

Točnost biopsije malih labijalnih žlijezda slinovnica u dijagnozi Sjögrenova sindroma

Barić, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:162065>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivona Barić

**TOČNOST BIOPSIJE MALIH LABIJALNIH ŽLIJEZDA SLINOVNICA U
DIJAGNOZI SJÖGRENOVA SINDROMA**

Diplomski rad

Akadska godina: 2021./2022.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Antonija Tadin, dr. med. dent

Split, rujna 2022.

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivona Barić

**TOČNOST BIOPSIJE MALIH LABIJALNIH ŽLIJEZDA SLINOVNICA U
DIJAGNOZI SJÖGRENOVA SINDROMA**

Diplomski rad

Akadska godina: 2021./2022.

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Antonija Tadin, dr. med. dent

Split, rujna 2022.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Primarni i sekundarni Sjögrenov sindrom	2
1.2. Epidemiologija.....	2
1.3. Etiologija	2
1.4. Klinička slika	3
1.5. Dijagnoza i klasifikacija	4
1.6. Terapija	7
1.7. Prognoza	8
2. CILJEVI I HIPOTEZE	9
3. MATERIJALI I METODE	11
3.1. Ispitanici	12
3.2. Metode prikupljanja podataka	12
3.3. Statistička obrada podataka	13
4. REZULTATI.....	14
5. RASPRAVA	21
6. ZAKLJUČCI.....	26
7. LITERATURA	28
8. SAŽETAK	34
9. SUMMARY	36
10. ŽIVOTOPIS	38

POPIS OZNAKA I KRATICA

SS - Sjögrenov sindrom

pSS - primarni Sjögrenov sindrom

sSS - sekundarni Sjögrenov sindrom

SLE - sistemski eritematozni lupus

RA - reumatoidni artritis

SSc - sistemska skleroza

EBV - Epstein-Barr virus

SŽS - središnji živčani sustav

QOL- kvaliteta života (engl. *quality of life*)

AECG - Američko-europska konsenzusna grupa (engl. *American-European consensus group*)

SICCA - SICCA (engl. *Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance*)

ACR - Američko udruženje reumatologa (engl. *American Collage of Rheumatology*)

EULAR - Europska liga protiv reumatizma (engl. *European League Against Rheumatism*)

ANA - antinuklearna antitijela

MLŽS - male labijalne žlijezde slinovnice

NK - stanice ubojice (engl. *Natural killer cells*)

NHL - non-Hodgkinov limfom

NSAID - nesteroidni protuupalni lijekovi (engl. *Non-steroidal anti-inflammatory drugs*)

HCQ - Hidroksiklorokin (engl. *Hydroxychloroquine*)

DMRAD - lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (engl. *Disease-modifying anti-rheumatic drugs*)

MTX - Metotreksat (engl. *Methothrexate*)

BAFF - aktivirajući faktor B stanica (engl. *B cell activating factor*)

Qs - vrijednost sveukupne količine nestimulirane sline

Qss - vrijednost sveukupne količine stimulirane sline

GVHD - bolest presatka protiv domaćina (engl. *Graft versus host disease*)

Hvala dragoj profesorici i mentorici Antoniji Tadin ne samo za ovaj diplomski rad već i za svaki put kada mi niste odbili pomoći svojim stručnim savjetom i mentorstvom.

Također, veliko hvala doktorici Ani Glavini na ogromnom strpljenju, razumijevanju, susretljivosti i stručnoj pomoći prilikom izrade ovog rada.

Najveće hvala mojim roditeljima i sestrama bez kojih ovo ne bi bilo moguće. Nadam se da sam vas učinila ponosnima. Osobito hvala mojoj Martini jer si svaki moj studentski dan učinila lakšim i ljepšim.

Hvala mojoj teti Željki i Branku na iskrenom radovanju svakom mojem uspjehu.

I naposljetku, Bogu hvala!

1. UVOD

1.1. Primarni i sekundarni Sjögrenov sindrom

Sjögrenov sindrom (SS) je autoimuna bolest, karakterizirana progresivnom limfocitnom infiltracijom egzokrinih žlijezda što dovodi do suhoće usta (kserostomija) i očiju (kseroftalmija). Ukoliko se javljaju i suhoća farinksa, larinksa i/ili vagine govorimo o "*sicca* sindromu". Osim *sicca* simptoma često su prisutni i različiti simptomi drugih organskih sustava. Zbog raznolikosti simptoma s ovim se pacijentima prvi puta susreću doktori različitih specijalnosti uključujući stomatologe, oftalmologe, otorinolaringologe te obiteljske liječnike (1). SS se može manifestirati kao primarni Sjögrenov sindrom (pSS) koji se pojavljuje kao izolirani poremećaj ili kao sekundarni Sjögrenov sindrom (sSS) kada se javlja u sklopu drugih autoimunih bolesti (2). Sekundarni se SS najčešće javlja uz prisutnost sistemskog eritematoznog lupusa (SLE) (15-36 %), reumatoidnog artritisa (RA) (20-30 %) te sistemske skleroze (SSc) (11-24 %), rjeđe se javlja u sklopu autoimunog hepatitisa i tireoiditisa (1). Izraz sekundarni ovdje ne podrazumijeva kronološki tijek manifestiranja bolesti. Postavljanje dijagnoze je često izazovno zbog preklapajući entiteta bolesti, međutim jako je važno razlikovati pSS od sSS zbog različitog tijeka bolesti (što uključuje i prognozu) (2).

1.2. Epidemiologija

Žene razvijaju SS značajno češće od muškaraca, razlika između spolova varira između 9:1 do 19:1. Prosječna dob postavljanja dijagnoze je 56 godina, s još jednim vrhuncem između 20 i 40 godina. Međutim, prvi se simptomi mogu pojaviti godinama prije postavljanja dijagnoze. Sveukupna prevalencija SS-a, uključujući češću sekundarnu formu sindroma, je najmanje 0,4 % (3).

1.3. Etiologija

U nastanku SS-a važnu ulogu imaju genetski, epigenetski i okolišni čimbenici (4). Patogenetski mehanizam nije razjašnjen međutim, zna se da su ciljane stanice imunološkog sustava ribonuklearni proteini Ro/SS-A i La/SS-B. Auto-antigeni moguće bivaju izloženi unutar apoptotičnog mjehurića kao posljedica apoptoze epitelnih stanica (4, 5). Epstein-Barr virus (EBV) se navodi kao važan okolišni čimbenik koji uzrokuje apoptozu epitelnih stanica.

Autoimuni infiltrat koji nastaje sastoji se pretežno od T CD4+ limfocita te od B limfocita koji mogu hiperproducirati IgG i IgM protutijela. Infiltrat je isprva prisutan inter- i intralobularno kao kronični infiltrat sa ili bez gubitka žljezdane arhitekture. Zatim se formira fokalni mononuklearni infiltrat oko epitelnih kanala. U konačnici se infiltrat širi u parenhim te nastaje veliki difuzni infiltrat koji uzrokuje destrukciju žlijezde, gubitak acinusne arhitekture te gubitak funkcije (6, 7). Upalni se infiltrat ne javlja samo u žlijezdama slinovnicama, koje su do danas najtemeljitiše proučavane u odnosu na druge organe pogođene SS-om u kojima također postoji fokalni limfocitni infiltrat (8).

1.4. Klinička slika

Spektar kliničkih simptoma koji se javljaju je širok, a može varirati od pojave suhih usta i očiju do oštećenja zglobova, bubrega i pluća (9). *Sicca* simptomi su prisutni u 98 % slučajeva. Pacijenti s keratokunjuktivitis *siccom* se žale na osjećaj stranog tijela u očima, pečenje i bolnost očiju te osjetljivost na svjetlo. Kserostomija ometa govor i gutanje, osobito suhe hrane. Slina ima važnu ulogu u očuvanju oralnog zdravlja, stoga se zubni karijes i rani gubitak zuba javljaju dva puta češće u pacijenata sa SS-om, dok su rekurentne oralne infekcije *Candidom albicans* češće deset puta nego u općoj populaciji (10). Ostale oralne manifestacije SS-a jesu angularni heilitis, atrofični glositis i rekurentne oralne ulceracije (11). Kod 34 % pacijenata pojavljuje se akutna ili kronična oteklina parotidne žlijezde, ovdje je bitno isključiti maligni non-Hodgkinov limfom B-stanica (12).

Najčešće ekstraglandularne manifestacije jesu atralgija i neerozivni poliartritis. Plućne komplikacije manifestiraju se kao intersticijska bolest pluća ili folikularni bronhitis. Kutane se lezije pojavljuju u formi vaskulitisa. Oštećenja bubrega su obično povezana s tubulointestinalnim promjenama. U kasnijim fazama bolesti mogu se javiti i simptomi vezani za središnji živčani sustav (SŽS) koji se manifestiraju kao senzorna neuropatija. Umor je često prisutan nespecifični simptom koji bitno narušava pacijentovu kvalitetu života (QOL) (12).

