

LAVORO ORIGINALE

Associazione fra presenza di Serum Amiloid A (SAA) nelle ghiandole salivari e alti livelli circolanti di β 2-microglobulina in pazienti affetti da sindrome di Sjögren

Association between Serum Amiloid A (SAA) in salivary glands and high levels of circulating β 2-microglobulin in patients with Sjögren syndrome

M. Benucci¹, F. Li Gobbi¹, A. Del Rosso², G. Gambacorta³, A. Mannoni¹

¹Sezione Aggregata di Reumatologia ASL 10 Firenze; ²Dipartimento di Medicina Interna, Sezione di Reumatologia, Università di Firenze;

³Servizio Anatomia Patologica ASL 10 Firenze

SUMMARY

Objectives: *The presence of secondary amyloidosis is a complication of different rheumatic diseases. We investigated the presence of Serum Amiloid A (SAA), marker of secondary amyloidosis, in salivary glands of patients (pts) with Sjögren Syndrome (SS) and correlated it to biohumoral parameters.*

Materials and methods: *141 pts with sicca syndrome who fulfilled 3 items of the European Criteria for SS by Vitali et al underwent biopsies of labial salivary glands, that were scored according to Chisholm and Mason index and evaluated for the presence of SAA. All pts were evaluated for ANA, ENA, rheumatoid factor, γ -globulins, IgA, IgG, IgM, C3, C4, β 2-microglobulin, erythrocyte sedimentation rate, C reactive protein.*

Results: *Forty out of 141 pts, showed sialoadenitis (SL) with focus score 3-4 (definite SS), and 101 pts showed SL with focus score 1-2. Fourteen out of 101 pts (13.8%) with score 1-2 and 12/40 pts (30%) with definite SS were positive for SAA, respectively. SS pts were further divided in group A (positive for SAA) and group B (negative for SAA). These groups were compared to detect if differences could exist in biohumoral parameters: group A showed higher levels of biohumoral parameters than group B, but the difference was significant only for β 2-microglobulin: 2653+610 ng/ml versus 1848+440 ng/ml; $p < 0.025$.*

Conclusion: *Secondary amyloidosis is a complication of SS. In pts with SAA in salivary glands were detected high levels of β 2-microglobulin, that could be considered a factor predicting the development of amyloidosis in SS.*

Reumatismo, 2003; 55(2):98-101

INTRODUZIONE

L'amiloidosi è una condizione caratterizzata dal deposito extracellulare di amiloide, una proteina fibrillare insolubile, in diversi tessuti. La deposizione di amiloide può condurre alla compromissione della funzione d'organo. L'amiloidosi può essere classificata in primitiva e secondaria.

Le malattie infiammatorie sono le più comuni cause di amiloidosi secondaria, il cui substrato patologico è dato dal deposito tissutale di proteina AA [Serum

Amiloid A (SAA)], un reattante della fase acuta.

Molti dati sull'amiloidosi riguardano studi di tipo autoptico, nei quali la prevalenza dell'amilioide AA è stimata intorno allo 0.5-0.86% (1). In uno studio di un gruppo olandese, l'artrite reumatoide è considerata la causa più comune di amiloidosi secondaria (56% dei casi), seguita da infezioni polmonari ricorrenti (11%), morbo di Crohn (5%), spondilite anchilosante (5%), tubercolosi (3%), febbre mediterranea familiare (2%) e linfoma di Hodgkin (2%) (2). L'incidenza dell'amiloidosi nell'artrite reumatoide è stimata tra il 3 e il 5% (3). Un recente studio ha evidenziato la presenza di amiloidosi secondaria a livello delle ghiandole salivari minori nella sindrome di Sjögren (SS) (4).

Il nostro studio si propone di valutare, nella SS, la presenza di amiloidosi secondaria e le possibili associazioni fra la presenza di SAA nelle ghiandole salivari e parametri bioumorali.

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Maurizio Benucci

Sezione Aggregata di Reumatologia,

Nuovo Ospedale S. Giovanni di Dio

Via di Torregalli 3, 50100 Firenze

e-mail: maurizio.benucci@asf.toscana.it

PAZIENTI E METODI

Centoquarantuno pazienti di sesso femminile affette da sindrome sicca e che possedessero almeno tre criteri positivi per SS (5), previo consenso informato scritto, sono state arruolate e sottoposte a biopsia delle ghiandole salivari labiali. Le biopsie ottenute sono state valutate secondo lo score di Chisholm e Mason (6). Inoltre, sui prelievi istologici è stata ricercata la SAA con metodica immunistochemica [Anti Human Amiloid clone MC-1 (DAKO, Italy)]. In tutte le pazienti sono stati valutati: velocità di eritrosedimentazione (VES), proteina C reattiva (PCR), γ -globuline, IgA, IgG, IgM, C3 e C4, fattore reumatoide, β 2-microglobulina e autoanticorpi non organo specifici (ANA, ENA).

