	177	55	30	126	555

7. táblázat. Fibrosis előfordulása a klinikai diagnózis csoportokban. A-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, B-SS és SS overlap (RA nélkül), C-RA és RA overlap (SS nélkül), D-SS-RA overlap, E- egyéb szisztémás autoimmun betegség. A fibrosis+ arányt kékkel tüntettük fel az összes vizsgált beteg vonatkozásában, pirossal emeltük ki a jelentős, az esetek több, mint 2/3-ban fibrosist mutató és narancssárgával a több, mint 55%-ban fibrosist mutató klinikai csoportokat. Figyeljük meg, hogy az összes szisztémás autoimmun betegség csoportban magasabb a fibrosis+ esetek aránya, mint a betegségre negatív (A) csoportban!

Második összehasonlításban a RA alcsoportokat felhasználva a snRA-ban (II) már nem volt gyakrabban megfigyelhető a fibrosis míg markánsabbá vált a jelenség gyakorisága azon csoportokban (III, IV és V) ahol spRA illetve RA-SS overlap szerepelt diagnózisként. (8. táblázat)

p<0,001		Klinikai diagnózis csoportok RA alcsoportok szerint						Σ	
		0	I	II	III	IV	V		VI
F	Negatív	93 55,70%	71 40,10%	8 47,10%	6 17,10%	2 25,00%	7 28,00%	64 50,80%	251 45,20%
	Pozitív	74 44,30%	106 59,90%	9 52,90%	29 82,90%	6 75,00%	18 72,00%	62 49,20%	304 54,80%
Σ		167	177	17	35	8	25	126	555

8. táblázat. Fibrosis előfordulása a RA szerológia alapján kialakított klinikai diagnózis csoportokban. 0-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, I-SS és SS overlap (RA nélkül), II-snRA és overlap (SS nélkül), III-spRA és overlap, IV-SS-snRA overlap, V-SS-spRA overlap VI- egyéb szisztémás autoimmun betegség. A kék, sárga és piros jelölések a 7. táblázatban látottakkal megegyeznek. Figyeljük meg, hogy messze a legmagasabb értéket a spRA betegeket tartalmazó III. csoport mutat.

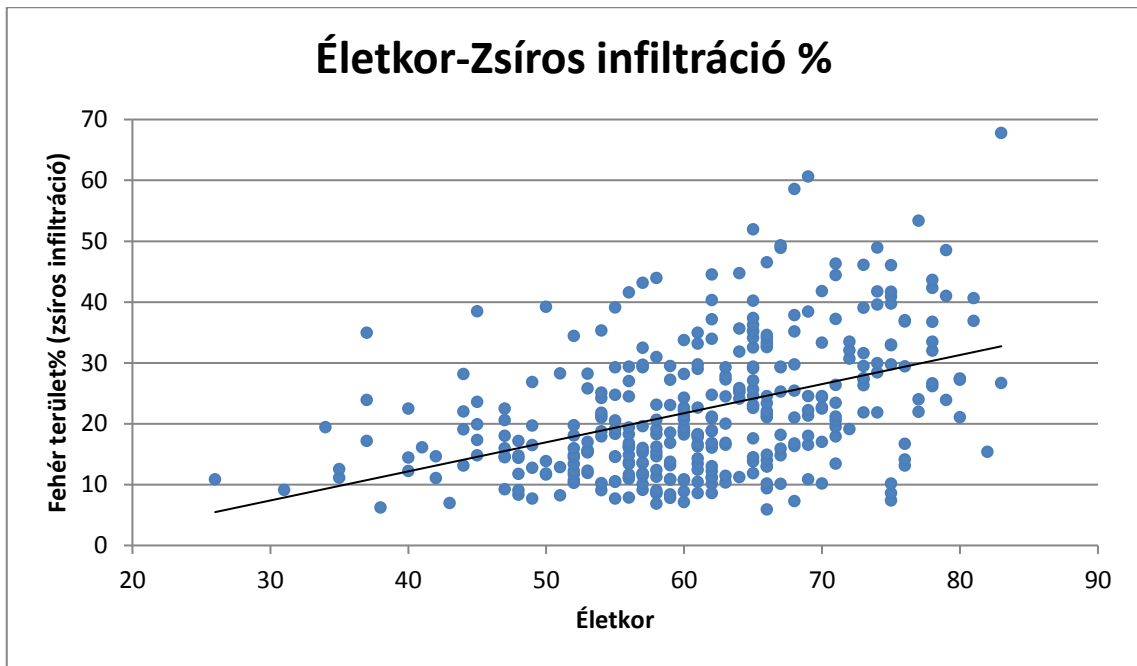
Ugyancsak gyakoribb volt a fibrosis előfordulása a harmadik összehasonlításban a szisztémás autoimmun betegség pozitív csoportban, mint a negatívban (59,3% vs 44,3%). Az átlag collagen tartalom nem mutatott azonban összefüggést a sem a klinikai diagnózis csoportokkal (p=0,207) sem a RA alcsoportok szerint létrehozott klinikai dg. csoportokkal (p=0,062) sem a szisztémás autoimmun betegség pozitív/negatív csoportokkal (p=0,125). Bináris logisztikus regresszióval vizsgálva a fibrosis



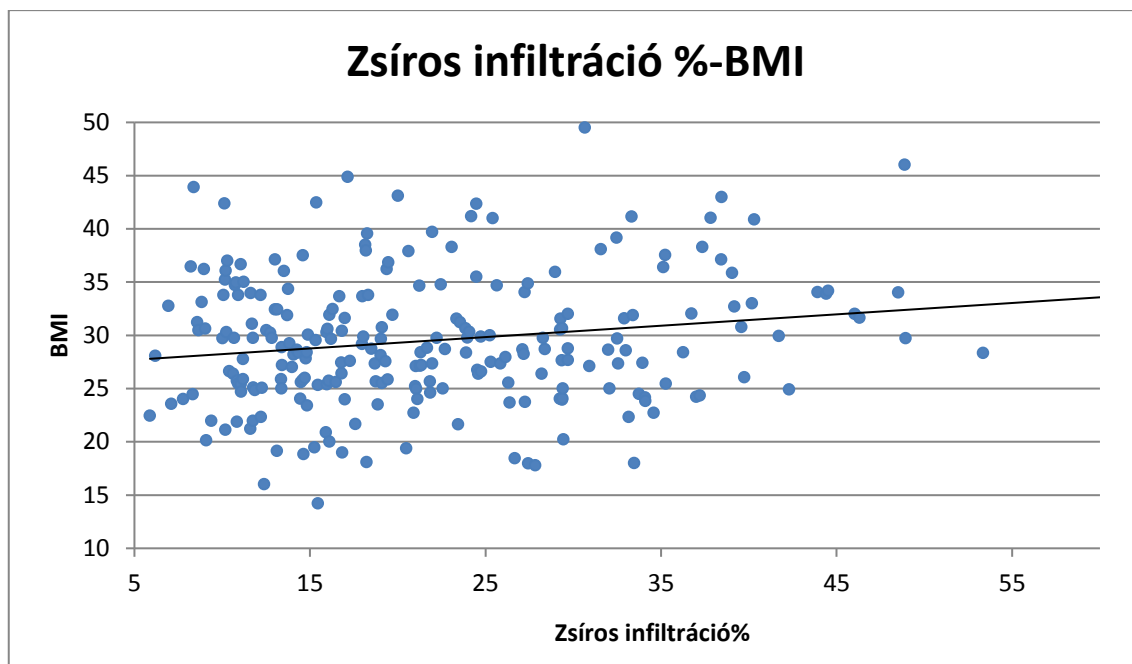
összefüggésit egyéb paraméterekkel, a női nem, az életkor és az anti-CCP pozitív míg anti-SS-b negatív korrelációt mutatott.

### Zsíros infiltráció

A zsíros infiltráció mértéke (fehér terület % aránya) pozitív összefüggést mutatott a BMI értékekkel ( $p=0,02$   $r=0,186$ ) és az életkorral ( $p<0,001$   $r=0,455$ ). (2. és 3. ábra)



2. ábra. Az életkor és a zsíros infiltráció összefüggése



3. ábra. A BMI és a zsíros infiltráció értékének összefüggése

A különböző BMI csoportokban a zsíros infiltráció mértéke (%) nem tért el szignifikánsan ( $p=0,317$ ), ám a magasabb BMI csoportokban szignifikánsan ( $p<0,001$ ) magasabb volt a zsíros infiltráció előfordulása. (9. táblázat)

$p<0,001$		<b>Zsíros infiltráció</b>	
		<i>Negatív</i>	<i>Pozitív</i>
<b>BMI csoport</b>	<b>0</b>	11(57,89%)	8 (42,11%)
	<b>1</b>	54 (54,54%)	45(45,46%)
	<b>2</b>	24 (20,05%)	90 (79,95%)
	<b>3</b>	9 (13,85%)	56 (86,15%)
	<b>4</b>	2 (6,90%)	27 (93,10%)
	<b>5</b>	2 (11,76%)	15 (88,24%)
<b>Σ</b>		102	241

9. táblázat. A zsíros infiltráció előfordulása a BMI csoportokban. 0-Sovány, 1-Normál, 2-Túlsúlyos, 3-Moderálan elhízott, 4-Súlyosan elhízott,5-Nagyon súlyosan elhízott.

A zsíros infiltráció jelenléte és DM klinikai diagnózisa között pozitív összefüggést ( $p=0,001$ ) találtunk. A DM pozitív esetek 20,1%-ban láttunk zsíros infiltrációt, ezzel szemben a negatív csoportban csak 9,8%-ban volt megfigyelhető az elváltozás. A jelenség és a betegek neme között nem volt hasonló reláció ( $p=0,597$ ).

Emellett mind az átlagéletkor mind az átlag BMI érték szignifikánsan magasabb volt ( $p < 0,001$  és  $p = 0,05$ ) a zsíros infiltráció pozitív csoportban, mint a negatívban ( $48,060 \pm 13,461$  vs  $61,131 \pm 10,014$  év és  $24,445 \pm 5,524$  vs  $29,456 \pm 6,155$  BMI). A klinikai diagnózisok közül pozitív korrelációt találtunk a SS-val ( $p = 0,003$ ). Zsíros infiltráció a SS betegek 42,8%-ban míg a SS negatív esetek 30,1% fordult elő. A többi autoimmun betegség diagnózissal nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést. (lásd 3. táblázat)

Negatív összefüggést találtunk az anti-SS-a ( $p = 0,006$ ), anti-SS-b ( $p = 0,013$ ), anti-RNP ( $p = 0,018$ ) autoantitestek jelenléte és a zsíros infiltráció között. Három esetben (anti-SM, anti-SCL-70, anti-Jo) nem állt rendelkezésünkre elegendő adat  $\chi^2$  próbák kivitelezéséhez. (4. táblázat) Anti-SS-a pozitív esetek 53,73%-a zsíros infiltráció negatívak. Anti-SS-b pozitivitás esetén ez az arány 55,56% míg anti-RNP-nél 75%.

A zsírszöveti infiltráció mértéke nem tért el szignifikánsan a nemek ( $p = 0,451$ ) a DM pozitív és negatív csoportok ( $p = 0,711$ ) és az egyes szisztémás autoimmun betegségekre pozitív és negatív esetek között (SS:  $p = 0,668$ ; snRA:  $p = 0,804$ ; spRA:  $p = 0,652$ ; SLE:  $p = 0,294$ ; SSc:  $p = 0,846$ ; NDC:  $p = 0,819$ ; egyéb szisztémás autoimmun betegség:  $p = 0,515$ ). Szignifikánsan alacsonyabb volt azonban a zsíros infiltráció mértéke az ANA pozitív ( $p = 0,026$ ) csoportban, mint a negatívban (ANA+: N:77 medián:16,988% max: 46,100% min:5,884%; ANA- :N=276 medián= 20,992% max=67,767% min=6,840%). A többi autoantitest esetén statisztikailag szignifikáns összefüggést nem találtunk (anti-dsDNA  $p = 0,618$ , anti-nucleosoma:  $p = 0,172$ , anti-ENA  $p = 0,073$ , RF IgA  $p = 0,062$ , RF IgM  $p = 0,090$ , RF IgG  $p = 0,063$ , anti-CCP  $p = 0,330$ , anti-centromer  $p = 0,132$ , anti-SS-a  $p = 0,202$ , anti-SS-b  $p = 0,256$ , anti-SM  $p = 0,533$ , anti-RNP  $p = 0,604$ , anti-SCL-70  $p = 0,724$ , ANCA  $p = 0,301$ , anti-cardiolipin  $p = 0,211$ , anti- $\beta$ 2GP  $p = 0,068$ ).