1.5. Dijagnoza i klasifikacija

Brojne su studije pokušale definirati klasifikacijske kriterije za SS s obzirom da je nemoguće potvrditi ili isključiti dijagnozu ovog sindroma na temelju samo jedne dijagnostičke pretrage (14). Godine 2002. je prihvaćena klasifikacija koju je donijela Američko-europska konsenzusna grupa (engl. *American-European consensus group*, AECG) koja uključuje dva subjektivna (okularni i oralni simptomi) i četiri objektivna kriterija (okularni znakovi, znakovi zahvaćenosti slinovnica, patohistološki nalaz, prisutnost autoantitijela) (Tablica 1).

Tablica 1. Konsenzus američko-europske skupine o klasifikacijskim kriterijima za SS. Preuzeto i prilagođeno iz (13).

I.	Okularni simptomi, pozitivan odgovor na barem jedno od sljedećih pitanja: <ol style="list-style-type: none"> 1. Imate li svakodnevnu trajnu tegobu suhих očiju tijekom zadnja 3 mjeseca? 2. Imate li čest osjećaj "pijeska" u očima? 3. Rabite li "umjetne suze" više od 3 puta na dan?
II.	Oralni simptomi, pozitivan odgovor na barem jedno od sljedećih pitanja: <ol style="list-style-type: none"> 1. Imate li svakodnevni osjećaj suhих уста tijekom zadnja 3 mjeseca? 2. Jeste li ikada kao odrasla osoba imali otečene slinovnice? 3. Trebate li često unositi tekućinu kao pomoć za gutanje krute hrane?
III.	Okularni znakovi, pozitivan rezultat jednog od dva sljedeća testa: <ol style="list-style-type: none"> 1. Schirmerov I. test (≤ 5 mm / 5 min) 2. pozitivan Rose Bengal test (≥ 4)
IV.	Histopatologija: Patološki nalaz biopsije malih labijalnih slinovnica (≥ 1 limfocitni fokus (50+ limfocita) / 4 mm ² žljezdanog tkiva)
V.	Objektivni znakovi zahvaćenosti salivarne funkcije, pozitivan rezultat jednog od sljedećih testova: <ol style="list-style-type: none"> 1. Nalaz nestimulirane ukupne salivacije ($\leq 1,5$ ml / 15 min) 2. Patološki nalaz parotidne sijalografije (difuzne sijalektazije s punktiiformnim destruktivnim prikazom) 3. Patološki nalaz scintigrafije slinovnica (odgođeno nakupljanje, smanjena koncentracija i izlučivanje radioizotopa)
VI.	Autoantitijela, prisutnost jednih ili oboje: <ol style="list-style-type: none"> 1. Anti-SSA (Ro) protutijela 2. Anti-SSB (La) protutijela

Kako bi se postavila dijagnoza pSS-a potreban je pozitivan patohistološki nalaz i/ili prisutnost autoantitijela [SSA (Ro) ili SSB (La)] uz prisutnost još tri kriterija. Za dijagnozu sSS-a potrebna je prisutnost jednog od subjektivnih simptoma i dva objektivna kriterija (13). Godine 2012. je SICCA (engl. *Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance*) objavio novu klasifikaciju koja je odobrena od strane Američkog udruženja reumatologa (engl. *American Collage of Rheumatology*, ACR), međutim nisu postojali jasni dokazi da nova klasifikacija ima veću dijagnostičku vrijednost od prethodno korištene AECG klasifikacije (15). Konačno su, 2016. godine, ACR i Europska liga protiv reumatizma (engl. *European League Against Rheumatism*, EULAR) objavili klasifikaciju koja uključuje AECG i ACR kriterije. Ova klasifikacija odnosi se na svakog pojedinca koji ispunjava kriterije za uključivanje te ima zbroj bodova ≥ 4 (Tablica 2).

Tablica 2. ACR-EULAR klasifikacija za pSS. Preuzeto i prilagođeno iz (16).

Test	Bodovi
Patološki nalaz biopsije malih labijalnih slinovnica (≥ 1 limfocitni fokus (50+ limfocita) / 4 mm ² žljezdanog tkiva)	3
Prisutnost anti-SSA (Ro) protutijela	3
"Ocular staining score" ≥ 5 barem jednog oka	1
Schirmerov test ≤ 5 mm/5 min barem jednog oka	1
Nalaz nestimulirane ukupne salivacije (≤ 0.1 ml/min)	1

Kriterij uključivanja su simptomi suhih očiju ili usta najmanje tri mjeseca (16). Ova je klasifikacija prilagođena kliničkim istraživanjima, dok se AECG klasifikacija koristi u istraživanjima i u kliničke svrhe. Za razliku od AECG klasifikacije nova ACR-EULAR klasifikacija temeljena je isključivo na objektivnim testovima te je pogodna za klasifikaciju pSS, dok su potrebna dodatna istraživanja koja bi potvrdila da je ova klasifikacija primjenjiva i za sSS (17).

Testovi objektivizacije sicca simptoma

Schirmerov test se lako izvodi na način da se sterilni papirić postavi u lateralnu trećinu donjeg kapka lijevog i desnog oka te se potom mjeri dužina vlažnog dijela papirića (17). Sijalometrija je zlatni standard, ali je potrebno određeno vrijeme za njegovo provođenje.

Razlikujemo količinu sveukupne stimulirane i nestimulirane sline. U AECG i ACR/EULAR količina sveukupne nestimulirane sline smatra se valjanim dijagnostičkim kriterijem, međutim njezino je lučenje pod značajnim utjecajem različitih faktora (dob, cirkadijani ritam, sobna temperatura, lijekovi, bolesti, tehnika prikupljanja uzorka) te mnogi autori predlažu korištenje sveukupne stimulirane sline kao mnogo pouzdaniju metodu (14, 18).

Laboratorijski testovi

Anti SS-A (Ro) i anti SS-B mogu se naći u 33-74 % i 23-52 % pacijenata te se smatraju najvažnijim imunološkim markerima SS-a. Pozitivan nalaz ovih antitijela korelira s ranim početkom bolesti, dužim trajanjem bolesti i težom zahvaćenosti žlijezda. Njihova je prisutnost također povezana i s ekstraplandularnim sistemskim manifestacijama i rizikom od neonatalnog lupusa (19). Nova je ACR/EULAR klasifikacija isključila izoliran pozitivan nalaz anti-SSB (La) kao kriterij s obzirom da se anti-SSA (Ro) protutijela obično detektiraju samostalno ili zajedno s anti-SSB (La), dok su nalazi pozitivnih anti-SSB (La) i negativnih anti-SSA (Ro) iznimno rijetki (17, 20). Ova su antitijela također prisutna i kod drugih bolesti vezivnog tkiva te čak i u zdravih pojedinaca (21). Drugi serološki poremećaji uključuju prisutnost reumatoidnog faktora (RF) (60-75 %) i nespecifičnih antinuklearnih antitijela (ANA) (22).

Histopatologija

Biopsija malih labijalnih žlijezda slinovnica (MLŽS) ima važnu ulogu u dijagnosticiranju SS-a preko 40 godina kada je prvi puta opisana (23, 24). Trenutno je najbolja metoda u dijagnozi žljezdane komponente SS-a, uglavnom zbog visoke specifičnosti (>80 %) i ograničene invazivnosti (25). Potrebno je uzeti uzorak tkiva koji treba sadržavati minimalno 4 žlijezde, iako minimalna površina od 8 mm² može sadržavati 2 do 3 žlijezde. Preporučeno je da uzorak sadržava što veći broj slinovnica jer one mogu biti atrofirane ili oštećene za vrijeme provođenja biopsije (26). Za pozitivan nalaz biopsije potreban je jedan ili više fokusa koji se nalaze uz intaktne acinuse bez proširenih kanala ili intersticijske fibroze. Fokus se definira kao agregat od minimalno 50 mononuklearnih stanica na 4mm² koji se nalaze periduktalno i perivaskularno (26, 27, 28).

Komponente upalnog infiltrata variraju ovisno o stupnju ozbiljnosti bolesti. Christodoulou i suradnici su pokazali da se postotak CD4 T-limfocita, B-limfocita i makrofaga

mijenja ovisno o tome da li je autoimuna bolest blaga, umjerena ili uznapredovala. Međutim, CD8 T-limfociti i stanice ubojice (engl. *Natural killer cells*, NK) ne variraju značajno. T-limfociti dominiraju u umjerenim, dok B-limfociti dominiraju u uznapredovanim lezijama (29).