Analisi Statistica

L'analisi comparativa tra i due gruppi (che descriveremo successivamente) è stata eseguita tramite t-test per dati non appaiati per le variabili continue [espresse in medie \pm deviazioni standard (DS)] e tramite χ^2 test per i dati espressi in percentuale. Le statistiche sono state considerate significative per valori di $p < 0.05$.

RISULTATI

Le pazienti arruolate avevano un'età media di 55.3 \pm 8.0 anni e una durata dei sintomi di 3.6 \pm 1.9 anni. Quaranta delle 141 pazienti con sindrome sicca presentavano una sialoadenite linfocitaria di grado 3-4 (SS primitiva), e 101 presentavano una sialoadeni-

te linfocitaria di grado 1-2 (6).

Nel gruppo con sialoadenite linfocitaria di grado 1-2, 14 su 101 pazienti (13,8%) presentavano positività per SAA.

Le 40 pazienti con SS sono state divise in 2 gruppi: gruppo A (12/40 pazienti; 30%) che presentavano positività per SAA nelle ghiandole salivari; gruppo B (28/40 pazienti; 70%), in cui non è stata rilevata la presenza di SAA nelle ghiandole salivari.

La presenza di SAA nelle ghiandole salivari dei soggetti con SS primitiva era significativamente maggiore rispetto ai soggetti con Sindrome Sicca $p < 0.05$.

I gruppi A e B sono stati confrontati per rilevare se esistesse una diversità nei parametri bioumorali (Tab. I).

I 2 gruppi, non diversi né per l'età delle pazienti, né per la durata dei sintomi ($p > 0.05$ in entrambi i casi), erano differenti per i valori di alcuni parametri bioumorali. I valori di VES e PCR erano maggiori nel gruppo A rispetto al gruppo B, anche se non significativamente ($p > 0.05$ in entrambi i casi). Soltanto i valori della β 2-microglobulina serica erano significativamente maggiori nel gruppo A rispetto al gruppo B (2653 \pm 1610 ng/ml *versus* 1848 \pm 440 ng/ml; $p < 0.025$).

DISCUSSIONE

I risultati da noi rilevati dimostrano che la SAA, segno di amiloidosi secondaria, è presente nelle biopsie delle ghiandole salivari labiali di pazienti affetti da SS.

Tabella I - Parametri demografici e bioumorali del gruppo A (positivo per SAA) e del gruppo B (negativo per SAA).

Parametri	Gruppo A	Gruppo B	P
Età	54.70 \pm 7.2	57.5 \pm 10.0	> 0.05
Durata dei sintomi	4.3 \pm 2.0	3.9 \pm 1.6	> 0.05
VES (mm/h)	43.1 \pm 19.6	33.7 \pm 15.5	> 0.05
PCR (mg/dl)	1.6 \pm 1.2	1.2 \pm 0.9	> 0.05
Ac anti-ANA (titolo)	129.2 \pm 83.5	116.9 \pm 81.5	> 0.05
Ac anti-ENA (SSA) (presenti/assenti)	6/12	13/28	> 0.05
γ -globuline %	14.5 \pm 10.3	16.2 \pm 9.2	> 0.05
IgA (mg/dl)	357.8 \pm 196.5	309.3 \pm 131.9	> 0.05
IgG (mg/dl)	1496 \pm 296.2	1479 \pm 482.1	> 0.05
IgM (mg/dl)	226.2 \pm 112.3	229.8 \pm 116.8	> 0.05
C3 (mg/dl)	106.4 \pm 28.6	98.5 \pm 20.3	> 0.05
C4 (mg/dl)	23.5 \pm 9.6	21.9 \pm 5.9	> 0.05
β 2-microglobulina (mg/l)	2653 \pm 1610	1848 \pm 440	$p < 0.025$

Legenda: VES: velocità di eritrosedimentazione; PCR: proteina C reattiva; Ac: anticorpi; ANA: antinuclear antigen; ENA: enucleable antigen.

La presenza di SAA nelle ghiandole salivari dei soggetti con SS primitiva è significativamente maggiore rispetto ai soggetti con sindrome sicca.

Pertanto riteniamo che la valutazione della SAA nelle ghiandole salivari possa essere un ulteriore aiuto per discriminare la SS dalla sindrome sicca potendo riflettere una reazione flogistica cronica a livello delle ghiandole salivari.

Inoltre, i pazienti affetti da SS con SAA positiva a livello delle ghiandole salivari presentano livelli circolanti di $\beta 2$ -microglobulina maggiori rispetto ai pazienti negativi per SAA.