A zsíros infiltráció jelenléte mind a klinikai diagnózis csoportokkal ( $p = 0,002$ ), mind a RA szerológia alapján létrehozott klinikai diagnózis csoportokkal ( $p = 0,006$ ) és a szisztémás autoimmun betegség pozitív/negatív csoportokkal ( $p = 0,034$ ) szignifikáns összefüggéseket mutatott. Az első összehasonlításban a zsíros infiltráció jelenléte ritkábbnak bizonyult a szisztémás autoimmun betegség negatív és az egyéb szisztémás autoimmun betegség pozitív csoportokban. Az összes többi klinikai csoportban gyakoribb volt. (10. táblázat)

p=0,002		Klinikai diagnózis csoport					Σ
		A	B	C	D	E	
<b>Zs</b>	Negatív	74 (44,30%)	54 (30,50%)	14 (25,50%)	8 (26,70%)	59 (46,80%)	209 (37,70%)
	Pozitív	93 (55,70%)	123 (69,50%)	41 (74,50%)	22 (73,30%)	67 (53,20%)	346 (62,30%)
Σ		167	177	55	30	126	555

10. táblázat. A zsíros infiltráció pozitív és negatív esetek előfordulása a klinikai diagnózis csoportok között. A-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, B-SS és SS overlap (RA nélkül), C-RA és RA overlap (SS nélkül), D-SS-RA overlap, E- egyéb szisztémás autoimmun betegség. Késsel emeltük ki a zsíros infiltráció pozitív esetek %-os arányát az összes betegben, sárgával jelöltük azokat ahol a jelenség ritkább volt.

A RA alcsoportokat tartalmazó összehasonlításban hasonló eredmények kaptunk kivéve a SS-snRA csoportban (IV) ahol a zsíros infiltráció előfordulása csekély eltérést mutatott az összes eset megoszlásához viszonyítva. (11. táblázat)

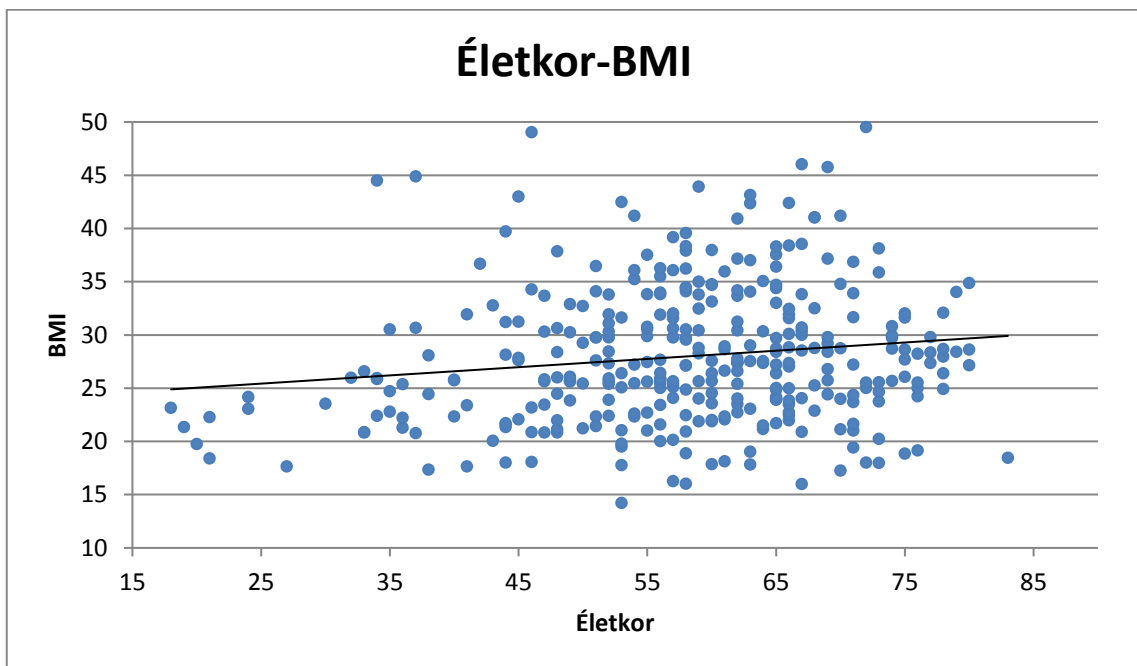
p=0,006		Klinikai diagnózis csoport RA szerológia alapján						Σ	
		0	I	II	III	IV	V		VI
<b>Zs</b>	Neg.	74 (44,30%)	54 (30,50%)	3 (17,60%)	8 (22,90%)	3 (37,50%)	8 (32,00%)	59 (46,80%)	209 (37,70%)
	Poz.	93 (55,70%)	123 (69,50%)	14 (82,40%)	27 (77,10%)	5 (62,50%)	17 (68,00%)	67 (53,20%)	346 (62,30%)
Σ		167	177	17	35	8	25	126	555

11. táblázat. A zsíros infiltráció pozitív és negatív esetek megoszlása a RA szerológia alapján felállított klinikai alcsoportok között. 0-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, I-SS és SS overlap (RA nélkül), II-snRA és overlap (SS nélkül), III-spRA és overlap, IV-SS-snRA overlap, V-SS-spRA overlap VI- egyéb szisztémás autoimmun betegség. Jelölések a 10. táblázatnak megfelelően történek.

A harmadik összehasonlításunkban a zsíros infiltráció gyakoribb volt szisztémás autoimmun betegség diagnózis mellett, mint annak hiányában (65,2% vs 55,7%), ám a zsíros infiltráció mértéke nem különbözött szignifikánsan ugyanezen csoportok összehasonlításakor ( $p=0,869$ ,  $p=0,968$  és  $p=0,590$ ). Bináris logisztikus regresszióval vizsgálva az adatokat a zsíros infiltráció független pozitív korrelációt mutatott a BMI értékkel, az életkorral és negatív a klinikai diagnózis csoportok közül az egyéb szisztémás autoimmun betegség pozitív csoporttal.

## BMI, életkor, acinaris hám-vesztés, hisztológiai csoportok

Lineáris regressziós vizsgálatban pozitív összefüggést láttunk az életkor és a BMI értékek között ( $p=0,001$   $r=0,178$ ) (4. ábra)



4. ábra. Az életkor és a BMI összefüggése

A mucin tartalom (működő nyálmirigy állomány) és az életkor között nem találtunk szignifikáns kapcsolatot ( $p=0,080$ ). Szignifikáns összefüggést láttunk azonban több betegség: SS ( $p<0,001$ ) és spRA ( $p=0,028$ ) klinikai diagnózisa valamint a hisztológiai csoportok között. SS esetén ritkábban fordult elő negatív hisztológia (0), a fibrosis önállóan (2) a zsíros infiltráció önállóan (3), és a fibrosis és zsíros infiltráció kombinációja (7), míg gyakoribb volt minden olyan hisztológiai csoport, amelyben fókusz formáló gyulladáso infiltráció szerepelt (1,4,5,6). (12. táblázat) A partialis és focalis jelenségektől mentes hisztológiai csoportokat használva megoszlásában hasonló eredményre jutottunk. ( $p<0,001$ )

p<0,001	Hisztológiai csoport								Σ
	0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
<b>SS negatív</b>	91 96,80%	15 30,00%	20 90,90%	50 94,30%	44 29,90%	20 46,50%	16 30,20%	88 94,60%	344 62,00%
<b>SS</b>	3 3,20%	35 70,00%	2 9,10%	3 5,70%	103 70,10%	23 53,50%	37 69,80%	5 5,40%	211 38,00%
<b>Σ</b>	94	50	22	53	147	43	53	93	555

12. táblázat. A SS és SS negatív esetek megoszlása a hisztológiai csoportok között. Késsel emeltük ki a SS+ esetek %-os értékét az összes eset vonatkozásában, pirossal pedig a vártnál gyakrabban előforduló SS diagnózist adott jelenség csoportban.

SpRA esetén szintén ritkább volt a negatív hisztológia, a zsíros infiltráció valamint a fókusz formáló gyulladási infiltráció önállóan, míg gyakoribb volt minden olyan hisztológiai csoport, melyben a fibrosis (F) szerepelt (3,4,5,7) (p=0,028). (13. táblázat) Az értékeléshez a partialis és focalis jelenségeket nem tartalmazó hisztológiai csoportokat használva arányaiban hasonló eltéréseket figyeltünk meg, kivéve, hogy a F+Gy csoportban a spRA diagnózis már nem jelent meg gyakrabban, mint a teljes esetszám % megoszlásában (10,30% vs 10,40%) . (p=0,018)

p=0,028	Hisztológiai csoport								Σ
	0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
<b>spRA neg.</b>	91 96,80%	47 94,00%	19 86,40%	50 94,30%	124 84,40%	36 83,70%	49 92,50%	79 84,90%	495 89,20%
<b>spRA.</b>	3 3,20%	3 6,00%	3 13,60%	3 5,70%	23 15,60%	7 16,30%	4 7,50%	14 15,10%	60 10,80%
<b>Σ</b>	94	50	22	53	147	43	53	93	555

13. táblázat. A spRA megoszlása a hisztológiai csoportok között. Jelölések a 12. táblázatnak megfelelően.

A partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok között az egyéb szisztémás autoimmun betegség diagnózis is szignifikánsan eltérést mutatott (p=0,033). Utóbbi diagnózis a vártnál gyakrabban fordult elő negatív hisztológia míg ritkábban a Gy és F önállóan és a Gy+F+Zs együttesen csoportokban. (14. táblázat)

p=0,033	Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül								Σ
	0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
<b>Egyéb szisztémás autoimmun betegség <i>negatív</i></b>	67 71,30%	45 90,00%	16 88,90%	40 80,00%	98 89,90%	23 79,30%	35 79,50%	62 81,60%	386 82,10%
<b>Egyéb szisztémás autoimmun betegség</b>	27 28,70%	5 10,00%	2 11,10%	10 20,00%	11 10,10%	6 20,70%	9 20,50%	14 18,40%	84 17,90%
Σ	94	50	18	50	109	29	44	76	470

14. táblázat. Az egyéb szisztémás autoimmun betegség pozitív és negatív esetek megoszlása a partialis és focalis jelenségek nélkül kialakított hisztológiai csoportok között. Késsel emeltük ki a betegség csoport százalékos arányát az összes esetszám viszonylatában, míg sárgával jelöltük a betegségek ritkább előfordulását az egyes hisztológiai csoportokban.

A hisztológiai csoportok és az autoantitest pozitivitások összefüggésében az ANA (p=0,014), anti-nucleosoma (p=0,029) anti-ENA (p=0,002), anti-CCP (p=0,006) és anti-SS-a(p<0,001) esetén találtunk szignifikáns összefüggést. A partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportokat használva hasonló eredményre jutottunk: az ENA-val (p= 0,005), anti-CCP-vel (p= 0,026), anti-SS-a-val (p= 0,001) való összefüggéseknél, ám az ANA-val és anti-nucleosomával való kapcsolat itt már nem mutatkozott szignifikánsnak, míg az RF IgA-val való kapcsolat szignifikánssá (p= 0,016) vált. ANA pozitívitas az összes esetet figyelembe véve 22,60%-ban fordult elő ennél ritkább volt az autoantitestre pozitív esetek aránya a negatív (18,60%), a fibrosis önállóan (16,70%), a zsíros infiltráció önállóan (16,70%) és a fibrosis és zsíros infiltráció kombináció (13,1%) csoportokban, míg a fókusz formáló gyulladást is tartalmazó csoportokban (1,4,5,6) gyakrabban fordult elő.(3. kiegészítő táblázat) Anti-nucleosoma pozitívitas a gyakrabban fordult elő a fókusz formáló gyulladás önállóan (35,60%), a három jelenség együttesen (24,60%), Gy+F és Zs+F csoportokban (34,10% és 26,50%), míg ritkábban a F és Zs önállóan, és a F+ Zs együttese csoportokban.(3. kiegészítő táblázat) Anti-ENA pozitívitas a ritkábban fordult elő negatív hisztológia (9,50%), zsíros infiltráció önállóan (9,30%) és zsíros infiltráció fibrosissal kombinálva (6,30%) csoportokban, és gyakoribb volt a Gy, a Gy+F és a Gy+Zs csoportokban.(3. kiegészítő táblázat) Az anti-CCP pozitívitas ritkább volt a negatív, a Zs önállóan és a Gy+Zs együttese csoportokban, és gyakoribb volt a Gy és F önállóan, a Gy+F+Zs , a Gy+F és F+Zs hisztológiai csoportokban.(15. táblázat) Arányaiban hasonló eredményt

kaptunk a partialis és focalis jelenségektől mentes hisztológiai csoportokat felhasználva az analízishez kivéve, hogy a F önállóan csoportban már nem volt gyakoribb az anti CCP pozitívítás.

