

Циркулаторни имуни комплекси, имуноглобулин G, саливарни протеини и саливарни имуноглобулин A код болесника са Сјегреновим синдромом

Милош Хаџи-Михаиловић, Љиљана Јанковић, Саша Чакић

Клиника за пародонтологију и оралну медицину, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Сјегренов (*Sjögren*) синдром (СС) је хронична аутоимуна болест која настаје услед патолошких промена у егзокриним жлездама.

Циљ рада Циљ рада је био да се концентрације циркулаторних имуних комплекса (CIC) и имуноглобулина G (*IgG*) у серуму, као и саливарних протеина (*SP*) и саливарног *IgA* (*sIgA*) у пљувачки упореде међусобно и у односу на степен протока нестимулисаних пљувачке (*USFR*) и трајања болести.

Методе рада Истраживање је обухватило 40 болесника са СС. CIC је био одређен коришћењем раствора полиетиленгликола, а *IgG* стандардним поступком радијалне имунодифузије. *SP* су изоловани методом по Лорију (*Lowry*), док је *sIgA* издвојен из укупне пљувачке коришћењем методе имуне хроматографије.

Резултати Концентрације већине испитаних параметара су у великој мери одступале од њихових нормалних вредности: CIC 72,5%, *IgG* 70%, *SP* 80%. Концентрације CIC су биле статистички значајно веће код болесника чија је болест трајала мање од 10 година. Са смањењем *USFR* концентрације *sIgA* и *IgG* су се повећавале са статистичком значајношћу.

Закључак Повећане концентрације CIC, *IgG* и *SP* код болесника са СС упућују на повишен ниво имунолошке реактивности. Подаци добијени у овом истраживању могу бити корисни приликом посматрања активности и динамике промена код СС.

Кључне речи: циркулаторни имуни комплекси (CIC); *IgG*; саливарни протеини; саливарни *IgA*; Сјегренов (*Sjögren*) синдром

УВОД

Сјегренов (*Sjögren*) синдром (СС) је хронична аутоимуна болест која настаје услед патолошких промена у егзокриним жлездама [1]. Перидуктална мононуклеарна ћелијска инфилтрација и имунолошка хиперреактивност су одговорне за пропадање жлезданог ткива. Смањена функција егзокриних жлезда изазива сувоћу очију и уста, а могу настати и промене у протеинском саставу пљувачке и суза [2]. Већину особа оболелих од СС (80-90%) чине жене у средњем и старијем животном добу (40-60 година). На основу клиничке, имунолошке и серолошке хетерогености особа оболелих од СС, Муцопулос (*Moutsopoulos*) и сарадници [3] су предложили класификацију обољења на примарни и секундарни облик. Примарни облик болести подразумева типичне инфламаторно-целуларне реакције, које се одвијају пре свега у пљувачним и сузним жлездама, док секундарни СС обухвата и поједина обољења везивног ткива, поред постојеће егзокрине патологије.

На аутоимуноу природу овог обољења упућује постојање аутоантитела специфичних за нуклеарне анти-СС-А (*Ro*) и анти-СС-Б (*La*) антигене [4, 5]. Испитивањем серума особа оболелих од СС могу се утврдити циркулаторни имуни комплекси (CIC) и повећан ниво антитела, нарочито имуноглобулина класе G (*IgG*). Формирани CIC код ових болесника могу довести до континуираног стварања *IFN α* [6]. *IgG* антитела у серуму бо-

лесника са СС могу бити усмерена ка мускаринским ацетилхолинским рецепторима (*mAChRs*), чиме се покреће парасимпатички биолошки одговор [7, 8], који може имати важну улогу у патогенези ксеростомије и ксерофталмије.

Концентрације појединих параметра у пљувачки особа оболелих од СС, као што су саливарни протеини (*SP*) и саливарни *IgA* (*sIgA*), такође могу бити промењене. Концентрација укупних *SP* код ових болесника је обично повећана [9]. Број ћелија које синтетишу *IgA* је код болесника са СС непромењен, што је установљено на основу имунохистохемијских испитивања ткива лабијалних жлезда, али није познато да ли је код њих промењен и ниво лучења овог имуноглобулина [10, 11]. Резултати студије Бера (*Berra*) и сарадника [12] показују да *sIgA* има сличну улогу у патогенези СС као и *IgG* у серуму.

Постављена је хипотеза да се имунолошки процеси код СС могу развијати истовремено у пљувачки и серуму. Сматрали смо да би било занимљиво испитати концентрације појединих протеина у серуму и пљувачки особа оболелих од овог синдрома.