Studi precedenti hanno riportato che, in pazienti con SS, l'amiloide può essere presente nelle ghiandole salivari e proposto la biopsia di tali ghiandole per la diagnosi di amiloidosi primitiva e secondaria in corso di SS (4).

Altri studi hanno riportato la presenza di amiloidosi localizzata di tipo AL in corso di SS a livello cutaneo (7-8), linguale (9) e, recentemente, a livello polmonare (10), valutabile anche attraverso biopsia transtoracica (11). Di recente è stato riportato un caso di amiloidosi primaria AL sistemica associato a SS (12).

Altri studi hanno dimostrato che in soggetti con linfoma o mieloma associato a SS può essere presente amiloidosi primitiva sistemica di tipo AL (13-14). Comunque, se è vero che esiste una possibilità di evoluzione della SS verso forme di linfomi B di basso grado di malignità della zona marginale, l'associazione con amiloidosi è rara (13).

La SAA viene considerata un reattante della fase acuta. Il gene che codifica per la sua produzione è posto sul braccio corto del cromosoma 11 (15). Questa sostanza è prodotta dagli epatociti (16), sebbene ne esista una produzione extraepatica da parte di monociti-macrofagi (17), sinoviociti (18) e cellule endoteliali e muscolari lisce della placca

aterosclerotica (19). La produzione di SAA è influenzata dalla presenza di citochine infiammatorie, come IL-1, IL-6, TNF- α , IL-11, IFN- γ , ciliario neurotrofico factor (CNF), leukemia inhibitory factor (LIF), oncostatina (15). Elevati livelli di SAA si osservano nella fase precoce dell'artrite reumatoide (20), ma sono riportate anche associazioni con artrite psoriasica, spondilite anchilosante (21), sindrome di Behçet (22), connettivite mista (23), polimialgia reumatica (24) e febbre mediterranea familiare (25). La sua presenza, oltre ad essere espressione di uno stato infiammatorio, può indurre la produzione di metalloproteasi, importanti effettori del danno tissutale (26).

Nei pazienti affetti da SS, la possibile correlazione di SAA con elevati livelli di $\beta 2$ -microglobulina serica può esprimere, oltre ad una maggiore attività flogistica, una maggiore attività proliferativa. Infatti, nei pazienti con SS, la $\beta 2$ -microglobulina serica rappresenta un indice di attività di malattia e di possibile evoluzione verso patologie linfoproliferative (27). La $\beta 2$ -microglobulina si può associare alla presenza di amiloidosi AL (12-13). Per quanto ne sappiamo questo studio preliminare è il primo che rilevi un'associazione tra elevati livelli sierici di $\beta 2$ -microglobulina e presenza di SAA nelle ghiandole salivari.

I nostri dati necessitano di essere validati su una casistica maggiore di pazienti, soprattutto al fine di valutare se i pazienti con alta produzione locale di SAA possano, nel tempo, sviluppare patologie linfoproliferative.

Nel futuro, la ricerca di una possibile correlazione tra score istopatologico delle ghiandole salivari, produzione locale di metalloproteasi e SAA, livelli di SAA circolante e indici bioumorali potrebbe rivelarsi utile per approfondire aspetti ancora oscuri nella patogenesi della SS.

RIASSUNTO

Scopo: Indagare la presenza di Serum Amiloid A (SAA), marker di amiloidosi secondaria, nelle ghiandole salivari di pazienti con Sindrome di Sjögren (SS) e correlarla a parametri bioumorali.

Materiali e Metodi: Su 141 pazienti con sindrome sicca sono state eseguite biopsie delle ghiandole salivari labiali, poi valutate secondo lo score di Chisholm e Mason e per la presenza di SAA e sono stati determinati vari parametri bioumorali.

Risultati: Su 141 pazienti, 40 mostravano sialoadenite (SL) di grado 3-4 (SS definita) e 101 SL di grado 1-2. Rispettivamente, 14/101 pazienti (13.8%) con score 1-2 e 12/40 (30%) con SS definita erano positivi per SAA. I pazienti con SS positivi per SAA (gruppo A) mostravano livelli maggiori di $\beta 2$ -microglobulina rispetto a quelli negativi per SAA (gruppo B): 2653+610 ng/ml *versus* 1848+440 ng/ml; $p < 0.025$.

Conclusione: In pazienti con amiloidosi secondaria a SS sono presenti alti livelli di $\beta 2$ -microglobulina.

Parole chiave - Sindrome di sjögren, amiloidosi, Serum Amiloid A.

Key words - Sjögren syndrome, amyloidosis, Serum Amiloid A.

Gli autori ringraziano Marco Bulleri, per l'aiuto nell'elaborazione statistica e la Associazione Malati di Sjögren (Sezione di Firenze) per il continuo supporto.