Broj fokusa varira od 0 do 12 te on korelira s lokalnom i sistemskom aktivnosti bolesti. Prisutnost visokog broja fokusa odgovara oštećenju acinusa, prisutnosti ANA (12 puta je veća kada je broj fokusa >1 nego kada je <1) i prisutnosti specifičnih ekstraglandularnih obilježja kao što su: Raynaudov fenomen, vaskulitis, povećanje limfnih čvorova ili slezene te leukopenija (30, 31). Broj fokusa >1 također korelira s pozitivnim nalazom RF, prisutnošću keratokunjuktivis *siccom* i malom količinom sveukupne nestimulirane sline (28, 32). Također je potvrđeno da broj fokusa >3 ima značajnu prediktivnu vrijednost za razvoj non-Hodgkinova limfoma (NHL) B stanica (33). Iako jako važna u dijagnosticiranju SS-a, biopsija MLŽS u nekih pacijenata može biti negativna. Tada, ako postoji sumnja na SS, anti-SSA (Ro) antitijela bi trebala biti prisutna (34).

1.6. Terapija

U liječenju SS-a potreban je multidisciplinarni tim koji se sastoji od reumatologa/imunologa, oftalmologa i doktora dentalne medicine. Opsežna klinička istraživanja koja se bave terapijom SS-a su limitirana te stoga nedostaju točne smjernice u liječenju. Danas se koriste mnogu lijekovi koje možemo podijeliti na one koji se koriste u lokalnoj i sistemskoj terapiji.

Prevenција i lokalna terapija

Od esencijalne je važnosti izbjegavanje pušenja i alkohola kao i temeljito provođenje oralne higijene (35). Kseroftalmija se može ublažiti upotrebom umjetnih suza i očnih masti. Izraženija suhoća očiju se može tretirati 0,05 % ciklosporinom (36). Pacijentima s kserostomijom se preporuča stimuliranje lučenja sline npr. upotrebom žvakaće gume te pijenje dostatne količine tekućine (37).

Sistemska terapija

Lijekovi koji povećavaju lučenje sline su antagonisti muskarinskih receptora cevimelin i pilokarpin (37). Sistemska terapija je indicirana kada: a) primjena lokalne terapije i prilagodba načina života pacijenta nemaju utjecaj na opće simptome (npr. artalgija) i b) u slučaju zahvaćenosti organa. Nesteroidni protuupalni lijekovi (engl. *Non-steroidal anti-inflammatory drugs*, NSAID) imaju pozitivan učinak na opće simptome, kao što je artralgiya. Hidroksiklorokin (engl. *Hydroxychloroquine*, HCQ) je indiciran kada simptomi poprima kronični karakter. Zabilježeno je da pokazuje uspjeh kod pacijenata s artralgijom, međutim novija su istraživanja pokazala da ne smanjuje umor (38). U slučaju ozbiljnije zahvaćenosti organskih sustava potrebno je uključiti antireumatske lijekove koji modificiraju tijek bolesti (engl. *Disease-modifying anti-reumatic drugs* DMARD) ili glukokortikoide. Metotreksat (engl. *Methothrexate*, MTX) se uspješno primjenjuje kod RA te se stoga primjenjuje i u terapiji artritisa kod SS-a. Terapija glukokortikoidima je pretežno indicirana kod pojave ozbiljnih kožnih, plućnih, bubrežnih, muskuloskeletnih i/ili neuroloških simptoma (39). U slučaju neučinkovitosti glukokortikoida ili intolerancije na glukokortikoide zbog nuspojava i/ili reducirane doze potrebno je razmotriti uključivanje DMARD. Rituximab je monoklonsko protutijelo koje prepoznaje CD20 molekule na površini B stanica što dovodi do njihove deplecije. Njegovom upotrebom kroz šest mjeseci se ublažavaju žljezdani, zglobovi, bubrežni, neurološki i plućni simptomi kod 60 % pacijenata. Kao posljedica terapije rituximabom povećava se razina aktivirajućeg faktora B stanica (engl. *B cell activating factor*, BAFF) što se može spriječiti upotrebom anti-BAFF lijekova (belimumab) kako bi se postigla duža deplecija B stanica te duži terapijski učinak (40).

1.7. Prognoza

Prognoza SS je povoljna. Iako je rizik od smrtnosti veći, životni vijek je usporediv s onim opće populacije te on ovisi o prognozi primarne bolesti kod sSS-a. Međutim, kvaliteta života je narušena brojnim simptomima SS-a. Najčešći uzroci smrti jesu: kardiovaskularne bolesti, infekcije, solidni tumori i limfom (41).

2. CILJEVI I HIPOTEZE

Cilj ove studije bio je utvrditi točnost biopsije malih žlijezda slinovnica (MLŽS).

Specifični ciljevi istraživanja bili su:

- Utvrditi postoji li korelacija žarišnog fokusa (engl. *focus score*, FS) s anti-SSA (Ro), anti-SSB (La), anti-SSA (Ro) i anti-SSB (La), ANA, Qs i Qss;
- Odrediti i usporediti vrijednosti sveukupne nestimulirane (Qs) i stimulirane (Qss) sline u obje skupine ispitanika (SS i bolesnici koji imaju *sicca* simptome, ali ne zadovoljavaju ACR/EULAR klasifikacijske kriterije za dijagnozu);
- Usporediti korisnost Qs i Qss u obje skupine ispitanika.

Hipoteza ovog istraživanja je da biopsija MLŽS nije uvijek „pozitivna“ u bolesnika sa SS-om.

3. MATERIJALI I METODE

Ovo presječno istraživanje je provedeno u razdoblju od lipnja 2019. do lipnja 2022. godine u Stomatološkoj poliklinici Splitu, nastavnoj bazi Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (Klasa: 003-08/22-03/0003; Ur.br.: 2181-198-03-04-22-0057).

3.1. Ispitanici

U ovom je istraživanju sudjelovalo 37 ispitanika, 32 žene (86,5 %) i 5 muškaraca (13,5 %) u dobi od 27 do 84 godine. Svi ispitanici su upućeni na prvi specijalistički oralnomedicinski pregled sa suspektnom dijagnozom SS-a. Oni pacijenti koji nisu zadovoljavali ACR/EULAR dijagnostičke kriterije u ovoj su studiji označavali kontrolnu skupinu s obzirom da iz etičkih razloga nije bilo moguće uključiti zdrave ispitanike. Kriteriji uključanja bili su: pacijenti poslani od reumatologa ili izabranog stomatologa na daljnju obradu suspektog SS-a. Kriteriji isključenja bili su: prethodna radioterapija glave i vrata, hepatitis C, AIDS, limfom, sarkoidoza, bolest presatka protiv domaćina (engl. *Graft versus host disease*, GVHD), uzimanje antikolinergika i pušenje.

Svi su pacijenti dobrovoljno pristali sudjelovati u studiji te su prije potpisivanja informiranog pristanka bili detaljno upućeni u svrhu rada.

3.2. Metode prikupljanja podataka

Svim je ispitanicima uzeta opća i stomatološka anamneza. Utvrđena je subjektivna prisutnost simptoma suhih očiju i usta te su pacijenti podvrgnuti kliničkim i laboratorijskim pretragama.

Kvantifikacija sline određena je testom sijalometrije. Slina se sakupljala između 9 i 11 sati tijekom jutra. Prvim je mjerenjem određena Qs i to tako da su ispitanici 5 minuta izbacivali slinu u mjernu epruvetu koja je kalibrirana na 0,1 ml. Pozitivnim nalazom smatrana je abnormalna vrijednost $Qs \leq 0,1$ ml/min. Drugim je mjerenjem određena Qss na isti način nakon što su ispitanici promućkali te popili ili ispljunuli 1% otopinu vitamina C. Otopina vitamina C je napravljena otapanjem 1g askorbinske kiseline u 1 dcl vode. Pozitivnim nalazom smatrana je abnormalna vrijednost $Qss < 0,7$ ml/min.

Uzorci tkiva za patohistološku analizu MLŽS uzeti su ispod klinički zdrave mukoze donje usne. Pacijenti su bili anestezirani koristeći anestetik te je bio učinjen horizontalni rez dužine 1,5-2 cm koji je paralelan s vermilionom usne. Ova je metoda najčešće korištena te je učestalost komplikacija manja od 1 % (42, 43, 44). Ekscidirano je četiri do šest malih žlijezda slinovnica. Uzorci su zatim uloženi u posudu s 10 % formaldehidom te poslani na daljnje ispitivanje u Klinički zavod za sudsku medicinu, patologiju i citologiju, KBC Split.

Laboratorijskim testovima te očitavanjem laboratorijskih nalaza je određen titar protutijela anti-SSA (Ro-52), anti SSA (Ro-60) , anti-SSB i ANA. Pozitivnim nalazom anti-SSA+SSB protutijela smatran je nalaz istodobno povišene vrijednosti anti-SSA i anti-SSB protutijela.