	Hisztológiai csoport								Σ
	0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
<b>anti-CCP –</b>	78 (94,00%)	31 (77,50%)	15 (83,30%)	44 (97,80%)	105 (80,80%)	32 (78,00%)	41 (93,20%)	68 (81,00%)	414 (85,40%)
<b>anti-CCP +</b>	5 (6,00%)	9 <b>(22,50%)</b>	3 <b>(16,70%)</b>	1 (2,20%)	25 <b>(19,20%)</b>	9 <b>(22,00%)</b>	3 (6,80%)	16 <b>(19,00%)</b>	71 <b>(14,60%)</b>
<b>Σ</b>	83	40	18	45	130	41	44	84	485

15. táblázat. Az anti-CCP pozitív és negatív esetek megoszlása a hisztológiai csoportokban. Kékkel kiemelve az anti-CCP pozitív esetek arányát az összes eset viszonylatában és pirossal jelölve a gyakoribb autoantitest pozitívítást a hisztológiai csoportokban.

Anti-SS-a pozitívítást gyakrabban láttunk a Gy, Gy+F valamint Gy+Zs csoportokban, míg a Gy+F+Zs és a Zs+F csoportokban a vártnál ritkábban figyeltük meg. Anti-SS-a pozitívítás esetén.(16. táblázat) A partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportokat alkalmazva hasonló eredményre jutottunk.

	Hisztológiai csoportok								Σ
	0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
<b>Anti-SS-a neg.</b>	83 (89,20%)	35 (71,40%)	21 (87,50%)	47 (90,40%)	131 (91,60%)	35 (79,50%)	38 (77,60%)	91 (96,80%)	481 (87,80%)
<b>Anti-SS-a poz.</b>	10 (10,80%)	14 <b>(28,60%)</b>	3 (12,50%)	5 (9,60%)	12 (8,40%)	9 <b>(20,50%)</b>	11 <b>(22,40%)</b>	3 (3,20%)	67 <b>(12,20%)</b>
<b>Σ</b>	93	49	24	52	143	44	49	94	548

16. táblázat. Az Anti-SS-a pozitív és negatív esetek megoszlása a hisztológiai csoportokban. Jelölések a 15 táblázatnak megfelelően.



RF IgA gyakoribb volt a Gy, a F, a Gy+F+Zs és F+Zs, és ritkább a Zs, Gy+F és a Gy+Zs csoportokban.(17. táblázat)

p=0,016		Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül								Σ
		0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
RF IgA	-	80 (87,90%)	34 (75,60%)	12 (66,70%)	44 (91,70%)	76 (71,70%)	25 (83,30%)	31 (81,60%)	53 (71,60%)	355 (78,90%)
	+	11 (12,10%)	11 (24,40%)	6 (33,30%)	4 (8,30%)	30 (28,30%)	5 (16,70%)	7 (18,40%)	21 (28,40%)	95 (21,10%)
	Σ	91	45	18	48	106	30	38	74	450

17. táblázat. Az RF IgA pozitivitás előfordulása a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportokban. Jelölések a 15. táblázatnak megfelelően..

A hisztológiai csoportok és a partialis és focalis jelenségek nélküli csoportok között nem tértek el szignifikánsan nemek (p=0,393 és 0,392) és a DM diagnózisa (p=0,076 és 0,219) tekintetében.

Az átlagéletkor csak az 1 (normál) és 2 (túlsúlyos) BMI csoportok között tért el szignifikánsan (p=0,005 54,182±14,306 vs. 60,149±11,014). Az acinaris hámmegtartottság átlag értéke nem tért el szignifikánsan a BMI csoportok (p=0,341), a DM pozitív és negatív esetek (p=0,784), a nemek (p=0,144), az egyes autoimmun betegség diagnózisok (SS: p=0,726, snRA p=0,912 és pozitív RA p=0,681, SLE: p=0,253, SSc p=0,532, NDC: p=0,438, egyéb: p=0,374) vagy az egyes autoantitest pozitív és negatív esetek (ANA p=0,341; anti-dsDNS p=0,201; anti-nucleosoma:p=0,534; ENA: p=0,640; RF IgA: p=0,094; RF IgM: p=0,844 RF IgG: p=0,703; anti-CCP: p=0,550; anti-centromer: p=0,319; anti-SS-a: p=0,594; anti-SS-b: p=0,807; anti-SM: p=0,081; anti-RNP: p=0,393; anti-SCL-70: p=0,326; anti-Jo: p=0,165; ANCA: p=0,362; anti-Cardiolipin: p=0,533; anti-β2GP: p=0,068) között.

A hisztológiai csoportok és a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok megoszlását a szisztémás autoimmun betegség pozitív és negatív csoportok között vizsgálva szignifikáns összefüggést találtunk (p<0,001 mindkét összehasonlításban).(18. táblázat) A klinikai diagnózis csoportok és a RA szerológia alapján meghatározott klinikai csoportok közötti vizsgálathoz nem állt rendelkezésre elegendő adat a Chi<sup>2</sup> próba elvégzéséhez. A szisztémás autoimmun betegség csoportban

gyakrabban fordult elő minden olyan hisztológiai csoport, melyben fókusztt formáló gyulladási infiltráció szerepelt (1,4,5,6).

		Szisztémás autoimmun betegség		Σ
		<i>Negatív</i>	<i>Pozítív</i>	
<b>Hisztológiai csoportok</b>	<b>0-neg</b>	46 (27,50%)	48 (12,40%)	94 (16,90%)
	<b>1-Gy</b>	9 (5,40%)	41 (10,60%)	50 (9,00%)
	<b>2-F</b>	10 (6,00%)	12 (3,10%)	22 (4,00%)
	<b>3-Zs</b>	29 (17,40%)	24 (6,20%)	53 (9,50%)
	<b>4-Gy+F+Zs</b>	18 (10,80%)	129 (33,20%)	147 (26,50%)
	<b>5-Gy+F</b>	9 (5,40%)	34 (8,80%)	43 (7,70%)
	<b>6-Gy+Zs</b>	9 (5,40%)	44 (11,30%)	53 (9,50%)
	<b>7-F+Zs</b>	37 (22,20%)	56 (14,40%)	93 (16,80%)
Σ		167	388	555

18. táblázat. A hisztológiai csoportok eseteinek megoszlása a szisztémás autoimmun betegség pozitív és negatív csoportok között

Nem mutatott szignifikáns eltérést a DM előfordulása és a nemek megoszlása a klinikai diagnózis csoportok ( $p=0,072$  és  $p=0,407$ ) sem a szisztémás autoimmun betegség pozitív és negatív csoportok ( $p=0,459$  és  $p=0,236$ ) között, míg a RA szerológia alapján felállított alcsoportok esetén nem állt rendelkezésre elegendő adat az egyes csoportokban a statisztikai analízis elvégzéséhez. A BMI csoportok megoszlása ismét csak a szisztémás autoimmun betegség + és – esetekben volt vizsgálható  $\chi^2$  próbával, melynél szignifikáns kapcsolatot nem találtunk ( $p=0,463$ ). Sem az átlag acinaris hám megtartottság sem az átlag BMI érték nem tért el szignifikánsan a klinikai diagnózis csoportok ( $p=0,834$ ;  $p=0,093$ ) és a RA szerológia alapján létrehozott klinikai csoportok között ( $p=0,070$  és  $p=0,935$ ) vizsgálva, sem a szisztémás autoimmun betegség + és – esetek között ( $p=0,398$  és  $p=0,533$ ).

SS-ban az átlagéletkor szignifikánsan ( $p=0,008$ ,  $54,855\pm 13,179$  vs.  $57,886\pm 12,822$  év) magasabb volt az átlag BMI esetén nem láttunk hasonló eltérést ( $p=0,234$ ). Anti-SS-a és anti-SS-b pozitív csoportokban között szignifikánsan alacsonyabb volt mind az átlag BMI ( $p<0,001$  és  $p<0,001$ ;  $24,872\pm 4,841$  vs  $28,299\pm 6,512$  és  $24,649\pm 4,222$  vs  $28,183\pm 6,506$ ) mind az átlagéletkor ( $p=0,042$  és  $p=0,003$ ;  $52,672\pm 15,014$  vs  $56,640\pm 12,777$  és  $48,867\pm 16,652$  vs  $56,759\pm 12,641$ ). Az autoimmun betegség pozitív

csoportban szintén szignifikánsan magasabb volt az átlagéletkor ( $p=0,010$ ;  $53,749\pm 13,766$  vs  $56,979\pm 12,722$ ), ám nem tért el szignifikánsan az átlag BMI érték a szisztémás autoimmun betegség negatív csoportban mérttől ( $p=0,354$ ).

A hisztológiai és partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok között a BMI és átlagéletkor több esetben is szignifikánsan eltért. (4. kiegészítő táblázat és 1 kiegészítő ábra) A DM megoszlása sem a hisztológiai ( $p= 0,076$ ) sem a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok ( $p= 0,219$ ) között nem mutatott szignifikáns eltérést.

## **Megbeszélés**

Az autoimmun betegek KNYMB-ban előforduló lobuláris fibrosis és zsíros infiltráció valamint az autoantitestek kapcsolatával kevés tanulmány foglalkozik. Az eddig publikált munkák főként az egyes szisztémás autoimmun betegségek kapcsán megfigyelt KNYM elváltozásokat vizsgálták.[15,25,53,26,30–33,38,41,44] Az adatok azonban ellentmondásosak illetve a betegségek diagnosztikus kritériumrendszerei is több változáson mentek át [28,29,80,98,99] ezért az eredmények kevéssé összevethetők. További problémát jelenthet még, hogy az egyes betegségek (SS[98,99], MCT[103]) esetén hosszabb rövidebb ideig párhuzamosan több diagnosztikus rendszer is érvényben volt, mely a klinikai diagnózisok egységességét kérdőjelezheti meg. Ezzel szemben a validált rendszerekkel történő autoantitest titer meghatározás objektív paraméter és ennek megfelelően stabilabb alapot képez az analízishez.

### **A lobuláris fibrosis, gyulladós infiltráció és zsíros infiltráció kapcsolata a szisztémás autoimmun betegségekkel és autoantitestekkel**

H. Nakamura [47] és munkatársai gyakoribbnak és súlyosabbnak találták a fibrosis jelenségét ACA pozitív, anti-SS-b és anti-SS-a negatív primer SS-ás páciensek szubcsoportjában, mint ACA negatív primer SS-ás pácienseknél. Vizsgálatunkban mindössze 9 ACA pozitív SS páciens szerepelt, melyek közül 8 anti-SS-a és anti-SS-b negatív volt, ám csak 1 esetén állapították meg klinikai diagnózisként SS-át önállóan (primer). A szerző által felállított kritériumoknak megfelelő esetben azonban nem figyeltünk meg fibrosist. Az általuk vizsgált 129 primer SS-ás beteg közül 14 ACA pozitív volt szemben a mi vizsgálatunkkal, ahol 130 SS-ás páciens közül mindössze 2 volt ACA pozitív és csak 1 anti-SS-a és anti-SS-b negatív. Az esetszámok közötti eltérés miatt így nehezen összehasonlítható a két populáció.

Több tanulmányban gyakoribbnak találták azonban a fibrosist SS-ás betegek mintáiban.[31,33,38,41,47,116] Chisholm[41] gyakrabban figyelt meg lobuláris fibrosist SS-ban és ritkábban RA-es és egyéb kötőszöveti betegségekben szenvedő betegek KNYM-ben. SS esetén mi is gyakoribbnak találtuk a fibrosist beteganyagunkban (4. táblázat) míg az egyéb autoimmun betegség csoportban (7. és 8. táblázat) ritkább volt. Saját eredményeink azonban részben ellentmondanak Chisholm vizsgálatának, mivel spRA populációban gyakoribb volt a fibrosis megjelenése.(4.

táblázat) A két vizsgálat közötti eltérést magyarázhatják a RA diagnosztikus kritériumrendszerében történt változások és az autoantitest szerológia (RF, CCP) későbbi alkalmazása, hiszen a snRA csoportban esetünkben sem volt a gyakoribb a fibrosis előfordulása.(3. táblázat) Klinikai diagnózis csoportokat (A-E illetve RA szerológia alapján létrehozott klinikai diagnózis csoportokat (0-VI) vizsgálva (7. és 8. táblázat) megfigyeltük, hogy SS-RA overlap illetve spRA és overlap-ek (kivéve SS-val) csoportjaiban igen gyakori a fibrosis (az eseteknek 76,70% illetve 82,90 % F+). SS és SS-overlap (kivéve RA) diagnózisok esetén valamint snRA csoportban a jelenség előfordulása ritkábbnak bizonyult (59,90% és 52,90%). Nem meglepő módon ugyancsak szignifikánsan gyakoribb volt a fibrosis a szisztémás autoimmun betegség csoportban, mint a negatívban (59,3% vs 44,3%). A vizsgált beteganyagban domináló kórkép a primer SS illetve SS overlap formák voltak, és mivel a SS esetén gyakoribbnak találtuk a fibrosist így a szisztémás autoimmun betegség csoportban is hasonló tendenciára számítottunk. Ugyanezen okból nem meglepő az, hogy az ANA, anti-ENA és anti-SS-a pozitivitás dominált a fókusz formáló gyulladással infiltációt mutató szövettani csoportokban.(3. kiegészítő táblázat és 16. táblázat) Érdekes azonban, hogy anti-nucleosoma pozitivitást is gyakrabban láttunk (3. kiegészítő táblázat) a fenti csoportokban, mely valószínűleg az SS-SLE overlap eseteknek tulajdonítható. Gyakran nem csak a klinikai szindrómák tekintetében, de az autoantitest szerológiában is láthattunk többszörös pozitivitást. Az anti-nucleosoma pozitivitás mellett ANA, anti-ENA, anti-SS-a, anti-SS-b, RF pozitív fennállása, melyek bizonyítottan gyakrabban asszociálódnak fókusz formáló gyulladással, szintén magyarázatul szolgálhat a jelenségre.