BIBLIOGRAFIA

1. Simms RW, Prout MN, Cohen AS. The epidemiology of AL and AA amyloidosis. *Bailliere's Clin Rheumatol* 1994; 8: 627-34.
2. Hazenberg BP, van Rijswijk MH. Clinical and therapeutic aspects of AA amyloidosis. *Bailliere's Clin Rheumatol* 1994; 8: 661-90.
3. Husby G. Amyloidosis. *Semin Arthritis Rheum* 1992; 22: 67-82.
4. Hachulla E, Janin A, Flipo RM, Saile R, Facon T, Baille D, 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.
5. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren syndrome. Result of a prospective concerted action supported by European Community. *Arthritis Rheum* 1992; 36: 340-8.
6. Chisolm DM, Waterhouse J, Mason D. Lymphocitic sialoadenitis in the major and minor glands: a correlation in postmortem subjects. *Clin Pathol* 1970; 23: 690-3.
7. Katajama Y, Seno J, Aoki S, Tada S, Yaoita H. Nodular primary cutaneous amyloidosis. *Arch Dermatol* 1986; 122: 1425-30.
8. Praprotnik S, Tomsic T, Perkovic T, Vizjak A. Is Sjögren's syndrome involved in the formation of localized nodular amyloidosis? *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 735-7.
9. Haraguchi H, Ohashi K, Yamada M, Hasegawa M, Maeda S, Komatsuzaki A. Primary localized nodular tongue amyloidosis associated with Sjögren syndrome. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1997; 1: 60-3.
10. Kobayashi H, Matsuoka R, Kitamura S, Tsunoda N, Saito K. Sjögren's syndrome with multiple bullae and pulmonary nodular amyloidosis. *Chest* 1988; 94: 438-40.
11. Milburn JM, Kay D, Ridpat C. Pulmonary nodular amyloidosis in a patient with Sjögren's syndrome diagnosed with transthoracic biopsy. *J La State Med Soc* 1994; 146: 395-8.
12. Mariette X. Lymphomas in patients with Sjögren's syndrome: review of literature and physiopathologic hypothesis. *Leuk Lymphoma* 1999; 33: 93-9.
13. Schlesinger I. Multiple myeloma and AL amyloidosis mimicking Sjögren Syndrome. *South Med J* 1993; 86: 568-9.
14. Delevaux I, André M, Amoura Z, Kèmeny J, Piette JC, Aumaitre O. Concomitant diagnosis of primary Sjögren's syndrome and systemic AL amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 694-5.
15. Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid p component and serum amyloid A protein. *Immunol Today* 1994; 15: 81-8.
16. Malle E, de Beer FC. Human serum amyloid A (SAA) protein: a prominent acute phase reactant for clinical practice. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 427-35.
17. Urieli-Shoval S, Meek RL, Hanson RH. Human serum amyloid A genes are expressed in monocite/macrophage cell lines. *Am J Pathol* 1994; 145: 650-60.
18. O'Hara R, Murphy EP, Whitehead AS. Acute phase serum amyloid A production by rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis Res* 2000; 2: 142-4.
19. Meek RL, Urieli-Shoval S, Bendit EP. Expression of apolipoprotein serum amyloid A mRNA in human atherosclerotic lesion and culture vascular cells: implications for serum amyloid A function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 9: 3186-90.
20. Cunnane G, Grehan S, Geoghegan S. Serum amyloid A in the assessment of early arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 58-63.
21. Lange U, Boss B, Teichmann J. Serum amyloid A an indicator of inflammation in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2000; 19: 119-22.
22. Akpolat T, Akpolat I, Kandemir B. Behcet's disease and AA-type amyloidosis. *Am J Nephrol* 2000; 20: 68-70.
23. Pirainen HI, Helve AT, Tomroth T. Amyloidosis in mixed connective tissue disease. *Scand J Rheumatol* 1989; 18: 165-8.
24. Stebbing J, Buetens O, Hellmann D. secondary amyloidosis associated with giant cell arteritis /polymyalgia rheumatica. *J Rheumatol* 1999; 26: 2698-700.
25. Gang N, Drenth JP, Longevitz P. Activation of the cytokine network in Familial Mediterranean Fever. *J Rheumatol* 1999; 26: 890-7.
26. Migita K, Kawabe Y, Tominaga M. Serum amyloid A protein induces production of matrix metalloproteinases by human synovial fibroblast. *Lab Invest* 1998; 78: 535-9.
27. Morel P, Quiquandon I, Janin A, Dupriez B, Desablens B, Gosselin B et al. High incidence of lymphoid infiltration on labial salivary gland biopsy in non-Hodgkin's lymphomas: clinical implication. *Br J Haematol* 1993; 85: 93-8.