3.3. Statistička obrada podataka

Dobiveni podatci uneseni su u prethodno kreiranu tablicu u programu Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, SAD) te su statistički obrađeni i izračunate su osjetljivost, specifičnost i točnost biopsije MLŽS. Analiza je rađena u statističkom programu SPSS Statistics (25, IBM, Armonk, New York). Demografske karakteristike ispitanika prezentiraju se tablično te se razlika u zastupljenosti ispitanika obzirom na pojedinu demografsku karakteristiku ispituje Fisher egzaktnim i Mann Whitney U testom pri razini značajnosti $P < 0,05$. Zaključak o povezanosti između FS-a i Qs te između FS-a i Qss je donesen temeljem Pearsonovog koeficijenta korelacije kojom se utvrđuje u kojoj su mjeri promjene vrijednosti jedne varijable povezane s promjenama vrijednosti druge varijable. Vrijednost korelacije se iskazuje koeficijentom korelacije (r), dok se značajnost koeficijenta iskazuje vrijednošću P . Nadalje povezanost između FS-a i anti-SSA (Ro 60), anti-SSA (Ro 52), anti-SSB (La) protutijelima, ANA i anti-SSA+SSB protutijelima je ispitana Fisherovim egzaktnim testom. Opravdanost upotrebe Fisherovog egzaktnog testa proizlazi iz kvalitativnog obilježja podataka (nominalno obilježje) s malim frekvencijama.

4. REZULTATI

U istraživanju je sudjelovalo 37 ispitanika, od kojih 32 žene i 5 muškaraca u dobi od 27 do 84 godine. U obje promatrane skupine veći je broj pacijentica u odnosu na pacijente. Ispitivanjem nije utvrđena razlika u spolu pacijenata obzirom na skupinu ($P = 0,312$) (Tablica 3).

Tablica 3. Demografski podaci ispitanika.

Karakteristika	Ispitna skupina n (%)	Kontrolna skupina n (%)	Ukupno n (%)
Broj ispitanika	15 (40,5)	22 (59,5)	37 (100)
Dob, medijan (IQR)	62,0 (50,0-70,0)	68,0 (45,0 - 76,0)	
Spol	Muškarac	1 (6,67)	4 (18,12)
	Žena	14 (93,33)	18 (81,8)
			5 (13,5)
			32 (86,5)

Četiri bolesnika u ispitnoj i dva bolesnika u kontrolnoj skupini su imala prisutna anti-SSA (Ro60) protutijela. Isti su rezultati dobiveni i za anti-SSA (Ro52) antitijela. Dva SS bolesnika i jedan bolesnik kontrolne skupine su imali prisutna anti-SSB (La) protutijela. Ispitivanjem nije utvrđena razlika u prisutnosti anti-SSA (Ro60) ($P = 0,166$), anti-SSA (Ro52) ($P = 0,166$) i anti-SSB (La) ($P = 0,356$) protutijela između ispitne i kontrolne skupine (Tablica 4).

Tablica 4. Prisutnost antitijela (anti-SSA (Ro 60), anti-SSA (Ro 52) i anti-SSB) u ispitnoj i kontrolnoj skupini.

		Kontrolna skupina (N=22)	Ispitna skupina (N=15)	P^*
		n (%)	n (%)	
Anti-SSA (Ro 60)	+	2 (9,1)	4 (26,7)	0,166
	-	20 (9,1)	11 (73,3)	
Anti-SSA (Ro52)	+	2 (9,1)	4 (26,7)	0,166
	-	20 (9,1)	11 (73,3)	
Anti-SSB	+	1 (4,5)	2 (13,3)	0,356
	-	21 (95,5)	13 (86,7)	

*Fisher egzaktni test.

Srednja vrijednost FS-a je 1,0 u ispitnoj skupini (IQR = 1,0-1,5), dok je u kontrolnoj skupini 0,0 (IQR = 0,0-0,0). Ispitivanjem je utvrđena statistički značajna razlika u vrijednosti FS-a između ispitne i kontrolne skupine ($P \leq 0,001$) (Tablica 5).

Tablica 5. Vrijednost FS-a prema skupinama.

	Kontrolna skupina (N=22) Medijan (IQR)	Ispitna skupina (N=15) Medijan (IQR)	P*
FS	0,0 (0,0-0,0)	1,0 (1,0-1,5)	<0,001

*Mann-Whitney U test.

Srednja vrijednost Qs kontrolne skupine je 0,1 ml/min (IQR = 0,0-0,2), dok je srednja vrijednost Qs ispitne skupine 0,0 ml/min (IQR = 0,0-0,2). Srednja vrijednost Qss kontrolne skupine je 0,3 ml/min (IQR = 0,2-0,5), dok je srednja vrijednost Qss sline ispitne skupine 0,2 ml/min (IQR = 0,0-0,4). Ispitivanjem nije utvrđena razlika u Qs ($P = 0,350$) i Qss ($P = 0,249$) obzirom na skupinu (Tablica 6).

Tablica 6. Vrijednosti Qs i Qss prema skupinama.

	Kontrolna skupina (N=22) Medijan (IQR)	Ispitna skupina (N=15) Medijan (IQR)	P*
Qs	0,1 (0,0-0,2)	0,0 (0,0 - 0,2)	0,350
Qss	0,3 (0,2-0,5)	0,2 (0,0-0,4)	0,249

*Mann-Whitney U test.

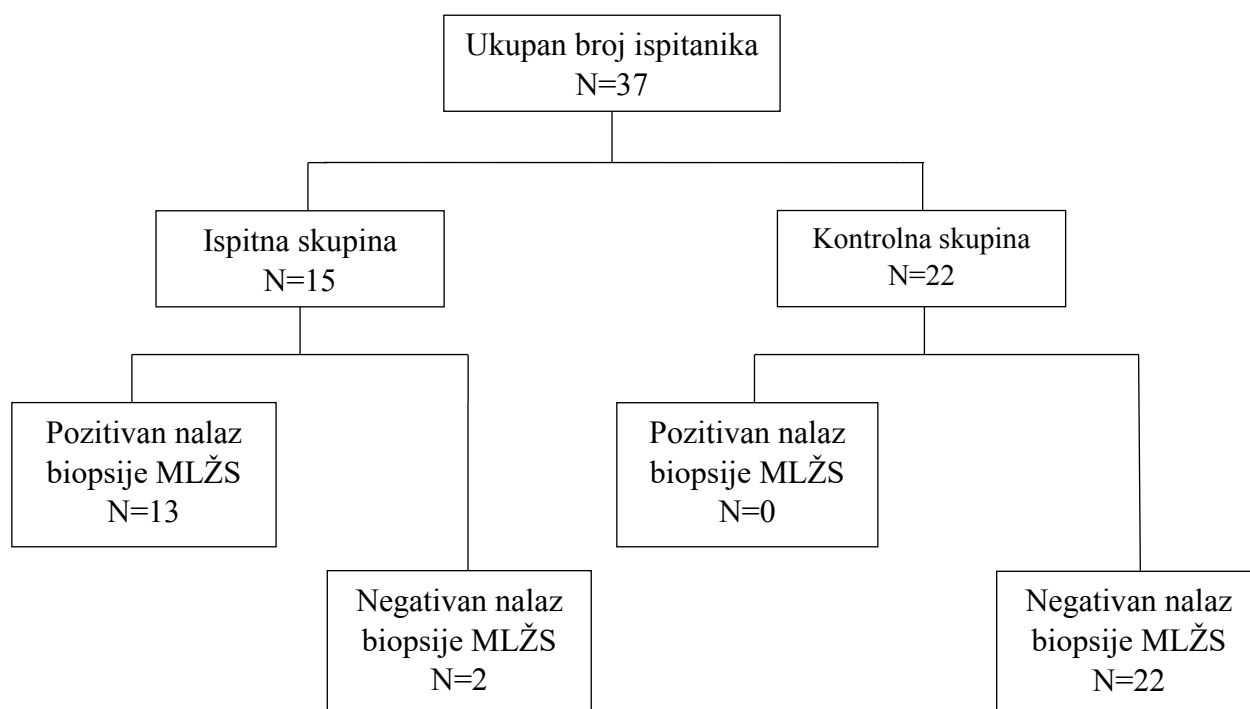
U ispitnoj skupini 11 bolesnika (73,3 %) je imalo abnormalne vrijednosti Qs, dok je abnormalan nalaz Qss imalo 13 bolesnika (86,7 %) (Tablica 7). Unutar ispitne skupine je 9 (60 %) pacijenata imalo nalaz Qs = 0,0 ml/min, dok je taj broj za nalaz Qss = 0,0 ml/min bio 4 (26,7 %) pacijenta.

Tablica 7. Vrijednosti Qs i Qss prema skupinama.

		Kontrolna skupina (N=22) n (%)	Ispitna skupina (N=15) n (%)	P
Qs	+	13 (59,1)	11 (73,3)	0,373*
	-	9 (40,9)	4 (26,7)	
Qss	+	22 (100,0)	13 (86,7)	0,158**
	-	0 (0,0)	2 (13,3)	

* χ^2 kvadrat test; **Fisher egzaktni test.

Nalaz biopsije MLŽS je bio pozitivan kod 13 pacijenata sa SS-om, dok je on bio negativan kod 24 pacijenta (dva pacijenta su imala dijagnozu SS-a, a 22 nisu) (Slika 1). Izračunata osjetljivost, specifičnost i točnost iznosili su 86,7 %, 100 % i 94,6 %.