ЦИЉ РАДА

Циљ ове студије је био да се концентрације CIC и *IgG* у серуму, као и *SP* и *sIgA* у пљувачки упореде међусобно и у односу на степен протока нестимулисаних пљувачке (*USFR*) и трајања болести.

МЕТОДЕ РАДА

Испитаници

Истраживање је обухватило 40 болесника са СС и 24 здраве особе, које су чиниле контролну групу. Сви испитаници контролне групе били су женског пола, старости од 48 година до 54 године, и све су негирале постојање системских болести у личној анамнези. Контролна група је у ову студију укључена како би се одредила тест-вредност за укупне *SP*. Дијагностички поступак за СС изведен је на основу критеријума које је дефинисала Европска научна група [13]. Етички комитет Стоматолошког факултета Универзитета у Београду одобрио је овај рад, а информативни приставак је добијен од свих учесника студије.

Сакупљање пљувачке и степен протока пљувачке

Сакупљање пљувачке вршено је у јутарњим часовима, после прања зуба. *USFR* је одређен следећом методом: испитаници су добијали калибрисану епрувету коју је требало да испуне пљувачком. Пре тога имали су два минута времена да је у устима акумулирају. Скренута им је пажња да у периоду сакупљања пљувачке што мање покрећу усне и језик и да не гутају. Овај поступак је понављан три пута, а трајао је укупно шест минута. *USFR* (изражен у *ml/min*) је представљао укупан волумен сакупљене пљувачке подељен са 6. Пљувачка је затим центрифугирана у замрзнутом центрифугату на 10000 *g* током 20 минута, да би након тога сви узорци били стављени на лед и чувани до лабораторијске анализе на температури од -20°C .

На основу вредности *USFR* испитаници су сврстани у три групе. Прву групу су чиниле особе са екстремно израженом ксеростомијом ($USFR=0,07-0,1\text{ ml/min}$), другу особе са средње израженом ксеростомијом ($USFR=0,1-0,2\text{ ml/min}$), а трећу испитаници са благо израженом ксеростомијом ($USFR=0,2-0,3\text{ ml/min}$).

Серолошке анализе

CIC су одређени преципитацијом серума са тропцентним раствором полиетиленгликола (*PEG*). Узорци су центрифугирани на 2500 *g* током два сата. Раствор *PEG* селективно је таложио имуне комплексе, чија се оптичка густина потом одређивала спектрофотометријски у односу на стандардне вредности. Вредност оптичке густине *PEG* преципитата од 0,5 се сматрала горњом границом нормалних вредности *CIC* у серуму [14].

Концентрација *IgG* у серуму болесника са СС одређена је методом радиоимунодифузије (*RID*), коришћењем комерцијалних тест-плоча [15]. Зечји антикоњски *IgG* је коришћен као антисерум. Унутрашња стандардна крива за процену нивоа имуноглобулина припремљена је додавањем 5 μl стандардног серума у шупљине једног реда имунодифузионе плоче. Пет микроли-

тара сваког од испитиваних узорака серума болесника са СС додавано је у преостале шупљине, а плоча је остављена 18 сати на собној температури. Формирани преципитациони прстенови мерени су директно с имунодифузионе плоче. Њихове вредности су тумачене у односу на стандардну криву означену на семилогаритамском графичком папиру. Нормалне вредности *IgG* у серуму су 8-18 *g/l*.

Анализе пљувачке

Укупна концентрација *SP* одређена је методом по Лорију [16]. Као протеински стандарди коришћени су раствори говеђег албумина (*ICN*-Галеника, Београд, Србија) у концентрацији од 2, 1,5, 1, 0,5, 0,2 и 0,1 *mg/ml*.

Саливарни *IgA* (*sIgA*) издвојен је из узорака укупне пљувачке узете од болесника са СС. Изоловање *sIgA* вршено је методом имунитетне хроматографије на колони *Sepharose 4B* анти-*IgA*. Имуноафинитетна колона је формирана од поликлонских анти-*IgA* антитела ковалентно везаних за *Sepharose 4B*. Узорци укупне пљувачке су нанесени и споро пропуштани кроз колону *Sepharose 4B* анти-*IgA*, а затим три сата инкубирани с имобилисаним антителима на собној температури. Невезани део узорка је испиран неутралним пуфером (*PBS*), док је везани *sIgA* елуиран 3М раствором амонијумтиоцијаната. Елуирање је праћено мерењем апсорбанце на 280 *nm* у свакој од фракција запремине 3 *ml*. Фракције које су садржале *sIgA* су сакупљане, дијализиране помоћу дестиловане воде и концентроване лиофилизацијом.