Tarpley és mtsai. [31] szubjektíven fénymikroszkópos vizsgálattal értékelve az általuk létrehozott rendszer csoportjaiba sorolták a KNYMB mintákban látott hisztológiai elváltozásokat. Nagyobb mértékű mirigyállományi destrukciót figyeltek meg a SS betegek (51 eset) mintáiban, mint RA (15 eset) vagy SS-RA (12 eset) esetén. Esetszámaink és az alkalmazott vizsgálati módszer valamint diagnosztikus kritérium rendszerek eltérése miatt megint csak nehéz összehasonlítani a két tanulmányt. Saját vizsgálatunkban jóval nagyobb betegszám mellett azonban a betegség csoportok (köztük SS-SS overlap, RA-RA overlap és SS-RA overlap csoportok) nem tértek el szignifikánsan sem az acinaris hámmegtartottságot jellemző mucin tartalom %-os értékei sem a collagen tartalom vagy a zsírszöveti infiltáció %-os értékei tekintetében.

Kiemelendő azonban, hogy a fókuszot formáló gyulladásos infiltrátumok ismert szerepét az acináris hámvesztésben nem vizsgáltuk így azon esetekből ahol a Gy volt az egyetlen szövettani elváltozás nem rendelkezünk mérési eredményekkel.

Friedman és mtsai. [26] kis esetszámú tanulmányukban különböző szisztémás autoimmun betegségben szenvedő betegek KNYMB mintáit vizsgálva gyakrabban figyeltek meg collagen felhalmozódást SSc (22 eset) és SLE (20 eset) esetén. A zsíros infiltrációt pedig gyakrabban találtak RA-os pácienseknél (23 eset). Fókuszot formáló gyulladásos infiltrátumot a RA-ben szenvedők mintáiban figyeltek meg a legritkábban, mely közel összhangban van vizsgálatainkkal, hiszen snRA esetén találtuk a fókuszot formáló gyulladást a legritkábbnak, ám spRA-ben már magasabb előfordulást figyeltünk meg és SS tartalmazó csoportokban láttuk a Gy leggyakrabban. Vizsgálatunkban sem SLE (20) sem SSc (27) esetén nem mutatkozott gyakrabban fibrosis, sőt az előbbi esetében az objektív digitális képanalízissel meghatározott kötőszöveti szaporulat % értéke, szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult. Bár azon SLE-os betegek száma, ahol a kötőszövet mennyiségét megmértük viszonylag csekély (6 eset) így kevésbé lenne értékelhető a kapott eredmény, ám az SLE-re jellemző egyes szerológiai eltérések mellett (anti-dsDNA és anti-SS-a pozitivitás) szignifikánsan ritkábban láttunk lobuláris fibrosist.(5. és 6. táblázat) Ezen megfigyeléseink arra engednek következtetni, hogy a SLE-re jellemző autoimmun gyulladás mellett kevésbé illetve kevésbé súlyosan jelentkezik fibrosis a KNYM-ben. A betegek kis létszáma miatt a vizsgált populációból messzemenő következtetéseket nem szabad levonni. Azt, hogy e jelenség a betegség természetéből, illetve a kialakuló autoimmun gyulladásos reakció jellegzetességeiből, vagy a betegségre kapott terápia eltéréseiből fakad, sajnos még nem tudjuk megválaszolni. Zsíros infiltráció ugyancsak nem mutatkozott gyakoribbnak sem a spRA sem a snRA diagnózis mellett.

Markkanen és mtsai. [44] vizsgálatukban szintén nem tudtak kimutatni összefüggést a KNYMB-ban megjelenő zsíros infiltráció és a RA között, ám a betegség és a fibrosis között pozitív kapcsolatot fedeztek fel. RA-os betegek mintáiban gyakoribb volt a súlyos hegesedés, a gyulladásos fókuszok megjelenése és jelentősebb volt az acináris atrophia, mint a kontrolok mintáiban. Esetünkben a kötőszöveti szaporulat mértéke nem tért el szignifikánsan egyik összehasonlításban sem, de spRA esetén és SS-RA overlap esetén is gyakoribb jelenség volt.(7. és 8. táblázat) Tovább erősíti ezen összefüggést, hogy egyes RA-re jellemző szerológiai eltérések: RF IgA és IgG valamint anti-CCP

pozitivitás mellett szignifikánsan gyakrabban fordult elő lobuláris fibrosis a kisnyálmirigyekben.(5. és 6. táblázat) Mindemellett a spRA diagnózis gyakoribb volt a fibrosist is tartalmazó csoportokban -mind a hisztológiai mind pedig a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportokat vizsgálva.(13 táblázat)

Skopuoli és munkatársainak [32] munkája alapján a KNYMB előforduló hízósejtek mennyisége korrelált a fibrosis és zsíros infiltráció mértékével. Vizsgálatunk a hízósejtek előfordulására nem terjedt ki, ám érdekes megfigyelésünk, hogy a fibrosis - mely általánosan elfogadottan a gyulladás krónikus következményének tekinthető gyakran- a szignifikáns (fókusz formáló) gyulladástól függetlenül jelentkezik (115/305; 37,7%). Esetenként diffúz, plasmasejtes infiltráció, máskor akár ennek hiányában mindössze néhány lymphocyta figyelhető meg a mintában. Mindez azt jelentheti, hogy a gyulladás már korábban lezajlott. A tény, hogy idősebbeknél gyakoribb a KNYM fibrosis előfordulása, ugyanakkor szoros kapcsolatot láthattunk egyes serum autoantitestek előfordulásával arra enged következtetni, hogy az említett autoimmun betegség fennállta és az abban eltöltött időtartam fontos tényező lehet. Ez egyszerre magyarázná a jelenség kapcsolatát az életkorral és a krónikus autoimmun gyulladásos folyamattal. Sajnos e betegségek pontos időbeni kezdetét meghatározni nem könnyű, így szinte lehetetlen kétséget kizáróan igazolni az említett kapcsolatot.

Llamas-Gutierrez és mtsai. [33] által közölt eredményekhez hasonlóan mi is gyakoribbnak találtuk a fókusz formáló gyulladástól és a lobularis fibrosist (4. táblázat) SS-ás betegek KNYM-ben és pozitív kapcsolatot észleltünk az életkor és a zsíros infiltráció valamint a fibrosis jelenléte között, sőt a zsíros infiltráció mértéke is szignifikáns korrelációt mutatott az életkor emelkedésével.(2. ábra) A fibrosis %-ban kifejezett mértéke azonban már nem mutatott szignifikáns kapcsolatot az öregedéssel. SS diagnózis mellett gyakrabban figyeltünk meg minden olyan hisztológiai csoportot ahol fókusz formáló gyulladást is jelen volt (1-Gy,4-Gy+F+Zs,5-Gy+F,6-Gy+Zs). Ez nem meglepő, hiszen a fókusz formáló gyulladást a SS egyik diagnosztikus kritériuma.

Fraguolis és mtsai [112] enyhébbnek találták a gyulladásos infiltrátum súlyosságát RA-os páciensek KNYMB mintáiban, mint SS-ás betegekében. A fókusz formáló gyulladástól esetünkben is ritkábbnak bizonyult RA-RA overlap csoportban, míg a SS-RA overlap csoport, e tekintetben közel megegyezett SS-SS overlap (RA nélkül) csoporttal. Összességében elmondható, hogy a SS-spRA overlap csoportban

mind a SS-re jellemző fókuszot formáló gyulladáshoz infiltrátum (92% pozitív) mind a spRA-re jellemzőbb lobuláris fibrosis (72% pozitív) gyakran megfigyelhető.

Skarstein és mtsai. [53] által publikált tanulmányban a KNYMB előforduló zsíros infiltráció és a SS között mutattak ki szoros kapcsolatot és a jelenséget fókuszok hiányában a betegségre jellemző diagnosztikus paraméternek ítélték meg. Saját anyagunkban megvizsgálva a kérdést [114] nem találtunk kapcsolatot a SS és a zsíros infiltráció jelenléte illetve mértéke között. Hasonló megállapításra jutottak Leehan KM. és mtsai. [115] is publikációjukban. Látszólag ennek ellentmondva, 555 esetet tartalmazó 5 év anyagát felölelő jelenlegi vizsgálatunkban szignifikáns kapcsolatot találtunk a SS jelenléte és a zsíros infiltráció gyakorisága között (SS betegek 42,8%-ban míg a SS negatív esetek 30,1% fordult elő zsíros infiltráció). Megjegyzendő azonban, hogy a fent említett tanulmányokban a SS betegeket egy hasonló átlagéletkorú autoimmun betegségre negatív „sicca kontroll” csoporthoz hasonlították, (többek között mi is így tettünk a közleményünkben) míg jelen tanulmányunkban a SS-s csoportot az egyéb autoimmun betegségben szenvedő betegek adatait is tartalmazó csoporttal összevetve jutattunk erre az eredményre. Az is tény, hogy a SS-ok átlagéletkora szignifikánsan magasabb volt, mint a nem SS-ásoké a kor pedig bizonyítottan pozitívan korrelál a zsíros infiltrációval. Meg kell azonban említenünk azt is, hogy a zsíros infiltráció mértéke nem volt jelentősen magasabb a SS-ás betegekben.

### **Zsíros infiltráció**

Korábbi publikációnkhoz hasonlóan nagyobb esetszámon több szempontból megközelítve igazoltuk a KNYMB előforduló zsíros infiltráció és az elhízás kapcsolatát az általánosan elfogadott öregedés –zsíros infiltráció reláció mellett. Az átlagéletkor mellett az átlag BMI is szignifikánsan magasabb a zsíros infiltrációt mutató esetekben. Magasabb BMI csoportokban is jelentősen gyakoribb volt a zsíros infiltráció előfordulása.(9. táblázat) Bizonyítottuk továbbá azt is, hogy a zsíros infiltráció jelenléte mellett annak kiterjedtsége is korrelál mind az életkorról, mind az elhízással (BMI). (2. és 3. ábra) Szemben korábbi vizsgálatunkkal, ezen nagyobb esetszám mellett a BMI és a zsíros infiltráció közötti korreláció már független kapcsolatnak mutatkozott. Így bár a BMI és az életkor között fennálló ismeret korreláció továbbra is megmaradt (4. ábra) mind az öregedés mind az elhízás rizikófaktorként szerepel a KNYM zsíros infiltrációjában. A DM diagnózisa és a zsíros infiltráció jelenléte között is szignifikáns összefüggés