Slika 1. Dijagram toka - rezultati nalaza biopsije MLŽS.

60,2% ispitanika s $FS \geq 1$ je imalo pozitivan nalaz ANA u odnosu na 14,3% ispitanika s $FS=0$. Ispitivanjem je utvrđena statistički značajna razlika u ANA obzirom na FS ($P = 0,002$). Razlika kod ostalih varijabli nije utvrđena ($P > 0,05$) (Tablica 8).

Tablica 8. Korelacija FS-a i anti-SSA (Ro 60), anti-SSA (Ro 52), anti-SSB (La) protutijelima, ANA i anti-SSA+SSB protutijelima.

		Uzorak			<i>P</i> *
		FS=0 N=21	FS<1 N=3	FS≥1 N=13	
Anti-SSA (Ro 60)	+	3 (14,3)	1 (33,3)	2 (15,4)	0,647
	-	18 (85,7)	2 (66,7)	11 (84,6)	
Anti-SSA (Ro52)	+	3 (14,3)	1 (33,3)	2 (15,4)	0,647
	-	18 (85,7)	2 (66,7)	11 (84,6)	
Anti-SSB (La)	+	2 (9,5)	1 (33,3)	0 (0,0)	0,374
	-	19 (90,5)	2 (66,7)	13 (100,0)	
ANA	+	3 (14,3)	1 (33,3)	9 (69,2)	0,002
	-	18 (85,7)	2 (66,7)	4 (30,8)	
Anti-SSA+SSB	+	2 (9,5)	1 (33,3)	0 (0,0)	0,374
	-	19 (90,5)	2 (66,7)	13 (100,0)	

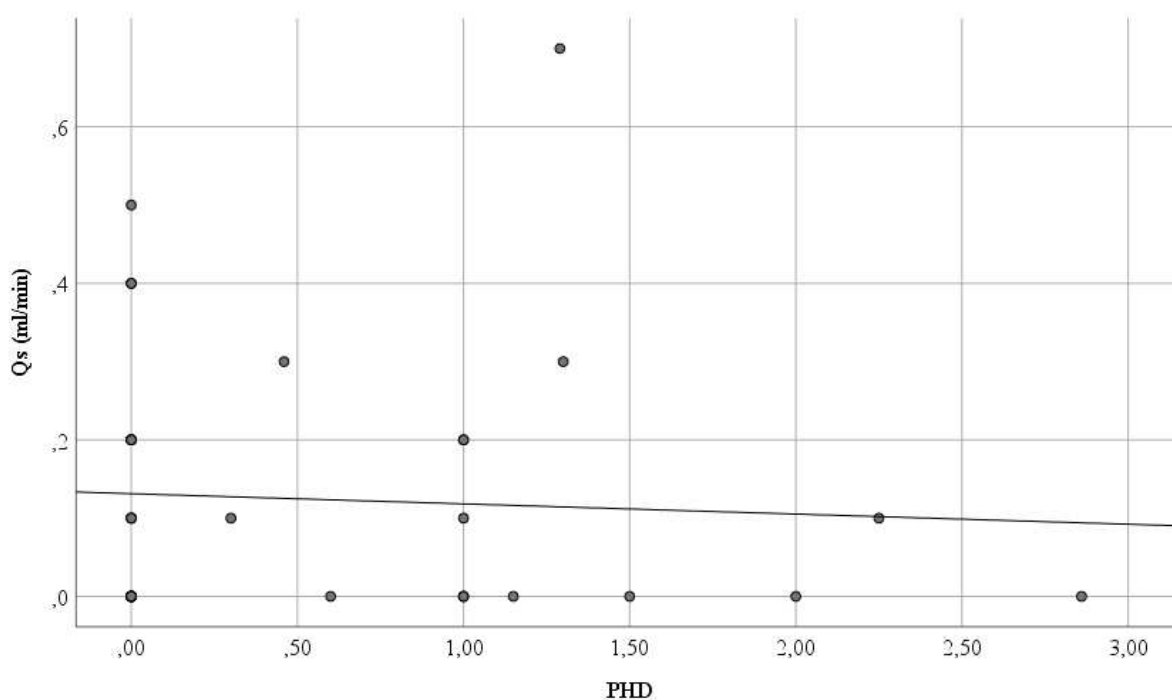
*Fisher egzaktni test, usporedba između FS pozitivnih i pacijenata bez FS-a.

Korelacijom je utvrđena slaba, negativna i statistički neznačajna povezanost žarišnog zbira i Qs ($P=0,731$) (Tablica 9).

Tablica 9. Perasonova korelacija FS-a i Qs.

		Qs (ml/min)
FS	Pearson Correlation	-0,058
	Sig. (2-tailed)	0,731
	N	37

Na Slici 2 je vidljivo da porast FS-a prati pad QS.



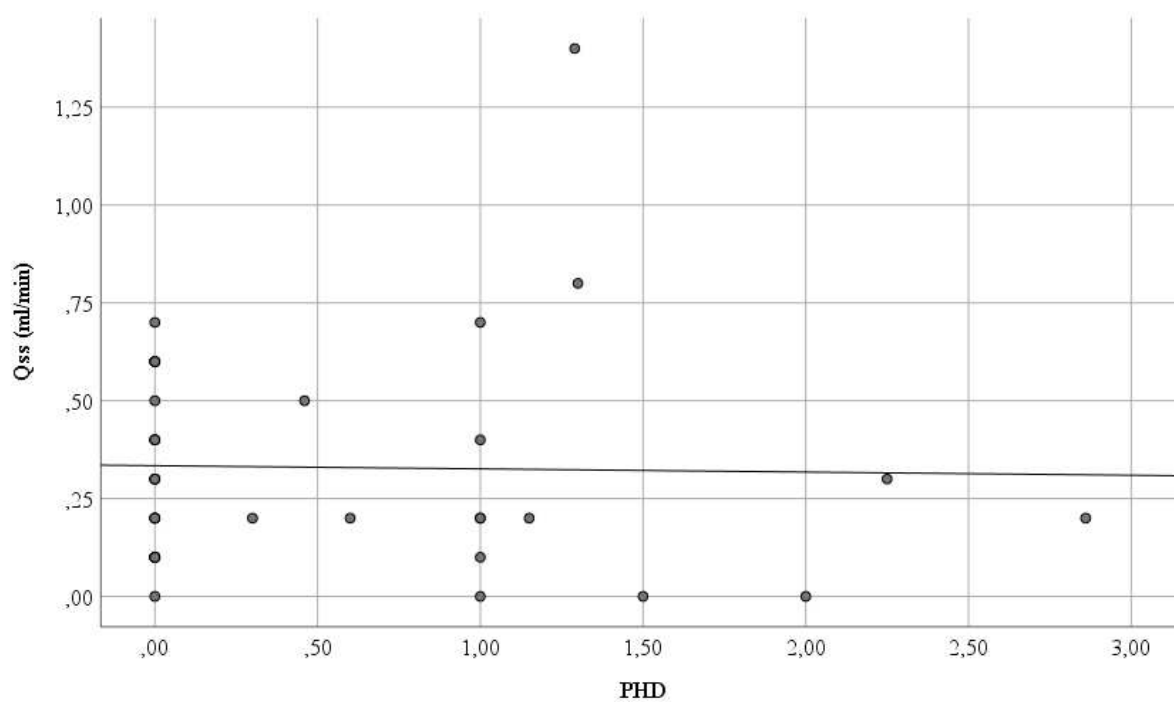
Slika 2. Odnos FS-a (PHD) i Qs.

Korelacijom je utvrđena slaba, negativna i statistički neznačajna povezanost žarišnog zbira i Qss ($P = 0,899$) (Tablica 10).

Tablica 10. Perasonova korelacija FS-a i Qss.

		Qss (ml/min)
FS	Pearson Correlation	-0,022
	Sig. (2-tailed)	0,899
	N	37

Na Slici 3 je vidljivo kako porast PHD (FS) prati pad Qss.



Slika 3. Odnos FS-a (PHD) i Qss.

5. RASPRAVA

Cilj ove presječne studije bio je odrediti točnost biopsije MLŽS u dijagnozi SS-a. Iako je biopsija MLŽS najtočniji dijagnostički postupak u klasifikaciji SS-a prema ACR/EULAR kriterijima, hipoteza da ona nije uvijek točna je u ovom istraživanju potvrđena (45).