Статистичке анализе

За обраду прикупљених података коришћене су следеће статистичке методе: мере централне тенденције (средња вредност и медијана), мере дисперзије (стандардна девијација, минимална и максимална вредност), параметарски тестови (Студентов *t*-тест) и регресионе анализе (униваријантна логистичка регресија).

РЕЗУЛТАТИ

Статистички су обрађене добијене вредности концентрација *CIC*, *IgG*, *SP* и *sIgA* испитаника са СС, а затим су упоређене са нормалним вредностима за те параметре. Средње вредности концентрација *CIC*, *IgG* и *SP* су биле изнад горње границе нормале, док је средња вредност концентрације *sIgA* била на доњој граници нормале.

Утврђена је статистички значајна разлика између средње вредности концентрација *CIC* испитаника и горње границе нормалних вредности за *CIC* ($t=4,75$; $p<0,001$). Средња вредност процењене разлике била је 0,62 са 95-процентним интервалом поверења (0,36-0,88), што значи да су код 95% испитаника вредности *CIC* биле веће од вредности за горњу границу нормале *CIC* (Табела 1). Повећане вредности концентрације *CIC*

Табела 1. Просечне вредности концентрација *CIC*, *IgG* и *SP* код болесника са Сјегреновим синдромом у поређењу са њиховим нормалним вредностима

Table 1. Mean values of concentration of *CIC*, *IgG* and *SP* in patients with Sjögren's Syndrome in comparison to their normal values

Параметар Parameter	Средња вредност Mean value	<i>t</i>	<i>p</i>	Просечна разлика Mean difference	95% <i>CI</i>
<i>CIC</i>	1.12	0.5	<0.001	0.62	0.36-0.88
<i>SP</i>	4.13	2.25	<0.001	1.88	1.25-2.50
<i>IgG</i>	19.88	18	=0.025	1.87	0.24-3.51

Табела 2. Концентрација *CIC* и *IgG* у серуму и *SP* и *slgA* у пљувачки болесника са Сјегреновим синдромом

Table 2. Concentration of *CIC* and *IgG* in serum and *SP* and *slgA* in saliva of patients with Sjögren's Syndrome

Параметар Parameter	<i>CIC</i> *	<i>IgG</i> (g/l)**	<i>SP</i> (mg/ml)***	<i>slgA</i> (mg/l)****
$\bar{X} \pm SD$	1.12±0.82	19.88±5.1	4.13±1.96	5.7±1.28
Med.	0.81	20.97	3.6	5.45
Min.	0.2	8.79	1.7	3.3
Max.	3.6	30.05	8.3	8.5

* подаци су изражени као јединице оптичке густине на 280 nm; горња граница нормалних вредности за *CIC* је 0,5; ** нормалне вредности 8-18 g/l; *** тест-вредност 2,25 mg/ml (горња граница); **** нормалне вредности 5-15 mg/l

* data are expressed as optical density units at 280 nm; upper mark of normal values for *CIC* is 0.5; ** normal range 8-18 g/l; *** test value 2.25 mg/ml (upper level); **** normal range 5-15 mg/l

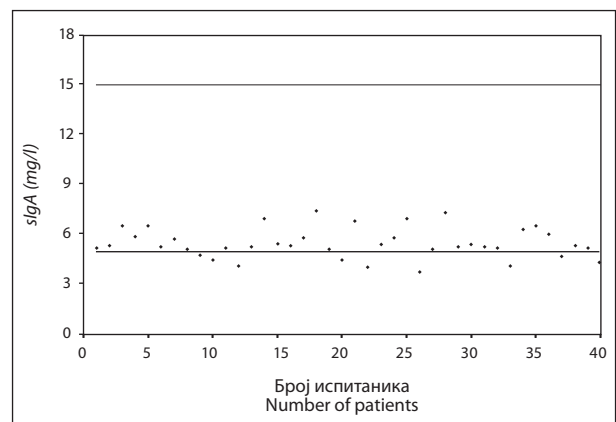
биле су код 40% испитаника незнатно изнад границе нормалних (0,5-1,0), а у 37,5% случајева знатно изнад те границе (>1). Најнижа измерена вредност *CIC* код испитаних болесника била је 0,2, а највећа 3,6 (Табела 2).