mutatkozott jelenlegi nagyobb esetszámunk mellett, mely összefüggés az elhízás és öregedés valamint DM kapcsolatának ismeretében nem meglepő. Ezek mellett a zsíros infiltráció és az anti-SS-a, anti-SS-b és anti-RNP antitestek jelenléte között negatív korrelációt figyeltünk meg. Utóbbi autoantitest pozitív esetek csekély száma, a csoportok átlagéletkor, és átlag BMI értékeinek eltérései miatt kevésbé szolgáltatnak releváns adatokat. Megfigyeltük továbbá, hogy a zsíros infiltráció gyakoribb volt majd minden szisztémás autoimmun betegség csoportban kivéve az egyéb szisztémás autoimmun betegségek csoportját.(10. és 11. táblázat) Ezen csoportok azonban több ponton is jelentősen eltértek átlagéletkor és átlag BMI tekintetében, mely magyarázatot ad a jelenségre.(4. kiegészítő táblázat és 1. kiegészítő ábra) Utóbbi összefüggés magyarázhatja az autoimmun betegség pozitív csoportban megfigyelt gyakoribb zsíros infiltrációt, bár itt az átlag BMI érték nem volt jelentősen magasabb, de a csoport tagjai itt is szignifikánsan öregebbek voltak ( $53,749 \pm 13,766$  vs  $56,979 \pm 12,722$  év). Tovább erősíti a feltételezést miszerint a zsíros infiltráció nem kapcsolható szisztémás autoimmun betegségekhez az a tény is, hogy a mért zsírszöveti infiltráció (%) értéke nem tért el szignifikánsan az egyes betegségek és klinikai diagnózis csoportok között és mindössze az ANA pozitív csoportban volt szignifikánsan alacsonyabb a mért érték, mint a negatívban. (medián:16,988% vs medián= 20,992%) Az ANA meghatározás általánosan elfogadott szűrőteszt szisztémás autoimmun betegségekben így hiánya esetén a betegségcsoport bármely tagjának valószínűsége kisebb. A hisztológiai és a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok megoszlását vizsgálva a szisztémás autoimmun betegség pozitív és negatív csoportban ugyancsak kitűnt, hogy a Zs önállóan és fibrosissal együtt is gyakrabban fordult elő a szisztémás autoimmun betegség negatív csoportban. Azon esetek ahol fókuszt formáló gyulladás is jelen volt (Gy+Zs, Gy+F+Zs) gyakoribbak voltak a betegség pozitív csoportban.(18. táblázat) Minthogy a szisztémás autoimmun beteg csoportban a SS volt a leggyakoribb így ez nem meglepő eredmény. Utóbbi szövettani kombinációk magasabb száma az életkori eltérések mellett szintén magyarázatul szolgálhat a zsíros infiltráció gyakoribb előfordulására az autoimmun betegség pozitív csoportban. Elképzelésünket erősíti, hogy a jelenségnek független pozitív kapcsolata mindössze az életkorról és a BMI-vel mutatkozott. A BMI csoportok között mindössze egy esetben (1 vs 2 BMI csoport) volt szignifikáns eltérés az átlagéletkorban. Elmondhatjuk tehát, hogy az öregedés mellett az elhízás is jelentős szerepet játszik a zsíros infiltráció megjelenésében és annak mértékében is, ám a többi vizsgált paraméterrel így az autoimmun betegség típusával

vagy autoantitestek jelenlétével nem sikerült kimutatnunk releváns, megalapozott összefüggést.

## **Lobuláris fibrosis**

Ugyancsak egy korábbi publikációinkban [117] elsőként számoltunk be a KNYMB mintákban előforduló lobuláris fibrosis és egyes autoimmun betegségek valamint autoantitestek kapcsolatáról. A korábbi vizsgálatunkhoz hasonlóan pozitív korrelációt találtunk a KNYMB előforduló lobuláris fibrosis és spRA diagnózis között.(4. táblázat) Autoantitestek közül az anti-CCP, RF IgA és IgG antitestekkel (6. táblázat) igazoltuk a jelenség kapcsolatát. Továbbá erős közel lineáris összefüggést figyelhettünk meg a collagen szaporulat növekedése és a mucintartalom csökkenése között.(1. táblázat) Öt év anyagát feldolgozva azonban néhány különbség is megfigyelhető a cikkben közölt és a jelenlegi adataink között: a fibrosis mértéke nem mutatott szignifikáns korrelációt az életkorral, de fibrosis pozitív csoportban továbbra is szignifikánsan magasabb volt az átlagéletkor. A jelenség és az RF IgM kapcsolata, mely cikkünkben is gyengébbnek mutatkozott az RF IgA és IgG antitestekkel szemben, a nagyobb anyagon már nem mutatkozott szignifikánsnak. Az RF IgM, mint korai gyulladásos válaszreakcióban a plasmasejtek által elsőként termelt antitest osztály érhetően kevésbé korrelál a lobuláris fibrosissal, mely utóbbit krónikus reakciónak tartjuk. Az IgA és IgG antitestek termelése viszont már csoportváltáshoz kötött, a gyulladások későbbi periódusában jelentkező ellenanyagok révén szorosabb korrelációt mutattak a fibrosis megjelenésével.(6. táblázat) RF IgA pozitív esetekben a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok közül a lobuláris fibrosist tartalmazó esetek a vártnál szignifikánsan gyakrabban fordultak elő.(17. táblázat) Ezzel szemben RF IgG antitest esetén ezen összefüggés már nem állt fenn. Mindezek arra engednek következtetni, hogy a spRA-os esetek közül is elsősorban az anti-CCP pozitív csoportban számíthatunk fibrosisra mivel utóbbi autoantitest pozitívítás minden elvégzett statisztikai elemzésben szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a lobuláris fibrosis megjelenésével.(5., 6., 15. táblázatok) Az a tény, hogy a snRA és a lobuláris fibrosis között nem találtunk kapcsolatot támogatja azt a megalapozottnak tűnő feltevést, mely szerint a spRA és snRA nem csak laborparaméterek szintjén, de klinikai és patogenezis tekintetében is két eltérő betegség lehet.

## Összefoglalás

Eredményeinket összefoglalva elmondható, hogy a zsíros infiltráció mind megjelenésében mind mértékében pozitívan korrelál mind az életkorral mind az elhízással (BMI), míg a fibrosis megjelenésére KNYMB elsősorban spRA és overlap szindrómái valamint ritkábban SS diagnózisa mellett számíthatunk, autoantitestek tekintetében pedig anti-CCP pozitivitás mellett láthattuk leggyakrabban. A KNYMB mintavétel fő indikációja a páciensek sicca panasza. Ezért mindenképp fontos fókusz formáló gyulladással infiltrátum hiányában is megemlíteni a fibrosis illetve a zsíros infiltráció jelenlétét a patológiai leletben, hiszen ezen hisztológiai elváltozások (sok más mellett) szintén befolyásolhatják a mirigyek nyáltermelését, utalhatnak szisztémás autoimmun betegség meglétére, így értékes háttér információt biztosítanak a klinikusok számára. Patológiai szempontból szintén fontos lehet, hogy míg a fókusz formáló gyulladás és a fibrosis a fennálló autoimmun betegség manifesztációja, addig a zsíros infiltráció elsősorban az öregedés és az elhízás következménye. A fibrosis hisztológiai jelensége elég gyakori, de kialakulásának patomechanizmusa még részleteiben nem ismert. Egyes betegségek, melyek fokozott collagen felhalmozódással járnak (SSc, máj cirrhosis, cystas fibrosis) jó modellt és kutatási lehetőséget biztosítanak a jelenség során aktiválódó jelátviteli utak, cytokin és miRNS profilok vizsgálatára. A spRA kapcsán látott gyakori lobuláris fibrosis háttere sem ismert, kérdéses a kapcsolata a betegség egyéb manifesztációival: ízületi és tüdő érintettséggel és a betegségre kapott gyógyszeres kezeléssel. Mind a fibrosis patomechanizmusának megértéséhez mind a jelenség és a klinikum kapcsolatának vizsgálatához további kutatásokra van szükség.

## Új eredmények

1. Elsőként alkalmaztuk KNYMB mintákban az APS festés és digitális képanalízis kombinációját a mucin tartalom (működő parenchyma) és a kötőszövet mennyiségének (fibrosis) együttes mérésére.
2. Ugyancsak elsőként használtunk objektív képanalizáló módszert a KNYMB mintákban megfigyelhető zsíros infiltráció mennyiségi analízisére is.
3. Bizonyítottuk, hogy mind a zsíros infiltráció jelenléte mind a mértéke korrelál nemcsak az öregedéssel, de az elhízással is.
4. Igazoltuk a logikus, ám korábban nem bizonyított szoros negatív korrelációt a fibrosis mértéke és az acinaris hám megtartottság között.
5. Először írtuk le a KNYMB-ban megfigyelt lobuláris fibrosis kapcsolatát a spRA-el, továbbá statisztikailag bizonyítottuk kapcsolatát SS-val és overlap betegségekkel nagyobb esetszámon.
6. A klinikai diagnózisok mellett az egyes hisztopathológiai elváltozások objektív laborparaméterekkel (autoantitestek) való összefüggését is vizsgáltuk, melynek eredményeként elsőként írtuk le a lobuláris fibrosis szoros kapcsolatát az anti-CCP pozitivitással.
7. Megfigyeléseinkkel erősítettük azt az elképzelést, miszerint a spRA és snRA patogenezisükben és klinikai prezentációjukban is eltérő entitások.

## **Közlemények jegyzéke**

### **Az értekezés témájában megjelent publikációk:**

**Katona K**, Elekes E, Farkas N, Kneif M, Sütő G, Tornóczky T. Image analysis of fatty infiltration in labial salivary gland biopsies: extent and its correlation to age, obesity and diabetes. J Oral Pathol Med. 2017 Aug;46(7):537-542. doi: 10.1111/jop.12512. Epub 2016 Oct 31. PubMed PMID: 27732739. IF: 2,043

**Katona K**, Farkas N, Sütő G, Tornóczky T. Adipose tissue infiltration in minor salivary glands of patients with Sjögren's syndrome: Lack of significant correlation with the disease. An image analysis of 174 cases. Autoimmunity.2017 Jun;50(4):199-201. doi: 10.1080/08916934.2017.1316381. Epub 2017 Apr 23. PubMed PMID: 28434265. IF: 2,629

**Katona K**, Farkas N, Kneif M, Sütő G, Berki T, Balatonyi B, Tornóczky T. Image analysis of fibrosis in labial salivary glands of patients with systemic autoimmune diseases. Close correlation of lobular fibrosis to seropositive rheumatoid arthritis and increased anti-CCP and RF titers in the serum. Pathology, available online 4 May 2018, ISSN 0031-3025, <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.12.339>. IF: 2,709

### **Az értekezés témáján kívüli publikációk:**

Tóth E, Tornóczky T, Kneif J, Perkecz A, **Katona K**, Piski Z, Kemény Á, Gerlinger I, Szolcsányi J, Kun J, Pintér E. Upregulation of extraneuronal TRPV1 expression in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Rhinology. 2018 Feb 24. doi: 10.4193/Rhin17.108. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 29476616. IF: 2.350

### **Témában tartott előadások**

72. Patológus Kongresszus, 2015.09.24-26 Hajdúszoboszló, Előadás "Kisnyálmirigy hisztopatológiai elváltozások szisztémás autoimmun betegségekben"

Fiatal Patológusok Találkozója Budapest, 2016. október 14–15. „A kisnyálmirigyekben előforduló zsíros infiltráció vizsgálata számítógépes image analysis-el: a jelenség kiterjedése és kapcsolata az életkorral és elhízással”

## Irodalomjegyzék

- 1 Holsinger FC, Bui DT. Anatomy, Function, and Evaluation of the Salivary Glands. In: *Salivary Gland Disorders*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg 2007. 1–16. doi:10.1007/978-3-540-47072-4\_1
- 2 Hand a R, Pathmanathan D, Field RB. Morphological features of the minor salivary glands. *Arch Oral Biol* 1999;**44 Suppl 1**:S3–10.
- 3 Ferguson DB. The flow rate and composition of human labial gland saliva. *Arch Oral Biol* 1999;**44**:11–4. doi:10.1016/S0003-9969(99)90004-3
- 4 Moro I, Umemura S, Crago SS, *et al.* Immunohistochemical distribution of immunoglobulins, lactoferrin, and lysozyme in human minor salivary glands. *J Oral Pathol* 1984;**13**:97–104.
- 5 Daniels TE. Labial salivary gland biopsy in Sjögren’s syndrome. Assessment as a diagnostic criterion in 362 suspected cases. *Arthritis Rheum* 1984;**27**:147–56. doi:10.1002/art.1780270205
- 6 Tandler B, Denning CR, Mandel ID, *et al.* Ultrastructure of human labial salivary glands. III. Myoepithelium and ducts. *J Morphol* 1970;**130**:227–45. doi:10.1002/jmor.1051300208
- 7 Tandler B, Denning CR, Mandel ID, *et al.* Ultrastructure of human labial salivary glands. I. Acinar secretory cells. *J Morphol* 1969;**127**:383–407. doi:10.1002/jmor.1051270402
- 8 Tandler B, Denning CR, Mandel ID, *et al.* Uhrastructure of Human Labial Salivary Glands II. Intranuclear Inclusions in the Acinar Secretory Cells. *Zeitschrift für Zellforsch und Mikroskopische Anat* 1969;**94**:555–64. doi:10.1007/BF00936061
- 9 Karsdal M. *Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin: Structure, Function and Biomarkers*. 2016.
- 10 Nesan VJ, Jacoway JR, Luttman RJ, *et al.* Biopsy of Minor Salivary Glands in the Diagnosis of Sarcoidosis. *N Engl J Med* 1979;**301**:922–4. doi:10.1056/NEJM197910253011705