Ukupan broj od 37 ispitanika bio je podijeljen u dvije skupine. Ispitnu skupinu je sačinjavalo 15 (40,5 %) pacijenata koji su zadovoljavali ACR/EULAR klasifikacijske kriterije za SS, dok su oni koji nisu zadovoljili kriterije svrstani u kontrolnu skupinu koja je sadržavala 22 (59,5 %) pacijenata. Ukupno je 13 pacijenata u ispitnoj skupini imalo pozitivan nalaz biopsije MLŽS, dok je kod dva pacijenta nalaz bio negativan. Ovakvi rezultati pokazuju visoku točnost biopsije (94,6 %) što je sukladno podacima navedenim u literaturi (89 %) (45). Ipak, točnost biopsije nije bila 100 % što potvrđuje hipotezu ove studije da biopsija MLŽS nije uvijek točna. Samo je nekoliko objavljenih studija prikazalo dijagnostičku vrijednost biopsije MLŽS. Većina su bile retrospektivne analize, a evaluacija i točnost biopsije im nisu bili glavni cilj. Studija Liquidato i suradnika dobila je rezultate nešto manje točnosti (79 %) od onih navedenih u literaturi (13). Druga studija Giovelli i suradnika prikazala je točnost biopsije od 93,3 % što je u skladu s rezultatima našeg istraživanja (46).

U literaturi je biopsija MLŽS opisana kao pretraga visoke osjetljivosti (82,4 %) i specifičnosti (86,2 %) (25). Studija Liquidato i suradnika prikazala je rezultate gdje je osjetljivost bila niža (72 %) dok je specifičnost bila slična (83,8 %) (13). Istraživanje provedeno od strane Giovelli i suradnika dobila je sljedeće rezultate osjetljivosti i specifičnosti i biopsije: 86,6 % i 97,4 % što je sukladno našim rezultatima (46). Slična studija Edelstein i suradnika pokazala je osjetljivost od 63,5-93,7 % i specifičnost od 61,2-100 % (47). Rezultati našeg istraživanja pokazali su da je osjetljivost biopsije MLŽS 86,7 %. Ni jedan pacijent u kontrolnoj skupini nije imao pozitivan nalaz biopsije MLŽS, odnosno specifičnost je 100 %. Rezultati navedenih studija se vjerojatno razlikuju zbog različitog broja ispitanika koji su uključeni u studiju, međutim sva su istraživanja dokazala visoku osjetljivost i specifičnost pretrage.

Točnost biopsije kompromitirana je nemogućnošću ponavljanja istih rezultata. Razlog tomu je raspršenost limfocitnog infiltrata zbog čega uzorkovanje i interpretacija neadekvatnog područja može dovesti do pogrešnih rezultata pretrage. Rezultat također ovisi i o samom patologu pa tako čak 12,6 % slučajeva prilikom druge evaluacije od strane drugog patologa dovodi do promjene dijagnoze (48). Fisher i suradnici naglasili su potrebu za standardizacijom histopatološke interpretacije, od uzimanja uzorka, njegove obrade do interpretacije limfocitnog fokusa (49). Interpretaciju također može otežati ili onemogućiti vrlo gust limfocitni infiltrat jer je tada teško razlučiti pojedine fokuse i odrediti njihov broj (50).

Neki autori također preispituju točnost biopsije MLŽS navodeći da je limfocitni infiltrat prisutan i u drugih stanja kao što su sijaloadenitis, granulomatozna upala, atrofija acinusa, intestinalna fibroza i dilatacija duktusa. Sva navedena stanja su relativno česta, a njihova se incidencija povećava sa starošću (51, 52).

Među 37 interpretiranih histopatoloških nalaza, njih 21 imalo je FS nula (56,8 %), tri FS <1 (8,1 %) i 13 FS \geq 1 (35,1 %). Cilj naše studije bio je utvrditi postoji li korelacija FS-a s anti-SSA (Ro), anti-SSB (La), anti-SSA+SSB antitijelima, ANA, Qs i Qss.

U ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika anti-SSA (Ro 60), anti-SSA (Ro 52) i anti-SSB (La) protutijela s obzirom na FS ($P = 0,647$, $P = 0,647$ i $P = 0,374$). U istraživanju Daniels i suradnika analizirano je 1726 histopatoloških uzoraka MLŽS pacijenata upisanih u SICCA registar (28). U svom istraživanju su prikazali korelaciju FS-a s nalazom anti-SSA ili anti-SSB za razliku od ovog istraživanja gdje je ispitana korelacija FS-a s pojedinim antitijelima. Rezultati Daniels i suradnika pokazali su statistički značajnu povezanost anti-SSA/-SSB obzirom na FS ($P < 0,001$). Među pozitivnim anti-SSA/-SSB pacijentima, njih 76 % imalo je FS \geq 1, odnosno pacijenti s pozitivnim antitijelima imali su devet puta veću šansu za FS >1 (28). Studija Sharma i suradnika koja je uključivala 229 ispitanika s dijagnozom pSS pokazala je da oni pacijenti s FS = 0 imaju manju šansu za pozitivan nalaz anti-SSB protutijela od onih s FS \geq 1 (34). Razlika u dobivenim rezultatima može se objasniti različitim brojem ispitanika koji su uključeni u studiju tj. malim uzorkom naših ispitanika.

Također u ovom istraživanju nije utvrđena statistički značajna razlika anti-SSA+SSB protutijela obzirom na FS. Pretraživanjem literature nismo pronašli nijednu studiju koja je poput naše istraživala korelaciju FS-a i nalaza anti-SSA+SSB protutijela.

Rezultati istraživanja Daniels i suradnika navode da je 72 % ispitanika s pozitivnim nalazom ANA imalo FS \geq 1, odnosno pokazana je statistički značajna razlika ANA obzirom na FS ($P < 0,001$) (28). Slični su rezultati prikazani i u ovom istraživanju, 69,2 % ispitanika s pozitivnim nalazom ANA je imalo FS \geq 1 te je također utvrđena statistički značajna razlika ANA obzirom na FS ($P = 0,002$).

Ovim istraživanjem pokazana je slaba, negativna i statistički neznačajna korelacija Qs i Qss obzirom na FS ($P = 0,731$ i $P = 0,899$). Bookman i suradnici su u svojem istraživanju koje je uključivalo 332 ispitanika dokazali značajnu korelaciju između Qss i FS-a ($P < 0,001$), dok je manje značajna korelacija bila između Qs i FS-a ($P = 0,031$) (53). Daniels i suradnici u rezultatima pokazuju da oni pacijenti s Qs <1 imaju 2 puta više šanse za FS \geq 1, odnosno također

je pokazana značajna korelacija između Qs i FS-a. Oni međutim, nisu uspoređivali vrijednosti Qss s FS-om (28). Rezultati dobiveni istraživanjem koje su proveli Sharma i suradnici nisu pokazali korelaciju između Qs i FS-a međutim, ova studija je uključivala samo pacijente s dijagnozom pSS što može biti razlog ovakvom rezultatu (34). Liquidato i suradnici također navode da ne postoji nikakva korelacija između Qs i FS-a (13).

Srednja vrijednost Qs kontrolne skupine je 0,1 ml/min (IQR = 0,0-0,2), dok je srednja vrijednost Qs ispitne skupine 0,0 ml/min (IQR = 0,0-0,2). Srednja vrijednost Qss kontrolne skupine je 0,3 ml/min (IQR = 0,2-0,5), dok je srednja vrijednost Qss slin ispitne skupine 0,2 ml/min (IQR = 0,0-0,4). Ispitivanjem nije utvrđena razlika u Qs ($P = 0,350$) i Qss ($P = 0,249$) obzirom na skupinu. Studija Alvarino i suradnika pokazala je slične srednje vrijednosti Qs i Qss ispitne skupine (0,07 i 0,38) koja je uključivala 103 pacijenta. Srednje vrijednosti Qs i Qss kontrolne skupine se razlikuju (0,33 i 1,2) jer je njihova kontrolna skupina od 50 ispitanika uključivala samo zdrave pojedince bez simptoma suhih usta (54). Bookman i suradnici u rezultatima navode da je 57,9 % kontrolne skupine i 82,4 % ispitne skupine imalo abnormalne vrijednosti Qs. Slični rezultati dobiveni su i u ovom istraživanju (59,1 % i 73 %). Rezultati Qss se značajno razlikuju od rezultata dobivenih našim istraživanjem. Unutar kontrolne i ispitne skupine 15,2 % i 61,8 % ispitanika je imalo abnormalne vrijednosti Qss (53). Našim istraživanjem dobiveni su sljedeći rezultati: 100 % kontrolne i 86,7 % ispitne skupine imalo je abnormalne vrijednosti Qss. Ovakva se razlika vjerojatno može objasniti različitim kriterijima za abnormalan nalaz Qss. Oni su smatrali da je vrijednost Qss abnormalna ako je ona iznosila $<0,6$, dok je naša vrijednost iznosila 0,7. Studije se također razlikuju i u metodi skupljanja slin. U studiji Bookman i suradnika slina je sakupljena tijekom 1 minute, dok je u našoj studiji prikupljena tijekom 5 minuta. Koristeći Qs 60 % pacijenata s dijagnozom SS-a je imalo nalaz 0,0 ml/min, dok je 26,7 % pacijenta imalo takav rezultat kada smo koristili Qss. U istraživanju Alvarino i suradnika ti su postotci iznosili 35,9 % i 11,7 % (54). Razlika u dobivenim rezultatima je vjerojatno posljedica različitog broja ispitanika koji su uključeni u studiju. Međutim, rezultati obje studije ukazuju na veću korisnost Qss u odnosu na Qs u dijagnostici SS-a. U našem istraživanju nismo uspoređivali bolesnike s pSS i sSS jer su brojna istraživanja pokazala da njihovo razlikovanje nije nužno što se tiče Qs i Qss (54).