Анализом вредности концентрације *IgG* помоћу Студентовог *t*-теста установљена је статистички значајна разлика између средње вредности концентрација *IgG* болесника са СС и горње границе нормалних вредности за *IgG* ($t=2,33$; $p=0,025$). Средња вредност процењене разлике била је 1,88 са 95-процентним интервалом поверења од 1,24 до 3,50 (Табела 1). Код 55% испитаника позитивне вредности *IgG* биле су груписане у опсегу 18-25 g/l, а код 15% болесника у опсегу 25-30 g/l. Најмања измерена вредност *IgG* код болесника са СС била је 8,9 g/l, а највећа 30,05 g/l (Табела 2).

Поређењем средњих вредности *SP* болесника са СС са тест-вредношћу контролне групе за овај параметар, доказано је постојање статистички значајне разлике у вредностима *SP* између посматраних група испитаника ($t=6,05$; $p<0,001$). Средња вредност процењене разлике била је 1,88 са 95-процентним интервалом поверења од 1,25 до 2,51 (Табела 1). Вредности *SP* испитаних узорака пљувачке особа оболелих од СС биле су углавном распоређене изнад тест-вредности за овај параметар. Најмања измерена вредност *SP* код болесника са СС била је 1,7 mg/ml, а највећа 8,3 mg/ml (Табела 2).

Компаративне анализе концентрација *slgA* и тест-вредности за овај параметар нису рађене, јер је у већини испитаних узорака пљувачке особа оболелих од СС вредност *slgA* била у опсегу нормалних вредности (Графикон 1).

Трајање болести није имало утицаја на концентрације *IgG*, *SP* и *slgA*, али је зато имало значајног утицаја на концентрацију *CIC*. Концентрације овог параметра су биле веће код испитаника са СС код којих



Графикон 1. Расподела вредности *slgA* болесника са Сјегреновим синдромом

Graph 1. Arrangement of values of *slgA* in patients with Sjögren's Syndrome

Концентрација *slgA* је била у границама нормалних вредности код 77,5% испитаника. Примећује се да су готово све вредности концентрација *slgA* биле груписане око доње границе нормалних вредности, иако се опсег нормалних вредности за *slgA* протезао још шест јединица изнад највеће измерене вредности за овај имуноглобулин код испитаних болесника. Најнижа измерена вредност за *slgA* била је 3,3 mg/l, а највећа 8,5 mg/l.

The concentration of *slgA* was in the range of normal values in 77.5% of examined patients. It could be noticed that almost all values of concentration of *slgA* were grouped around the lower mark of normal values, although the range of normal values for *slgA* spread even 6 units above maximally measured values of *slgA* in examined patients. The lowest measured value was 3.3 mg/l, and the highest 8.5 mg/l.

је болест трајала више од 10 година ($p=0,022$) (Табела 3). Резултати овог истраживања показују да су се концентрације *slgA* и *IgG* мењале са променама *USFR*. Између *USFR* и *slgA* била је изражена негативна корелација са статистичком значајношћу (Студентов *t*-тест, $p=0,011$) (Табела 4). Концентрације *IgG* и *USFR* су такође биле у негативној корелацији, али без статистичке значајности. Оба испитана имуноглобулина (*slgA* и *IgG*) имала су негативну тенденцију у односу на *USFR*, али је она била знатно израженија код *slgA* (универзитетна логистичка регресија, $p=0,001$) (Графикон 2) у поређењу са *IgG* ($p=0,045$) (Графикон 3). Са смањењем

Табела 3. Концентрација *CIC*, *IgG*, *SP* и *slgA* болесника са Сјегреновим синдромом код којих је болест трајала мање, односно више од 10 година

Table 3. Concentration of *CIC*, *IgG*, *SP* and *slgA* in patients with Sjögren's Syndrome and duration of disease less or more than 10 years

Трајање болести (год.) Duration of disease (years)	<i>CIC</i> *	<i>IgG</i> (g/l)	<i>SP</i> (mg/ml)	<i>slgA</i> (mg/l)
≤10	1.33±0.93	19.64±5.89	4.31±2.21	5.73±1.31
>10	0.79±0.51	20.22±3.75	3.85±1.54	5.66±1.30