- 11 Tannenbaum H, Anderson LG. Diagnosis of sarcoidosis by lip biopsy of minor salivary glands. *Can Med Assoc J* 1974;**111**:1974–5.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1955993/>
- 12 Hachulla E, Janin A, Flipo RM, *et al.* Labial salivary gland biopsy is a reliable test for the diagnosis of primary and secondary amyloidosis. a prospective clinical and immunohistologic study in 59 patients. *Arthritis Rheum* 1993;**36**:691–7. doi:10.1002/art.1780360518
- 13 Foli A, Palladini G, Caporali R, *et al.* The role of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of systemic amyloidosis: Results of a prospective study in 62 patients. *Amyloid* 2011;**18 Suppl 1**:80–2.  
doi:<http://dx.doi.org/10.3109/13506129.2011.574354>
- 14 Mercan R, Bitik B, Tezcan ME, *et al.* Minimally invasive minor salivary gland biopsy for the diagnosis of amyloidosis in a rheumatology clinic. *ISRN Rheumatol* 2014;**2014**:354648. doi:10.1155/2014/354648
- 15 Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren’s disease. *J Clin Pathol* 1968;**21**:656–60. doi:10.1007/s00292-006-0869-3
- 16 Caporali R, Bonacci E, Epis O, *et al.* Safety and Usefulness of Minor Salivary Gland Biopsy : Retrospective Analysis of 502 Procedures Performed at a Single Center. 2008;**59**:714–20. doi:10.1002/art.23579
- 17 Guellec D, Cornec D, Jousse-joulin S, *et al.* Autoimmunity Reviews Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren ’ s syndrome : A systematic review. *Autoimmun Rev* 2013;**12**:416–20.  
doi:10.1016/j.autrev.2012.08.001
- 18 Wicheta S, Van der Groen T, Faquin WC, *et al.* Minor salivary gland biopsy-an important contributor to the diagnosis of Sjögren’s syndrome. *J Oral Maxillofac Surg* 2017;:1–6. doi:10.1016/j.joms.2017.05.021
- 19 Giovelli RA, Santos MCS, Serrano E V, *et al.* Clinical characteristics and biopsy accuracy in suspected cases of Sjogren’s syndrome referred to labial salivary gland biopsy. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;**16**:30. doi:10.1186/s12891-015-0482-9

- 20 Seoane J, Varela-centelles PI, Surg DO. Head and Neck and Plastic Surgery A Targeted Problem and Its Solution Use of Chalazion Forceps to Ease Biopsy of Minor Salivary Glands. 2000;:486–7.
- 21 Peloro TM, Ramsey ML, Marks VJ. Surgical Pearl: ?X? marks the spot for the salivary gland biopsy. *J Am Acad Dermatol* 2001;**45**:122–3. doi:10.1067/mjd.2001.112924
- 22 Teppo H, Revonta M. A follow-up study of minimally invasive lip biopsy in the diagnosis of Sjögren ’ s syndrome. 2007;:1099–103. doi:10.1007/s10067-006-0457-1
- 23 Colella G, Cannavale R, Vicidomini A, *et al.* Salivary gland biopsy: a comprehensive review of techniques and related complications. *Rheumatology* 2010;**49**:2117–21. doi:10.1093/rheumatology/keq225
- 24 Varela-Centelles P, Sanchez-Sanchez M, Seoane J. Lip biopsy for the diagnosis of Sjögren ’ s syndrome: beware of the punch. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;**43**:127–30. doi:10.1016/j.ijom.2013.05.014
- 25 Greenspan JS, Daniels TE, Talal N, *et al.* The histopathology of Sjögren ’ s syndrome in labial salivary gland biopsies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;**37**:217–29. doi:10.1016/B978-1-4557-0262-6.00008-2
- 26 Friedman H, Kilmar V, Galletta VP, *et al.* Lip biopsy in connective tissue diseases. A review and study of seventy cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979;**47**:256–62. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/84370>
- 27 Badalà F, Nouri-mahdavi K, Raouf DA. NIH Public Access. *Computer (Long Beach Calif)* 2008;**144**:724–32. doi:10.1038/jid.2014.371
- 28 Goules A V., Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Classification criteria of Sjögren ’ s syndrome. *J Autoimmun* 2014;**48–49**:42–5. doi:10.1016/j.jaut.2014.01.013
- 29 Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, *et al.* 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Classification Criteria for Primary Sjögren ’ s Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology



- Involving Three International Patient Cohorts. *Arthritis Rheumatol* 2016;**00**. doi:10.1002/art.39859
- 30 Chisholm DM, Waterhouse JP, Mason DK. Lymphocytic sialadenitis in the major and minor glands: a correlation in postmortem subjects. *J clin Pathol* 1970;**23**:690–4.
- 31 Tarpley TM, Anderson LG, White CL. Minor salivary gland involvement in Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974;**37**:64–74. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4586901>
- 32 Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun* 2010;**34**:400–7. doi:10.1016/j.jaut.2009.10.004
- 33 Llamas-Gutierrez FJ, Reyes E, Martínez B, *et al*. Histopathological environment besides the focus score in Sjögren's syndrome. *Int J Rheum Dis* 2014;**17**:898–903. doi:10.1111/1756-185X.12502
- 34 Egerer T, Martinez-Gamboa L, Dankof A, *et al*. Tissue-specific up-regulation of the proteasome subunit  $\beta 5i$  (LMP7) in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2006;**54**:1501–8. doi:10.1002/art.21782
- 35 Bodeutsch C, De Wilde PCM, Kater L, *et al*. Quantitative immunohistologic criteria are superior to the lymphocytic focus score criterion for the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1992;**35**:1075–87. doi:10.1002/art.1780350913
- 36 Godwin JT. Benign lymphoepithelial lesion of the parotid gland adenolymphoma, chronic inflammation, lymphoepithelioma, lymphocytic tumor, Mikulicz disease. *Cancer* 1952;**5**:1089–103. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12998015>
- 37 Morgan WS, Castleman B. A clinicopathologic study of Mikulicz's disease. *Am J Pathol* 1953;**29**:471–503. [papers://dc12e439-abca-4d46-9c38-5ea12b56e852/Paper/p14015](https://doi.org/10.1093/ajp/29.4.471)
- 38 Skopouli FN, Li L, Boumba D, *et al*. Association of mast cells with fibrosis and

- fatty infiltration in the minor salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1998;**16**:63–  
5.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9543564>
- 39 Sørensen CE, Larsen JO, Reibel J, *et al.* Associations between xerostomia, histopathological alterations, and autonomic innervation of labial salivary glands in men in late midlife. *Exp Gerontol* 2014;**57**:211–7.  
[doi:10.1016/j.exger.2014.06.004](https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.06.004)
- 40 Ubara Y, Hara S, Kobayasi M, *et al.* A case of Chinese herbs–induced renal interstitial fibrosis associated with fibrosis of salivary glands. *Am J Kidney Dis* 1999;**33**:e6.1–e6.5. [doi:10.1016/S0272-6386\(99\)70210-6](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(99)70210-6)
- 41 Chisholm DM. Minor salivary gland pathology in Sjögren's Syndrome and rheumatoid arthritis. *Proc Int Acad Oral Pathol* 1969;**40–56**:44–  
56.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5284737>
- 42 De Wilde PC, Baak JP, van Houwelingen JC, *et al.* Morphometric study of histological changes in sublabial salivary glands due to aging process. *J Clin Pathol* 1986;**39**:406–17. [doi:10.1136/jcp.39.4.406](https://doi.org/10.1136/jcp.39.4.406)
- 43 Drummond JR, Chisholm DM. A qualitative and quantitative study of the ageing human labial salivary glands. *Arch Oral Biol* 1984;**29**:151–  
5.[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&opt=Citation&list\\_uids=6586119](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&opt=Citation&list_uids=6586119)
- 44 Markkanen SO, Syrjänen SM, Lappalainen R, *et al.* Assessment of labial salivary gland changes in patients with rheumatoid arthritis by subjective and quantitative methods. *Appl Pathol* 1989;**7**:233–  
40.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2803785>
- 45 Vered M, Buchner A, Boldon P, *et al.* Age-related histomorphometric changes in labial salivary glands with special reference to the Acinar component. *Exp Gerontol* 2000;**35**:1075–84. [doi:10.1016/S0531-5565\(00\)00129-7](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(00)00129-7)
- 46 Dinescu Ş-C, Forţofoiu M-C, Bumbea A-M, *et al.* Histopathological and immunohistochemical profile in primary Sjögren's syndrome. *Rom J Morphol Embryol* 2017;**58**:409–

17. <http://www.rjme.ro/RJME/resources/files/580217409417.pdf>
- 47 Nakamura H, Kawakami A, Hayashi T, *et al.* Anti-centromere antibody-seropositive Sjögren's syndrome differs from conventional subgroup in clinical and pathological study. *BMC Musculoskelet Disord* 2010;**11**. doi:10.1186/1471-2474-11-140
- 48 Segerberg-Konttinen M. Focal adenitis in lacrimal and salivary glands. A post-mortem study. *Scand J Rheumatol* 1988;**17**:379–85. doi:10.3109/03009748809105274
- 49 Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;**8**:221–33. doi:10.1038/nrm2125.Matrix
- 50 Wick G, Backovic A, Rabensteiner E, *et al.* Europe PMC Funders Group The immunology of fibrosis : innate and adaptive responses. 2012;**31**:110–9. doi:10.1016/j.it.2009.12.001.The
- 51 Wick G, Grundtman C, Mayerl C, *et al.* *The Immunology of Fibrosis*. 2013. doi:doi:10.1146/annurev-immunol-032712-095937
- 52 Wynn T a. Mechanism of fibrosis: therapeutic transplation for fibrotic disease. *Nat Med* 2013;**18**:1028–40. doi:10.1038/nm.2807.Mechanisms
- 53 Skarstein K, Aqrawi, Lara A. Gunnvor Øijordsbakken, Roland Jonsson JJJ. Adipose tissue is prominent in salivary glands of sjogren's syndrome patients and appears to influence the autoimmune microenvironment in these organs. *Autoimmunity* 2016;**May 20** [Ep:1–9. doi:<http://dx.doi.org/10.1002/art.38914>
- 54 Godinez-Valdez VH, Cázares-Campos I, Aranda-Fraustro A, *et al.* Cardiac rupture in a patient with an acute myocardial infarction and extensive fatty infiltration of the heart ('adipositas cordis'). *Int J Cardiol* 2012;**154**:e62–4. doi:10.1016/j.ijcard.2011.06.060
- 55 Isserow JA, Siegelman ES, Mammone J. Focal fatty infiltration of the pancreas: MR characterization with chemical shift imaging. *AJR Am J Roentgenol* 1999;**173**:1263–5. doi:10.2214/ajr.173.5.10541101

- 56 Yang DM, Kim HC, Ryu JK, *et al.* Sonographic appearance of focal fatty infiltration of the pancreas. *J Clin Ultrasound* 2010;**38**:45–7.  
doi:10.1002/jcu.20632
- 57 Kikuchi M, Inagaki T, Ogawa K, *et al.* Histopathological investigation of salivary glands in the asymptomatic elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2004;**38**:131–8. doi:10.1016/j.archger.2003.08.008
- 58 Zeher M, Szegedi G. Types of autoimmune disorders. Classification. *Orv Hetil* 2007;**148 Suppl**:21–4. doi:10.1556/OH.2007.28030
- 59 Simmonds M, Gough S. The HLA Region and Autoimmune Disease: Associations and Mechanisms of Action. *Curr Genomics* 2007;**8**:453–65.  
doi:10.2174/138920207783591690
- 60 Hartstein P, Machado R. Review article Influence of genetic polymorphisms ( IL-10 / CXCL8 / CXCR2 / NF  $\kappa$  B ) on the susceptibility of autoimmune rheumatic diseases. *Rev Bras Ortop (English Ed)* 2014;**54**:301–10.  
doi:10.1016/j.rbre.2013.10.005
- 61 Pender MP. Infection of autoreactive B lymphocytes with EBV, causing chronic autoimmune diseases. *Trends Immunol* 2003;**24**:584–8.  
doi:10.1016/j.it.2003.09.005
- 62 Shamriz O, Mizrahi H, Werbner M, *et al.* Microbiota at the crossroads of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2016;**15**:859–69.  
doi:10.1016/j.autrev.2016.07.012
- 63 Perricone C, Versini M, Ben-Ami D, *et al.* Smoke and autoimmunity: The fire behind the disease. *Autoimmun Rev* 2016;**15**:354–74.  
doi:10.1016/j.autrev.2016.01.001
- 64 Manzel A, Muller DN, Hafler DA, *et al.* Role of ‘Western Diet’ in Inflammatory Autoimmune Diseases. *Curr Allergy Asthma Rep* 2014;**14**:404.  
doi:10.1007/s11882-013-0404-6
- 65 Davidson A, Diamond B. General Features of Autoimmune Disease. In: Rose NR, Mackay IR, eds. *The Autoimmune Diseases*. Elsevier 2006. 25–36.