Ovo istraživanje ima i određeni broj limitirajućih čimbenika koji mogu utjecati na rezultat. Glavno ograničenje ove studije je mali broj ispitanika. Nadalje, točnost rezultata dobivenih biopsijom je ograničena zbog nemogućnosti ponavljanja biopsije MLŽS. Također, ograničenje predstavlja činjenica da zbog etičkih razloga kontrolnu skupinu ne mogu sačinjavati zdravi

pojedinci već pacijenti sa suspektnom dijagnozom SS-a. Dakle, za postizanje točnijih rezultata potrebno je uključiti veći broj ispitanika i standardizirati biopsiju MLŽS kao i metode sakupljanja sline.

6. ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata dobivenih istraživanjem možemo izvesti sljedeće zaključke:

- Iako biopsija MLŽS ima veliku dijagnostičku vrijednost u dijagnozi SS-a te pokazuje veliku točnost, ona nije uvijek točna;
- Nije dokazana povezanost između FS-a i anti-SSA (Ro 60), anti-SSA (Ro 52), anti-SSB (La) protutijelima i anti-SSA+SSB protutijelima;
- Pokazana je statistički značajna povezanost između FS-a i ANA;
- Ovim istraživanjem pokazana je slaba, negativna i statistički neznačajna korelacija Qs i Qss obzirom na FS;
- Ispitivanjem nije utvrđena razlika u Qs i Qss obzirom na skupinu;
- Pokazana je veća korisnost Qss u odnosu na Qs.

7. LITERATURA

1. Segal BM, Pogatchnik B, Holker E. Primary Sjogren's syndrome: cognitive symptoms, mood and cognitive performance. *Acta Neurol Scand.* 2012;125:271-8.
2. Blochowiak K, Olewicz-Gawlik A, Polanska A, Nowak-Gabryel M, Kocięcki J, Witmanowski H i sur. Oral mucosal manifestations in primary and secondary Sjögren syndrome and dry mouth syndrome. *Adv Dermatol Allergol.* 2016;33:23-7.
3. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, Dietrich T, Burmester GR, Dörner T. The diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114:354-61.
4. Lessard CJ, Li H, Adrianto I, Ice JA, Rasmussen A, Grundahl KM i sur. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjogren's syndrome. *Nat Genet.* 2013;11:1284-92.
5. Tapinos NI, Polihronis M, Tzioufas Ag, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome. Autoimmune epithelitis. *Adv Exp Med Biol.* 1999;455:127-34.
6. González S, Aguilera S, Alliende C, Urzúa U, Quest AF, Herrera L i sur. Alterations in type I hemidesmosome components suggestive of epigenetic control in the salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2011;63:1106-15.
7. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun.* 2010;34:400-7.
8. Tresivani VFM, Pasoto SG, Fernandes MLMS, Lopes MLL, de Magalhães Souza Fialho SC, Pinheiro AC i sur. Recommendations from the Brazilian society of rheumatology for the diagnosis of Sjogren's syndrome (part I): glandular manifestations (systematic review). *Adv Reumatol.* 2019;59(58):1-7.
9. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM i sur. Preliminary criteria for Sjögren's Syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum.* 1993;36:340-7.
10. Fox PC, Bowman SJ, Segal B, Chouieri K, Ogale S, McLean L i sur. Oral involvement in primary Sjögren syndrome. *J Am Dent Assoc.* 2008;139:1592-601.
11. Serrano J, López-Pintor RM, González-Serrano J, Fernández-Castro M, Casañas E, Hernández G. Oral lesions in Sjögren's syndrome: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2018;23(4):391-400.
12. Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Solans R. Systemic involvement in primary Sjögren's syndrome evaluated by the EULAR-SS disease activity index: analysis of 921 Spanish patients (GEAS-SS Registry). *Rheumatology (Oxford).* 2014;53:321-31.

13. Liquidato BM, Bussoloti Filbo I. Evaluation of sialometry and minor gland biopsy in classification of Sjogren's Syndrome patients. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2005;71(3):346-54.
14. Cornec D, Devauchelle-Pensec V, Saraux A, Jousse-Joulin S. Clinical usefulness of salivary gland ultrasonography in Sjögren's syndrome: where are we now? *Rev Med Interne.* 2016;37:186-94.
15. Rasmussen A, Ice JA, Li H, Grundahl K, Kelly JA, Radfar L, Stone DU. Comparison of the American and European Consensus Group Sjogren's syndrome classification criteria to newly proposed American College of Rheumatology criteria in a large, carefully characterised sicca cohort. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(1):31-8.
16. Jonsson R, Brokstad KA, Jonsson MV, Delaleu N, Skarstein K. Current concepts on Sjogren's syndrome – classification criteria and biomarkers. *Eur J Oral Sci.* 2018;126(1):37-48.
17. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM i sur. 2016 American college of rheumatology/European league against rheumatism classification criteria for primary Sjogren's syndrome: a consensus and data-driven methodology involving three international patient cohorts. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69(1):35-45.
18. Lacombe V, Lacout C, Lozac'h P, Ghali A, Gury A, Lavigne C i sur. Unstimulated whole saliva flow for diagnosis of primary Sjögren's syndrome: time to revisit the threshold? *Arthritis Res Ther.* 2020;22:38.
19. Nardi N, Brito-Zeron P, Ramos-Casals M, Aguilo S, Cervera R, Ingelmo M i sur. Circulating auto- antibodies against nuclear and non-nuclear antigens in primary Sjögren's syndrome: prevalence and clinical significance in 335 patients. *Clin Rheumatol.* 2006;25:341-6.
20. Franceschini F, Cavazzana I, Andreoli L, Tincani A. The 2016 classification criteria for primary Sjogren's syndrome: what's new? *BMC Med.* 2017;15(1):69.
21. Shen L, Suresh L. Autoantibodies, detection methods and panels for diagnosis of Sjogren's syndrome. *Clin Immunol.* 2017;182:24-9.
22. Gottenberg JE, Seror R, Miceli-Richard C, Benessiano J, Devauchelle-Pensec V, Dieude P i sur. Serum levels of beta2-microglobulin and free light chains of immunoglobulins are associated with systemic disease activity in primary Sjögren's syndrome. Data at enrollment in the prospective ASSESS cohort. *PLoS One.* 2013;8:59868.

23. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjogren's disease. *J Clin Pathol.* 1968;21:656-60.
24. Greenspan JS, Daniels TE, Talal N, Sylvester RA. The histopathology of Sjogren's syndrome in labial salivary gland biopsies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974;37:221-9.
25. Vitali C, Moutsopoulos HM, Bombardieri S. The European Community study group on diagnostic criteria for Sjogren's syndrome. Sensitivity and specificity of tests for ocular and oral involvement for Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 1994;53:637-47.
26. Fisher BA, Jonsson R, Daniels T, Bombardieri M, Brown RM, Morgan P i sur. Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017;76:1161-8.
27. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM i sur. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017;76:9-16.
28. Daniels TE, Cox D, Shiboski CH, Schiødt M, Wu A, Lanfranchi H i sur. Associations between salivary gland histopathologic diagnoses and phenotypic features of Sjögren's syndrome among 1,726 registry participants. *Arthritis Rheum.* 2011;63:2021-30.
29. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun.* 2010;34:400-7.
30. Greenspan JS, Daniels TE, Talal N, Sylvester RA. The histopathology of Sjogren's syndrome in labial salivary gland biopsies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974;37(2):217-29.
31. Gerli R, Muscat C, Giansanti M, Danieli MG, Sciuto M, Gabrielli A i sur. Quantitative assessment of salivary gland inflammatory infiltration in primary Sjogren's syndrome: its relationship to different demographic, clinical and serological features of the disorder. *Br J Rheumatol.* 1997;36(9):969-75.
32. Haldorsen K, Moen K, Jacobsen H, Jonsson R, Brun JG. Exocrine function in primary Sjogren syndrome: natural course and prognostic factors. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(7):949-54.
33. Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JW. Clinical features distinguishing lymphoma development in primary Sjogren's Syndrome – a retrospective cohort study. *Sem Arthritis Rheum.* 2013;43(2):171-7.