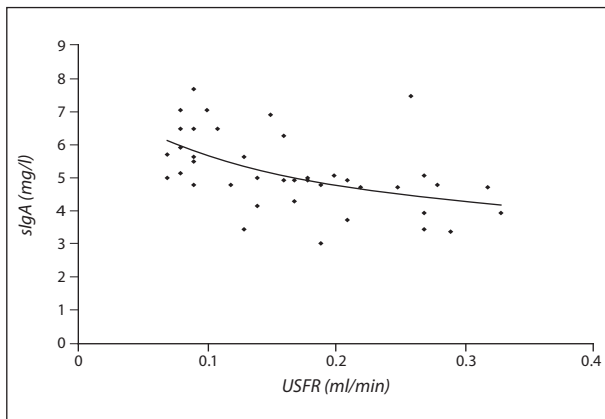
$p=0,022$; * јединице оптичке густине на 280 nm
 $p=0,022$; * optical density units at 280 nm

Табела 4. Концентрација *CIC*, *IgG*, *SP* и *slgA* код болесника са Сјегреновим синдромом при различитом степену протока нестимулисаних пљувачке (*USFR*)

Table 4. Concentration of *CIC*, *IgG*, *SP* and *slgA* in patients with Sjögren's Syndrome and different unstimulated salivary flow rate (*USFR*)

<i>USFR</i>	<i>CIC</i> *	<i>IgG</i> (g/l)	<i>SP</i> (mg/ml)	<i>slgA</i> (mg/l)
≤0.15	1.03±0.84	21.31±5.1	4.46±2.1	6.26±1.2
>0.15	1.19±0.83	18.68±4.87	3.85±1.88	5.25±1.19

$p=0,011$; * јединице оптичке густине на 280 nm
 $p=0,011$; * optical density units at 280 nm



Графикон 2. Концентрација *sIgA* у односу на степен протока нестимулисаних пљувачке (*USFR*) болесника са Сјегреновим синдромом

Graph 2. Concentration of *sIgA* in comparison to unstimulated salivary flow rate (*USFR*) in patients with Sjögren's Syndrome

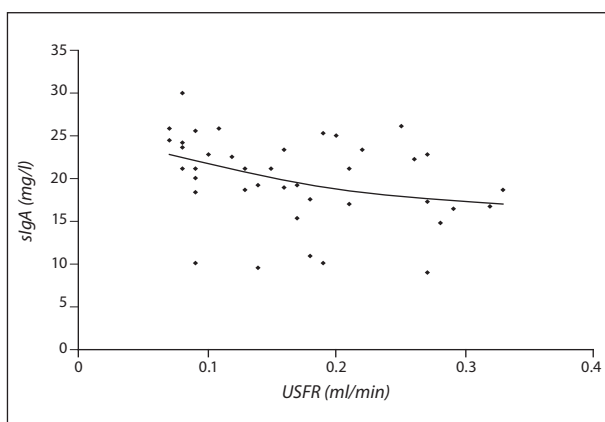
Корелација између *sIgA* и *USFR* је била статистички значајна у обе статистичке анализе коришћене у овој студији: $p=0,011$ (Студентов *t*-тест) и $p=0,001$ (униваријантна логистичка регресија). Са смањењем *USFR* концентрација *sIgA* се повећавала.

The correlation between *sIgA* and *USFR* was statistically significant in both statistical analyses used in this research: $p=0.011$ (Student's *t*-test) and $p=0.001$ (one-variant logistic regression). With the decrease of *USFR* the concentration of *sIgA* increases.

USFR концентрација *sIgA* у пљувачки и *IgG* у серуму се повећавала. Применом регресионе анализе установљена је позитивна корелација између концентрације *IgG* и *sIgA* ($p=0,01$) болесника са СС (Графикон 4).

ДИСКУСИЈА

СС је типично аутоимуно обољење које се одликује постојањем циркулаторних антитела усмерених против нуклеарних антигена, као и депозицијом имуних комплекса у различитим ткивима [17]. Као последица тих процеса долази до запаљења и оштећења циљног органа. Повећана концентрација *CIC* упућује на

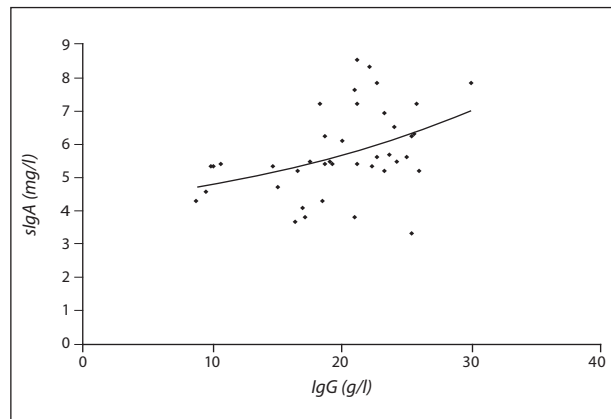


Графикон 3. Концентрација *IgG* у односу на степен протока нестимулисаних пљувачке (*USFR*) болесника са Сјегреновим синдромом