doi:10.1016/B978-012595961-2/50006-8

- 66 Daha NA, Toes REM. Rheumatoid arthritis: Are ACPA-positive and ACPA-negative RA the same disease? *Nat Rev Rheumatol* 2011;**7**:202–3.  
doi:10.1038/nrrheum.2011.28
- 67 Han B, Diogo D, Eyre S, *et al.* Fine mapping seronegative and seropositive rheumatoid arthritis to shared and distinct HLA alleles by adjusting for the effects of heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2014;**94**:522–32.  
doi:10.1016/j.ajhg.2014.02.013
- 68 van der Helm-van Mil AHM, Huizinga TWJ. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. *Arthritis Res Ther* 2008;**10**:205. doi:10.1186/ar2384
- 69 Seegobin SD, Ma MH, Dahanayake C, *et al.* ACPA-positive and ACPA-negative rheumatoid arthritis differ in their requirements for combination DMARDs and corticosteroids: secondary analysis of a randomized controlled trial. *Arthritis Res Ther* 2014;**16**:R13. doi:10.1186/ar4439
- 70 Sutton B, Corper A, Bonagura V, *et al.* The structure and origin of rheumatoid factors. 2000;:177–83.
- 71 Schellekens GA, Visser H, Jong BENA WDE, *et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. 2000;**43**:155–63.
- 72 Korkmaz C, Us T, Kaşifoğlu T, *et al.* Anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies in patients with long-standing rheumatoid arthritis and their relationship with extra-articular manifestations. *Clin Biochem* 2006;**39**:961–5.  
doi:10.1016/j.clinbiochem.2006.06.004
- 73 Quigley M, Hansell DM. Rheumatoid Arthritis. In: *Imaging of the Chest*. Elsevier Inc. 2008. 745–58. doi:10.1016/B978-1-4160-4048-4.50049-0
- 74 Shaw M, Collins BF, Ho LA, *et al.* Rheumatoid arthritis-associated lung disease. *Eur Respir Rev* 2015;**24**:1–16. doi:10.1183/09059180.00008014
- 75 Zalewska A, Knaś M, Waszkiewicz N, *et al.* Rheumatoid arthritis patients with

- xerostomia have reduced production of key salivary constituents. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013;**115**:483–90. doi:10.1016/j.oooo.2012.10.013
- 76 Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT, *et al.* The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;**37**:481–94. doi:10.1002/art.1780370408
- 77 Molina E, del Rincon I, Restrepo JF, *et al.* Mortality in Rheumatoid Arthritis (RA): factors associated with recording RA on death certificates. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;**16**:277. doi:10.1186/s12891-015-0727-7
- 78 Pereira KMC, Dellavance A, Andrade LEC. The challenge of identification of autoantibodies specific to systemic autoimmune rheumatic diseases in high throughput operation: Proposal of reliable and feasible strategies. *Clin Chim Acta* 2014;**437**:203–10. doi:10.1016/j.cca.2014.07.031
- 79 Conigliaro P, Chimenti MS, Triggianese P, *et al.* Autoantibodies in inflammatory arthritis. *Autoimmun Rev* 2016;**15**:673–83. doi:10.1016/j.autrev.2016.03.003
- 80 Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, *et al.* 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010;**62**:2569–81. doi:10.1002/art.27584
- 81 Herold G, editor. *Belgyógy.pdf*. In: *Belgyógyászat*. Budapest: : Medicina Könyvkiadó ZRT. 2009. 1484.
- 82 Black CM, Matucci-Cerinic M, Guillevin L. Progress in systemic sclerosis: a 10-year perspective. *Rheumatology* 2006;**48**:iii1–iii2. doi:10.1093/rheumatology/kep111
- 83 Strickland G, Pauling J, Cavill C, *et al.* Mortality in systemic sclerosis—a single centre study from the {UK}. *Clin Rheumatol* 2013;**33**:1533–9. doi:10.1007/s10067-013-2289-0
- 84 Karassa FB, Ioannidis JPA. Mortality in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2008;**26**:131–7. doi:10.1097/BOR.0000000000000027
- 85 Denton CP, Black CM. Chapter 29 – Systemic Sclerosis, Scleroderma. In: *The Autoimmune Diseases*. Elsevier Inc. 2006. 369–79. doi:10.1016/B978-

012595961-2/50032-9

- 86 Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, *et al.* 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An american college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2013;**65**:2737–47. doi:10.1002/art.38098
- 87 Kang I, Craft J. Chapter 28 – Systemic Lupus Erythematosus: Immunologic Features. In: *The Autoimmune Diseases*. 28: : Elsevier Inc. 2006. 357–67. doi:10.1016/B978-012595961-2/50031-7
- 88 Cervera R, Khamashta MA, Font J, *et al.* Morbidity and Mortality in Systemic Lupus Erythematosus During a 10-Year Period. *Medicine (Baltimore)* 2003;**82**:299–308. doi:10.1097/01.md.0000091181.93122.55
- 89 Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;**40**:1725. doi:10.1002/1529-0131(199709)40:9<1725::AID-ART29>3.0.CO;2-Y
- 90 Fox RI. Sjögren’s syndrome. *Lancet* 2005;**366**:321–31. doi:10.1016/S0140-6736(05)66990-5
- 91 Routsias JG, Goules JD, Charalampakis G, *et al.* Malignant lymphoma in primary Sjögren’s syndrome: An update on the pathogenesis and treatment. *Semin Arthritis Rheum* 2013;**43**:178–86. doi:10.1016/j.semarthrit.2013.04.004
- 92 Yachoui R, Leon C, Sitwala K, *et al.* Pulmonary MALT Lymphoma in Patients with Sjogren ’ s Syndrome. Published Online First: 2017. doi:10.3121/cmr.2071.1341
- 93 Ihrler S, Baretton GB, Menauer F, *et al.* Sjögren’s syndrome and MALT lymphomas of salivary glands: a DNA-cytometric and interphase-cytogenetic study. *Mod Pathol* 2000;**13**:4–12. doi:10.1038/modpathol.3880002
- 94 Moutsopoulos HM. Sjögren’s syndrome: A forty-year scientific journey. *J Autoimmun* 2014;**51**:1–9. doi:10.1016/j.jaut.2014.01.001
- 95 Bowman SJ. Sjögren’s syndrome. *Medicine (Baltimore)* 2010;**38**:105–8.

doi:10.1016/j.mpmed.2009.10.011

- 96 Tzioufas AG, Voulgarelis M. Update on Sjögren's syndrome autoimmune epithelitis: from classification to increased neoplasias. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2007;**21**:989–1010. doi:10.1016/j.berh.2007.09.001
- 97 Manoussakis MN, Moutsopoulos HM. Chapter 31 – Sjögren Syndrome. In: *The Autoimmune Diseases*. Elsevier Inc. 2006. 401–16. doi:10.1016/B978-012595961-2/50034-2
- 98 Vitali C. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002;**61**:554–8. doi:10.1136/ard.61.6.554
- 99 Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, *et al.* Assessment of the European classification criteria for Sjögren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. The European Study Group on Diagnostic Criteria for Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 1996;**55**:116–21. doi:10.1136/ard.55.2.116
- 100 Morbini P, Manzo A, Caporali R, *et al.* Research article Multilevel examination of minor salivary gland biopsy for Sjögren ' s syndrome significantly improves diagnostic performance of AECG classification criteria. 2005;**7**:343–8. doi:10.1186/ar1486
- 101 Gomes P de S, Juodzbaly G, Fernandes MH, *et al.* Diagnostic Approaches to Sjögren's Syndrome: a Literature Review and Own Clinical Experience. *J Oral Maxillofac Res* 2012;**3**:1–13. doi:10.5037/jomr.2012.3103
- 102 Jury EC, D'Cruz D, Morrow WJ. Autoantibodies and overlap syndromes in autoimmune rheumatic disease. *J Clin Pathol* 2001;**54** VN-r:340–7. doi:10.1136/jcp.54.5.340
- 103 Gunnarsson R, Hetlevik SO, Lilleby V, *et al.* Mixed connective tissue disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2016;**30**:95–111. doi:10.1016/j.berh.2016.03.002
- 104 Mosca M, Tani C, Vagnani S, *et al.* The diagnosis and classification of undifferentiated connective tissue diseases. *J Autoimmun* 2014;**48–49**:50–2.



- doi:10.1016/j.jaut.2014.01.019
- 105 Lockshin MD, Levine AB, Erkan D. Patients with overlap autoimmune disease differ from those with ‘pure’ disease. *Lupus Sci Med* 2015;**2**:e000084.  
doi:10.1136/lupus-2015-000084
- 106 Robert W. Hoffman. Overlap Syndromes. In: Lahita RG, ed. *Systemic Lupus Erythematosus*. San Diego: 2004. 717–  
44.<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124339019500272>
- 107 Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Font J. The Overlap of Sjögren’s Syndrome with Other Systemic Autoimmune Diseases. *Semin Arthritis Rheum* 2007;**36**:246–55. doi:10.1016/j.semarthrit.2006.08.007
- 108 Fritzler MJ, Wiik A. Chapter 72 – Autoantibody Assays, Testing, and Standardization. In: *The Autoimmune Diseases*. Elsevier Inc. 2006. 1011–22.  
doi:10.1016/B978-012595961-2/50075-5
- 109 Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, *et al.* Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2010;**9**:431–5.  
doi:10.1016/j.autrev.2009.11.017
- 110 Watts RA. Autoantibodies in the autoimmune rheumatic diseases. *Med (United Kingdom)* 2014;**42**:121–5. doi:10.1016/j.mpm.2013.12.012
- 111 Aggarwal A. Role of autoantibody testing. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2014;**28**:907–20. doi:10.1016/j.berh.2015.04.010
- 112 Fragoulis GE, Fragkioudaki S, Reilly JH, *et al.* Analysis of the cell populations composing the mononuclear cell infiltrates in the labial minor salivary glands from patients with rheumatoid arthritis and sicca syndrome. *J Autoimmun* 2016;**73**:85–91. doi:10.1016/j.jaut.2016.06.008
- 113 Katona K, Elekes E, Farkas N, *et al.* Image analysis of fatty infiltration in labial salivary gland biopsies: extent and its correlation to age, obesity and diabetes. *J Oral Pathol Med* Published Online First: 2016. doi:10.1111/jop.12512
- 114 Katona K, Farkas N, Sütő G, *et al.* Adipose tissue infiltration in minor salivary glands of patients with Sjögren’s syndrome: Lack of significant correlation with

- the disease. An image analysis of 174 cases. *Autoimmunity* 2017;**00000**:1–3. doi:10.1080/08916934.2017.1316381
- 115 Leehan KM, Pezant NP, Rasmussen A, *et al.* Fatty infiltration of the minor salivary glands is a selective feature of aging but not Sjögren’s syndrome. *Autoimmunity* 2017;**50**:451–7. doi:10.1080/08916934.2017.1385776
- 116 Leehan KM, Pezant NP, Rasmussen A, *et al.* Minor salivary gland fibrosis in Sjogren’s syndrome is elevated, associated with focus score and not solely a consequence of aging. *Clin Exp Rheumatol* 2017.
- 117 Katona K, Farkas N, Kneif M, *et al.* Image analysis of fibrosis in labial salivary glands of patients with systemic autoimmune diseases. Close correlation of lobular fibrosis to seropositive rheumatoid arthritis and increased anti-CCP and RF titres in the serum. *Pathology* 2018;:1–8. doi:10.1016/j.pathol.2017.12.339
- 118 WHO. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 1995;**854**:1–452. doi:854

## **Köszönetnyilvánítás**

Köszönettel tartozom elsősorban témavezetőmnek Dr. Tornóczki Tamásnak a témérdek segítségével, jó tanácsért, és a türelemmel rám fordított bőséges időért a Pathologiai Intézetben megkezdett TDK munkám óta eltelt 5 évben.

Munkám során az intézet több dolgozójától kaptam jó tanácsokat és szakmai javaslatokat. Kiemelném a festőlabor és az indító dolgozóit és külön köszönetet szeretnék mondani Kneif Józsefnének („Marikának”), Pék Zsuzsannának („Zsuzsinak”) és Szilágyi Imrénének („Jucinak”) akik megtanítottak szövettani metszeteket készíteni, és segítettek az APS festés adaptálásában.

Ugyancsak hálás köszönettel tartozom Farkas Nellinek aki a statisztikai analízisben nyújtott nélkülözhetetlen segítséget, témérdek magyarázattal és rengeteg rám fordított idővel támogatott.