34. Sharma R, Chaudhari KS, Kurien BT, Grundahl K, Radfar L, Lewis DM i sur. Sjögren syndrome without focal lymphocytic infiltration of the salivary glands. *J Rheumatol.* 2020;47:394-9.
35. Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjogren syndrome. *Arch Intern Med.* 2004;164:1275-84.
36. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology.* 2000;107:631-9.
37. Price EJ, Rauz S, Tappuni AR, Sutcliffe N, Hackett KL, Barone F i sur. The British Society for Rheumatology guideline for the management of adults with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology.* 2017;56(10):1643-7.
38. Fox RI, Dixon R, Guarrasi V, Krubel S. Treatment of primary Sjogren's syndrome with hydroxychloroquine: a retrospective, open-label study. *Lupus.* 1996; 5(1):31-6.
39. Saraux A, Pers JO, Devauchelle-Pensec V. Treatment of primary Sjogren syndrome. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:456-71.
40. Pollard RP, Abdulahad WH, Vissink A, Hamza N, Burgerhof JG, Meijer JM i sur. Serum levels of BAFF, but not APRIL, are increased after rituximab treatment in patients with primary Sjogren's syndrome: data from a placebo-controlled clinical trial. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:146-8.
41. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, Dietrich T, Burmester GR, Dörner T. The diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114:354-61.
42. Fisher BA, Jonsson R, Daniels T, Bombardieri M, Brown RM, Morgan P i sur. Sjögren's histopathology workshop group (appendix) from ESSENTIAL (EULAR Sjögren's syndrome study group). Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(7):1161-1168.
43. Guellec D, Cornec D, Jousse-Joulin S, Marhadour T, Marcorelles P, Pers JO i sur. Diagnostic value of labial minor salivary gland biopsy for Sjögren's syndrome: a systematic review. *Autoimmun Rev.* 2013;12(3):416-20.
44. Varela-Centelles P, Seoane-Romero JM, Sánchez M, Gonzalez- Mosquera A, Diz-Dios P, Seoane J. Minor salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome: a review and introduction of a new tool to ease the procedure. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014;19(1):20-3.

45. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Coll J, Gerli R, Hatron PY. The European Community Study Group On Diagnostic Criteria For Sjögren's Syndrome. Assessment of the European classification criteria for Sjögren's syndrome in a series of clinically defined cases: results of a prospective multicentre study. *Ann Rheum Dis.* 1996;55:116-21.
46. Giovelli RA, Santos MC, Serrano ÉV, Valim V. Clinical characteristics and biopsy accuracy in suspected cases of Sjögren's syndrome referred to labial salivary gland biopsy. *BMC Musculoskeletal Disorders.* 2015;16:30.
47. Edelstein R, Kilipiris GE, Machalekova K, Mouzalini E, Slobodianuk A, Javorka V. Accuracy of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of Sjögren syndrome. *Bratisl Med J.* 2021;122(7):454-60.
48. Costa S, Quintin-Roue I, Lesourd A, Jousse-Joulin S, Berthelot JM, Hachulla E i sur. Reliability of histopathological salivary gland biopsy assessment in Sjogren's syndrome: a multicentre cohort study. *Rheumatology.* 2015;54(6):1056-64.
49. Kiadaliri AA, Mohammad AJ, Englund M. Hospitalizations due to systemic connective tissue diseases: Secular trends and regional disparities in Sweden, 1998–2016. *Int J Rheum Dis.* 2018;21(11):1900.
50. Gomes P, Juodzbaly G, Fernandes MH, Guobis Z. Diagnostic Approaches to Sjögren's syndrome: a Literature Review and Own Clinical Experience. *J Oral Maxillofac Res* 2012;3(1):e3.
51. Lindahl G, Hedfors E. Lymphocytic infiltrates and epithelial HLADR expression in lip salivary glands in connective disease patients lacking sicca: a prospective study. *Br J Rheumatol.* 1989;28:293-8.
52. Daniels TE, Aufdemorte TB, Greenspan JS. Histopathology of Sjögren's syndrome. U: Talal N, Moutsopoulos HM, Kassan SS, urednici. *Sjögren's syndrome: clinical and immunological aspects.* Berlin: Springer-Verlag, 1987. str. 41-52.
53. Bookman AA, Shen H, Cook RJ, Bailey D, McComb RJ, Rutka JA i sur. Whole stimulated salivary flow: correlation with the pathology of inflammation and damage in minor salivary gland biopsy specimens from patients with primary Sjogren's syndrome but not patients with sicca. *Arthritis Rheum.* 2011;63:2014-20.
54. Alvariño C, Bagan L, Murillo-Cortes J, Calvo J, Bagan J. Stimulated whole salivary flow rate: The most appropriate technique for assessing salivary flow in Sjögren syndrome. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2021;26(3):e404-7.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Cilj ove studije bio je odrediti točnost biopsije malih labijalnih žlijezda slinovnica u dijagnozi SS. Specifični ciljevi istraživanja bili su: utvrditi postoji li korelacija FS-a s anti-SSA (Ro), anti-SSB (La), anti-SSA+SSB protutijelima, Qs i Qss, odrediti i usporediti vrijednosti Qs i Qss u obje skupine ispitanika te usporediti korisnost Qs i Qss u obje skupine ispitanika.

Materijali i metode: Istraživanje je provedeno na 37 ispitanika. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. Ispitnu skupina se sastojala od 15 pacijenata s dijagnozom SS-a, dok je kontrolna skupina od 22 pacijenata uključivala one pacijente koji nisu zadovoljavali ACR/EULAR dijagnostičke kriterije.

Rezultati: Izračunata osjetljivost, specifičnost i točnost biopsije MLŽS iznosili su 86,7 %, 100 % i 94,6 %. Nadalje, rezultati pokazuju statistički značajnu povezanost FS-a i ANA ($P = 0,002$). Također je Pearsonovom korelacijom pokazana slaba, negativna i statistički neznčajna korelacija Qs ($r = -0,058$, $P = 0,731$) i Qss ($r = -0,022$, $P = 0,899$) obzirom na FS. Dobiveni rezultati ukazuju na veću korisnost Qss u odnosu na Qs u dijagnostici SS-a.

Zaključak: Iako biopsija MLŽS ima veliku dijagnostičku vrijednost u dijagnozi SS-a te pokazuje veliku točnost, ona nije uvijek točna. Za točnije rezultate potrebna je standardizacija histopatološke interpretacije.

9. SUMMARY

Diploma thesis title: Accuracy of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of Sjögren's syndrome

Objectives: This study aimed to determine the accuracy of minor salivary gland biopsy in diagnosing Sjögren syndrome. The specific purposes of the research were to determine whether FS correlates with anti-SSA (Ro), anti-SSB (La), anti-SSA+SSB, Qs and Qss, and to determine and compare the usefulness of Qs and Qss in both groups of respondents.

Materials and methods: The research was conducted on 37 subjects. The respondents were divided into two groups. The test group consisted of 15 patients diagnosed with SS, while the control group of 22 patients included those patients who did not meet the ACR/EULAR diagnostic criteria.

Results: The calculated sensitivity, specificity and accuracy of minor salivary gland biopsy were 86.7%, 100% and 94.6%. Furthermore, the results obtained by the Fisher exact test show a statistically significant association between FS and ANA ($P = 0.002$). Also, Pearson's correlation showed a weak, negative, statistically insignificant correlation between Qs ($r = -0.058$, $P = 0.731$ and Qss ($r = -0.022$, $P = 0.899$) to FS. Obtained results indicate greater usefulness of Qss compared to Qs in diagnosing SS.

Conclusion: Although minor salivary gland biopsy has a significant diagnostic value in the diagnosis of SS and shows excellent accuracy, it is not always accurate. Standardization of histopathological interpretation is needed for more accurate results.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Ivona Barić

Datum i mjesto rođenja: 29. ožujka 1997., Split

Državljanstvo: Hrvatsko

Adresa: Cesta Plano 104, 21220 Trogir

E-mail: ivonabaric29@gmail.com

Obrazovanje:

- 2003. – 2011. Osnovna škola "Petar Berislavić" Trogir
- 2011. – 2015. Srednja škola "Ivan Lucić" Trogir - opća gimnazija
- 2016. – 2022. Medicinski fakultet u Splitu – integrirani studij Dentalne medicine

Materinski jezik:

- Hrvatski jezik

Ostali jezici:

- Engleski jezik
- Njemački jezik

Aktivnosti:

- Demonstratorica na Katedri za anatomiju (akademska godina 2017./2018.)
- Izrada članka za časopis DentiSt na temu "Postoperativna preosjetljivost kod kompozitnih restauracija" pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Antonije Tadin
- Sudjelovanje na 4. Simpoziju studenata dentalne medicine 2019. godine u Zagrebu
- Sudjelovanje na radionici "Primjena PRGF Endoret tehnologije i BTI implantološkog sustava" 2021. godine u Splitu
- Sudjelovanje na prvom proljetnom kongresu studenata dentalne medicine 2022. godine u Osijeku

Nagrade:

- Dobitnica Dekanove nagrade u znak priznanja za izvanredne rezultate postignute tijekom studija u akademskoj godini 2017./2018.