Graph 3. Concentration of *IgG* in comparison to unstimulated salivary flow rate (*USFR*) in patients with Sjögren's Syndrome

Корелација између *IgG* и *USFR* није била значајна када је анализа рађена Студентовим *t*-тестом. Ипак, регресионом анализом је установљена зависност концентрације *IgG* од *USFR* код испитаника са СС, са статистичком значајношћу ($p=0,045$). Са смањењем *USFR* концентрација *IgG* се повећавала.

The correlation between *IgG* and *USFR* was insignificant when it was analyzed with Student's *t*-test. However, the regression analysis shows that the level of *IgG* in SS patients depends on *USFR*, with statistical significance ($p=0.045$). With the decrease of *USFR* the concentration of *IgG* increases.



Графикон 4. Концентрација *IgG* у поређењу с концентрацијом *sIgA* болесника са Сјегреновим синдромом

Graph 4. Concentration of *IgG* in comparison to concentration of *sIgA* in patients with Sjögren's Syndrome

Корелација између концентрација *IgG* и *sIgA* испитаника била је позитивна са статистичком значајношћу ($p=0,01$). Са повећањем концентрације *IgG* и концентрација *sIgA* се такође повећавала.

The correlation between concentrations of *IgG* and *sIgA* in SS patients was positive and statistically significant ($p=0.01$). With the increasing concentration of *IgG*, the concentration of *sIgA* also increases.

повећање степена аутоимуних процеса. Према резултатима Томашевића и Јелића [18], повећање концентрација *CIC* у СС могло би представљати рефлексивну малигнитету лимфоидног ткива. У највећем броју случајева СС такав малигнитет се манифестује у виду лимфома.

Саито (*Saito*) и сарадници [19] су утврдили да се вредности *IgG* повећавају у условима смањеног волумена пљувачке и повећане периваскуларне лимфоцитне инфилтрације. У плазма-ћелијама које инфилтришу ткива егзокриних жлезда захваћених СС доминирају *IgG* и *IgM* [20]. При повећању оштећења пљувачних жлезда и смањењу *USFR* повећава се акумулација *IgG* у ткиву пљувачних жлезда особа оболелих од СС. У таквим околностима и у серуму повећава се концентрација *IgG*, али не у толикој мери као у ткиву егзокриних жлезда. Дакле, концентрација *IgG* у серуму не може бити апсолутни индикатор промена у ткиву пљувачних жлезда, али може служити као користан параметар у процени степена узапредовалости аутоимуних процеса код СС.

Састав укупне пљувачке се мења као последица оштећења ткива пљувачних жлезда у СС. Према налазима Ван дер Рејдена (*van der Reijden*) и сарадника [21], Биџија (*Beeley*) и Куа (*Khoo*) [22], Зипа (*Zipp*) и сарадника [23], те многих других аутора, концентрација укупних протеина у стимулисаној пљувачки особа оболелих од СС била је три-четири пута већа него у пљувачки здравих особа.

Анализирајући састојке пљувачке, Ван дер Рејден и сарадници [21] су открили повећане концентрације *sIgA* код болесника са СС, али су истовремено утврдили смањено ослобађање овог имуноглобулина у пљувачку. Концентрација *sIgA* у великој мери зависи од степена протока пљувачке [24, 25]. Гренблад (*Grönblad*) [25] је потврдио да је *sIgA* присутан три пута више у укупној нестимулисаној него у укупној стимулисаној пљувачки. Стимулација лучења пљувачке не утиче на стварање *sIgA*, како би се то могло очекивати. Главну

улогу у иницијацији синтезе *sIgA* имају имунолошки механизми [26].