Az autoimmun betegségek klinikai újraértékelésében nyújtott segítségükért köszönetet szeretnék mondani Prof. Dr. Sütő Gábornak és Dr. Tuba Évának.

Az autoantitest szerológia értékelésében nyújtott tanácsaiért ugyancsak köszönettel tartozom Prof. Dr. Berki Tímeának.

Köszönetemet szeretném továbbá kifejezni a Pathologiai Intézet és a Gyermekfogászati Osztály minden dolgozójának, türelmükért és támogatásukért.

Támogatást nyújtott a PhD dolgozatom elkészítéséhez továbbá az **EFOP-3.6.1-16-2016-00004** projektje és a **Romhányi György Szakkollégium**.

## Függelék

<b>ANA</b>	Genesis	GD74		IgA	Orgentec	ORG 522A	
<b>anti-CenpB</b>	Orgentec	ORG 633	<b>RF</b>	IgM		ORG 522M	
<b>anti-dsDNS</b>		ORG 604		IgG		ORG 522G	
<b>Nucleosome</b>		ORG 204		<b>ANCA</b>			ORG 689
		ORG 528	<b>MPO</b>			Org 219	
<b>ENA</b>	Hycor	FGA 14	<b>PR3</b>			ORG 618	
<i>ANTI-SS-A</i>		FGA 38		<b>Cardiolipin</b>		$\Sigma$	ORG 318
<i>ANTI-SS-B</i>			<b><math>\beta</math>2GP</b>			IgG	ORG 515 S
<i>SM</i>						IgM	ORG 215G
<i>RNP</i>			$\Sigma$			ORG 215M	
<i>SCL-70</i>			IgG		ORG 521S		
<i>Jo-1</i>			IgM		ORG 221G		
<b>CCP</b>		EuroDiagnostica	RA 96 Plus			IgM	ORG 221M

1. kiegészítő táblázat. Autoantitestek meghatározására használt ELISA kit-ek

Megnevezés		Adat	Limitáló tényező	N
nem		férfi-nő	nincs	576
életkor		egész évre kerekítve	nincs	576
BMI érték			testsúly-testmagasság adatok	343
BMI csoport		0-5 lásd. 3. táblázat	BMI adat	343
DM diagnózis		igen vagy nem	anamnézis/ vizsgálat hiánya, "DM nem ismert"	553
Hisztológia	Gyulladásos fókusz	van/nincs	nincs	576
	Fibrosis			576
	Zsíros infiltráció			576
	Hisztológiai csoport			576
	Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül	0-7: 0-negatív, 1-Gy önállóan, 2-F önállóan, 3-Zs önállóan, 4-Gy+F+Zs együttes jelenléte; 5- Gy+F, 6-Gy+Zs, 7-F+Zs	partialis/ focalis F vagy Zs jelenségek	490
	Acinaris hám megtartottság/mucin tartalom	%	csak F esetek, APS metszet, extenzív gyulladás	308
	collagen/kötőszövet tartalom		csak F esetek, APS metszet, extenzív gyulladás	308
	fehér terület/zsír tartalom		csak Zs+ esetek	357
Klinikai diagnózis	SS	van/nincs	páciens nyomonkövetés- klinikai követés hiánya, dg. kritériumrendszerek alapján be nem sorolható eset	555
	RA szero neg			555
	RA szero poz			555
	SLE			555
	SSc			555
	NDC			555
	egyéb szisztémás autoimmun betegség			555

	szisztémás autoimmun betegség	van/nincs megállapítható	555
	klinikai diagnózis csoportok	A-E : A-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, B-SS és SS overlap (RA nélkül), C-RA és RA overlap (SS nélkül), D-SS-RA overlap, E- egyéb	555
	klinikai dg. Csoport RA szerológia alapján	0-VII : 0-nincs azonosítható szisztémás autoimmun betegsége, I-SS és SS overlap (RA nélkül), II-snRA és overlap (SS nélkül), III-spRA és overlap, IV-SS-snRA overlap, V-SS-spRA overlap VI- egyéb	555
<b>Szerológia</b>	ANA	pozitív/negatív	<b>570</b>
	dsDNS		554
	anti-nucleosoma		519
	anti-ENA		554
	ΣRF		534
	RF-IgA		534
	RF-IgG		534
	RF-IgM		534
	anti-CCP		488
	ACA		449
	anti-ANTI-SS-A		549
	anti-ANTI-SS-B		549
		klinikus által kért panel, nem konzekvens AT pozitivitás	

anti-SM		548
anti-RNP		548
anti-SCL-70		550
anti-Jo-0		548
ANCA		447
anti-cardiolipin		530
anti-β2GP		529

2. kiegészítő táblázat. A statisztikai analízishez használt adatok, limitáló tényezők és esetszámok.

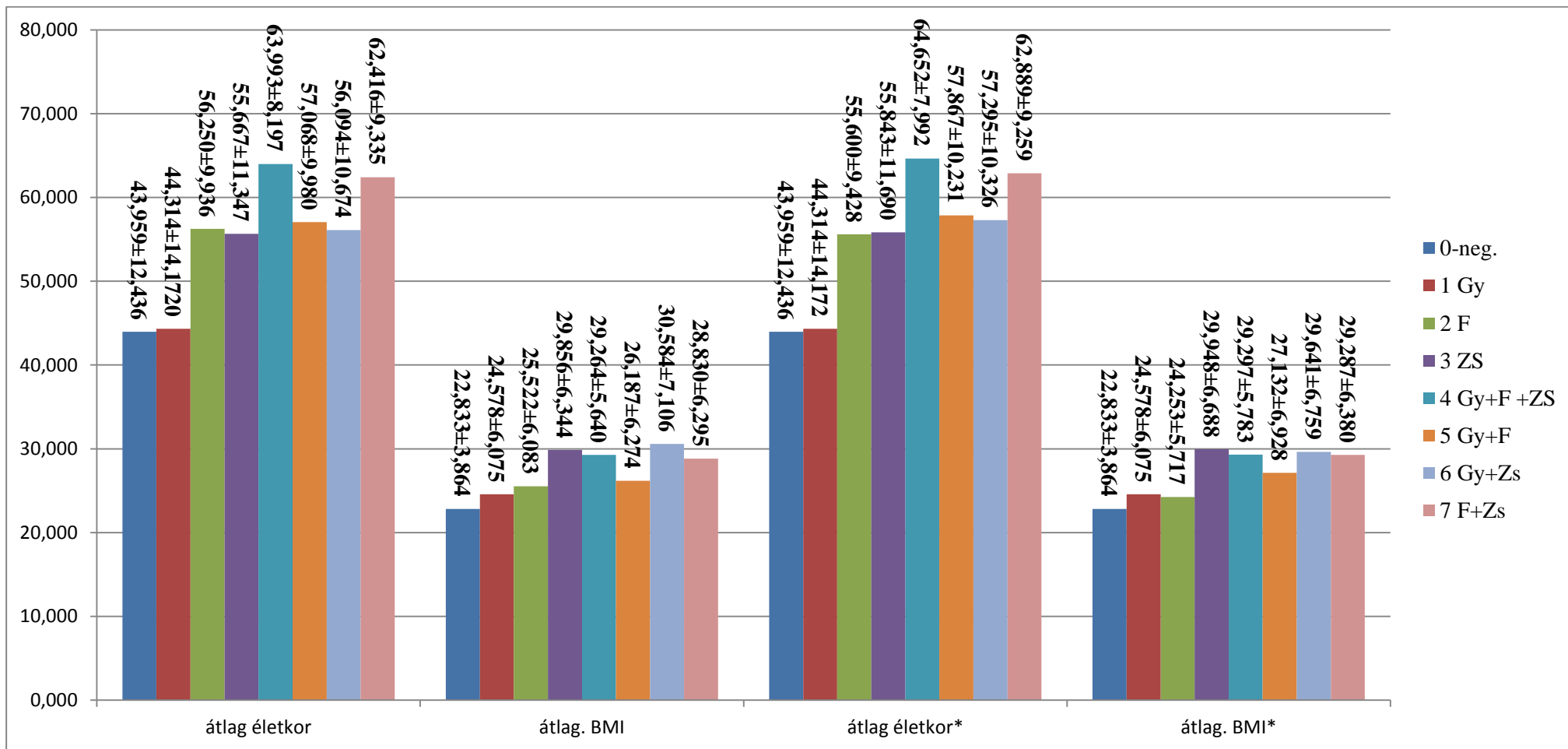
		Hisztológiai csoport								Σ
		0	1-Gy	2-F	3-Zs	4-Gy+F+Zs	5-Gy+F	6-Gy+Zs	7-F+Zs	
ANA	Negatív	79 (81,40%)	33 (66,00%)	20 (83,30%)	45 (83,30%)	112 (75,20%)	32 (72,70%)	34 (64,20%)	86 (86,90%)	441 (77,40%)
	Pozitív	18 (18,60%)	17 (34,00%)	4 (16,70%)	9 (16,70%)	37 (24,80%)	12 (27,30%)	19 (35,80%)	13 (13,10%)	129 (22,60%)
	Σ	97	50	24	54	149	44	53	99	570
anti-nucleo-szóma	Negatív	72 (77,40%)	29 (64,40%)	22 (91,70%)	43 (86,00%)	101 (75,40%)	27 (65,90%)	36 (73,50%)	68 (85,00%)	398 (77,10%)
	Pozitív	21 (22,60%)	16 (35,60%)	2 (8,30%)	7 (14,00%)	33 (24,60%)	14 (34,10%)	13 (26,50%)	12 (15,00%)	118 (22,90%)
	Σ	93	45	24	50	134	41	49	80	516
anti-ENA	Negatív	86 (90,50%)	35 (71,40%)	21 (87,50%)	49 (90,70%)	127 (87,60%)	32 (78,00%)	39 (76,50%)	89 (93,70%)	478 (86,30%)
	Pozitív	9 (9,50%)	14 (28,60%)	3 (12,50%)	5 (9,30%)	18 (12,40%)	9 (22,00%)	12 (23,50%)	6 (6,30%)	76 (13,70%)
	Σ	95	49	24	54	145	41	51	95	554
		<b>Hisztológiai csoportok partialis és focalis jelenségek nélkül</b>								
	Negatív	86 (90,50%)	35 (71,40%)	17 (85,00%)	46 (90,20%)	97 (88,20%)	21 (77,80%)	33 (78,60%)	72 (94,70%)	407 (86,60%)
	Pozitív	9 (9,50%)	14 (28,60%)	3 (15,00%)	5 (9,80%)	13 (11,80%)	6 (22,20%)	9 (21,40%)	4 (5,30%)	63 (13,40%)
Σ	95	49	20	51	110	27	42	76	470	

3. kiegészítő táblázat. Szignifikáns különbségek az egyes autoantitest pozitivitásokban a hisztológiai csoportok között



	Életkor							
	0-neg.	1-GY	2-F	3-Zs	4 Gy+F+Zs	5 Gy+F	6 Gy+Zs	7 F+Zs
0-neg.		p=1 *	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
1-GY	p=1*		p<0,001 p=0,002*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
2-F	p=1*	p=1 p=0,325*		p=1*	p=0,025 p=0,015*	p=1*	p=1*	p=0,287 p=0,187*
3-Zs	p<0,001*	p=0,009 p=0,010*	p=0,682 p=0,325*		p<0,001*	p=1*	p=1*	p=0,005 p=0,007*
4 Gy+F+Zs	p<0,001*	p=0,005 p=0,009*	p=0,942 p=0,507*	p=1*		p=0,004 p=0,059*	p<0,001 p=0,003*	p=1*
5 Gy+F	p=1 p=0,449*	p=1*	p=1*	p=0,573 p=1*	p=0,722 p=1*		p=1*	p=0,144 p=0,805*
6 Gy+Zs	p<0,001*	p=0,001 p=0,028*	p=0,242 p=0,509*	p=1*	p=1*	p=0,156 p=1*		p=0,012 p=0,155
7 F+Zs	p<0,001*	p=0,043 p=0,024*	p=1 p=0,618*	p=1*	p=1*	p=1*	p=1*	
	BMI							

4. kiegészítő táblázat. Szignifikancia értékek a hisztológiai és tiszta\* hisztológiai csoportok közötti átlag életkor és átlag BMI értékek összehasonlításakor. Cellánként két érték esetén a ‘\*’ jelölt p érték a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportokra vonatkozik, míg egy érték esetén a p érték nem tért el a hisztológiai és a partialis és focalis jelenségek nélküli hisztológiai csoportok statisztikai értékelésekben.



1. kiegészítő ábra. Az átlagéletkor és BMI értékek és szórások a histológiai és tisztá\* histológiai csoportokban