Поред утицаја *USFR*, концентрација *sIgA* такође зависи од степена оштећења пљувачних жлезда. *SigA* води порекло од glandularних имуноцита. Ове ћелије су распоређене дуж ткива пљувачних жлезда, а већина њих је приљубљена уз пљувачне канале. С повећањем оштећења ткива пљувачних жлезда, ове структуре постају нефункционалне. Очувани елементи пљувачних жлезда су способни да одрже концентрацију *sIgA* у границама нормалних вредности повећањем његове синтезе [27]. Напредовање болести ће условити интензивирање имунолошких процеса. Број ћелија које стварају *sIgA* ће бити већи, али ће се истовремено смањити број функционалних елемената жлезданог ткива, способних да синтетишу *sIgA*. Резултати нашег истраживања показују да је концентрација *sIgA* била у границама нормалних вредности код већине испитаника оболелих од СС. Код ових болесника је вероватно концентрација *sIgA* одржана у границама нормалних вредности услед изражене амплификације имунолошких реакција очуваног жлезданог ткива. За разлику од њих, код болесника чија је концентрација *sIgA* била испод доње границе нормале функционално ткиво пљувачне жлезде је толико било уништено, да ни појачана синтеза *sIgA* није могла довести ниво овог имуноглобулина у границе нормалних вредности. Сви испитаници овог истраживања код којих је концентра-

ција *sIgA* била испод доње границе нормале имали су екстремно изражену ксеростомију.

Синхроно увећање вредности *IgG* и *sIgA* симболизује генерализовано интензивирање имунолошких процеса. Ове промене се могу дијагностиковати у свим телесним течностима, па и у серуму и пљувачки особа оболелих од СС.

ЗАКЉУЧАК

Повећане концентрације *CIC*, *IgG* и *SP* болесника са СС симболизују повишен ниво имунолошке реактивности. Подаци добијени у овом истраживању могу бити корисни приликом праћења активности и динамике промена СС.

ЗАХВАЛНИЦА

Ово истраживање је подржала Клиника за пародонтологију и оралну медицину Стоматолошког факултета Универзитета у Београду. Аутори рада би желели да захвале мр Жанки Бојић на великој помоћи при извођењу лабораторијског дела истраживања, као и особљу Института за примену нуклеарне енергије у Земуну (ИНЕП).

ЛИТЕРАТУРА

- Strand V, Talal N. Advances in the diagnosis and concept of Sjögren's syndrome (autoimmune exocrinopathy). *Bull Rheum Dis*. 1980;30:1046-52.
- Belenguier R, Ramons-Casals M, Brito-Zerón P, del Pino J, Sentís J, Aguiló S, et al. Influence of clinical and immunological parameters on the health related quality of life of patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2005;23(3):351-6.
- Moutsopoulos HM, Chused TM, Mann DL, Klippel JH, Fauci AS, Frank MM, et al. Sjögren's syndrome (Sicca syndrome): current issues. *Ann Intern Med*. 1980;92(2 Pt 1):212-26.
- Yamaoka K, Miyasaka N, Sato K, Okuda M, Nishioka K. B cell hyperresponsiveness in Sjögren's syndrome. *Autoimmunity*. 1989;3:261-9.
- Atkinson JC, Travis WD, Pillemer SR, Bermudez D, Wolff A, Fox PC. Major salivary gland function in primary Sjögren's syndrome and its relationship to clinical features. *J Rheumatol*. 1990;17:318-22.
- Lövgren T, Eloranta M-L, Kastner B, Wahren-Herlenius M, Alm GV, Rönnblom L. Induction of interferon-alpha by immune complexes or liposomes containing systemic lupus erythematosus autoantigen- and Sjögren's syndrome autoantigen-associated RNA. *Arthritis Rheum*. 2006;54:1917-27.
- Bacman S, Sterin-Borda L, Camusso JJ, Arana R, Hubscher O, Borda E. Circulating antibodies against rat parotid gland M3 muscarinic receptors in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. 1996;104:454-9.
- Bacman S, Perez Leiros C, Sterin-Borda L, Hubscher O, Arana R, Borda E. Autoantibodies against lacrimal gland M3 muscarinic acetylcholine receptors in patients with primary Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:151-6.
- Eliasson L, Almstahl A, Lingstrom P, Wikstrom M, Carlen A. Minor gland saliva flow rate and proteins in subjects with hyposalivation due to Sjögren's syndrome and radiation therapy. *Arch Oral Biol*. 2005;50:293-9.
- Speight PM, Cruchley A, Williams DM. Quantification of plasma cells in labial salivary glands: increased expression of IgM in Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med*. 1990;19:126-30.
- Matthews JB, Deacon EM, Wilson C, Potts AJC, Hamburger J. Plasma cell populations in labial salivary glands from patients with and without Sjögren's syndrome. *Histopathology*. 1993;23:399-407.
- Berra A, Sterin-Borda L, Bacman S, Borda E. Role of salivary IgA in the pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Clin Immunol*. 2002;104:49-57.
- Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Coll J, Gerli R, Hatron PY, 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(2):116-21.
- Bout D, Santoro F, Carlier Y, Bina JC, Capron A. Circulating immune complexes in schistosomiasis. *Immunology*. 1977;33:17-22.
- Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*. 1965;2:235-54.
- Lowry OH, Rosebrough W, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
- Mathsson L, Ahlin E, Sjöwall C, Skogh T, Rönnelid J. Cytokine induction by circulating immune complexes and signs of in-vivo complement activation in systemic lupus erythematosus are associated with the occurrence of anti-Sjögren's syndrome A antibodies. *Clin Exp Immunol*. 2007;147:513-20.
- Tomasevic Z, Jelic S. Circulating immune complexes in advanced Hodgkin's disease: qualitative analysis and prognostic significance. *Arch Immunol Ther Exp*. 2000;48:195-200.
- Saito T, Fukuda H, Arisue M, Matsuda A, Shindoh M, Amemiya A, et al. Periductal lymphocytic infiltration of salivary glands in Sjögren's syndrome with relation to clinical and immunologic findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1991;71:179-83.
- Stea EA, Routsias JG, Samiotaki M, Panayotou G, Papalambros E, Moutsopoulos HM, et al. Analysis of parotid glands of primary Sjögren's syndrome patients using proteomic technology reveals altered autoantigen composition and novel antigenic targets. *Clin Exp Immunol*. 2007;147:81-9.
- van der Reijden WA, van der Kwaak JS, Veerman EC, Nieuw Amerongen AV. Analysis of the concentration and output of whole salivary constituents in patients with Sjögren's syndrome. *Eur J Oral Sci*. 1996;104:335-40.

22. Beeley JA, Khoo KS. Salivary proteins in rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome: one-dimensional and two-dimensional electrophoretic studies. *Electrophoresis*. 1999;20:1652-60.
23. Zipp MM, Yasbin L, al-Hashimi I. The effect of parotid salivary flow rate on the levels of salivary antimicrobial proteins in patients with Sjögren's syndrome. *Quintessence Int*. 1999;30:700-5.
24. Brandtzaeg P. Human secretory immunoglobulins. VII. Concentrations of parotid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. *Arch Oral Biol*. 1971; 16:1295-1310.
25. Grönblad EA. Concentration of immunoglobulins in human whole saliva: effect of physiological stimulation. *Acta Odontol Scand*. 1982;40:87-95.
26. Brandtzaeg P. Overview of the mucosal immune system. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1989;146:13-25.
27. Thrane PS, Rognum TO, Huitfeldt HS, Brandtzaeg P. The distribution of HLA-DR determinants, secretory component (SC), amylase, lysozyme, IgA, IgM and IgD in fetal and postnatal salivary glands. *Adv Exp Med Biol*. 1987;216B:1431-8.

Circulating Immune Complexes, Immunoglobulin G, Salivary Proteins and Salivary Immunoglobulin A in Patients with Sjögren's Syndrome

Miloš Hadži-Mihailović, Ljiljana Janković, Saša Čakić

Clinic of Periodontology and Oral Medicine, School of Dentistry, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Sjögren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disorder, with its major clinical manifestations resulting from changes in exocrine glands.

Objective The aim of this study was to evaluate serum concentrations of circulating immune complexes (CIC) and immunoglobulin G (IgG), and salivary proteins (SP) and salivary immunoglobulin A (sIgA) in 40 patients with SS, and to correlate these values among themselves, as well as with the unstimulated salivary flow rate (USFR) and the duration of disease.

Methods The total of 40 patients were included in this research. CIC was determined using the solution of polyethylene glycol and IgG with the standard procedure of radial immunodiffusion. SP was investigated by the method of Lowry and sIgA was

separated from the whole saliva using the method of immune chromatography.

Results The values of most of the studied parameters exceeded the normal range in a high degree: CIC 72.5%, IgG 70%, SP 80%. The concentrations of CIC were significantly higher in the patients with the duration of disease less than 10 years. With the decrease of USFR, the concentration of sIgA and IgG were increased with statistical significance.

Conclusion The increased prevalence of abnormal values of CIC, IgG and SP indicate that the patients with SS have developed a higher level of immune reactivity. These results could be useful in diagnosis and disease activity monitoring.

Keywords: CIC; IgG; SP; sIgA; Sjögren's syndrome