

## Диагностическая значимость определения концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов в слюне при первичном синдроме Шегрена

Кувардин Е.С.<sup>1</sup>, Холопова И.В.<sup>2</sup>, Белякова Е.А.<sup>3</sup>, Григорьева И.Н.<sup>1</sup>, Мазинг А.В.<sup>2</sup>, Ткаченко О.Ю.<sup>2</sup>, Бехтерева И.А.<sup>3</sup>, Маслянский А.Л.<sup>1</sup>, Криволапов Ю.А.<sup>3</sup>, Лапин С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург  
<sup>1</sup>Россия, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2; <sup>2</sup>Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8; <sup>3</sup>Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

*Пролиферация и гиперактивация В-лимфоцитов в слюнных железах – особенность первичного синдрома Шегрена (ПСШ). Выявление в слюне синтезируемых В-лимфоцитами белков может иметь значение в диагностике этого заболевания.*

*Цель исследования – оценка диагностической значимости определения концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) в слюне у больных с ПСШ.*

**Материал и методы.** В одномоментное исследование включено 24 пациента с ПСШ в возрасте старше 18 лет. Диагноз ПСШ установлен согласно классификационным критериям ACR/EULAR 2016 г. Контрольная группа состояла из 11 здоровых добровольцев. У обследованных измеряли показатели проницаемости гистогематического барьера слюнных желез для альбумина, СЛЦ. Количественное определение СЛЦ  $\kappa$  и  $\lambda$  в крови и слюне выполнялось методом иммуноферментного анализа. Проводилось иммуногистохимическое исследование биоптатов малых слюнных желез (МСЖ) с количественной оценкой CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD21+, CD68+, CD138+ клеток. Для сравнения количественных признаков использовался U-критерий Манна–Уитни. Выявление диагностических порогов концентраций СЛЦ в слюне для диагностики ПСШ осуществлялось методом ROC-анализа. Строилась кривая операционной характеристики, рассчитывались площадь под кривой, показатели диагностической специфичности, диагностической чувствительности, диагностической точности.

**Результаты и обсуждение.** Полученные значения соответствовали низкой проницаемости гистогематического барьера слюнных желез для альбумина и СЛЦ у пациентов с ПСШ и здоровых лиц.

Медианы концентраций СЛЦ  $\kappa$  и  $\lambda$  в слюне больных с ПСШ и здоровых добровольцев составляли 1,08 [0,58; 1,91], 1,038 [0,55; 2,03] мг/л и 0,36 [0,32; 0,54], 0,35 [0,21; 0,52] мг/л соответственно. Концентрация СЛЦ в слюне больных ПСШ была статистически значимо больше, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ).

Количество СЛЦ  $\kappa$  и  $\lambda$  в слюне коррелировало со скоростью нестимулированной саливации:  $r_s = -0,483$  ( $p = 0,02$ ),  $r_s = -0,491$  ( $p = 0,017$ ) соответственно. Выявлена связь между концентрацией  $\lambda$ -цепей в слюне и удельным количеством CD138+ клеток:  $r_s = 0,733$  ( $p = 0,025$ ). Статистически значимых корреляций между концентрацией  $\lambda$ -цепей и числом мононуклеарных клеток МСЖ не установлено.

На основании результатов ROC-анализа определены диагностические пороги концентраций СЛЦ в слюне больных ПСШ. Концентрациям СЛЦ  $\kappa$ - и  $\lambda$ -типов в слюне 0,56 и 0,68 мг/л соответствуют значения площади под кривой 0,84 (95% доверительный интервал, ДИ 0,69–0,98) и 0,83 (95% ДИ 0,71–0,97), чувствительность 79,2% (95% ДИ 59,5–90,8) и 75% (95% ДИ 55,1–88), специфичность 81,8% (95% ДИ 52,3–96,8) и 90,9% (95% ДИ 62,3–99,5) соответственно.

Проводилось сравнение концентраций СЛЦ в слюне у больных с ПСШ, получающих и не получающих глюкокортикоиды (ГК). Группы статистически значимо не различались по клинико-лабораторным параметрам. Медиана суточной дозы ГК в пересчете на преднизолон – 10 [5; 10] мг. Значимых различий между концентрациями СЛЦ в слюне у пациентов этих групп не обнаружено.

**Заключение.** Фиксируемые в слюне СЛЦ наиболее вероятно продуцируются локализованными в строме слюнных желез клетками. Определение концентрации СЛЦ в слюне может быть предложено в качестве диагностического теста для выявления ПСШ. Концентрация свободных  $\kappa$ -цепей в слюне может рассматриваться как суррогатный маркер доброкачественной В-клеточной пролиферации в МСЖ. Терапия низкими и средними дозами ГК при ПСШ не влияет на концентрацию СЛЦ в слюне.

**Ключевые слова:** первичный синдром Шегрена; свободные легкие цепи иммуноглобулинов; слюна; плазматические клетки.

**Контакты:** Евгений Сергеевич Кувардин; [evgenkuv23@yandex.ru](mailto:evgenkuv23@yandex.ru)

**Для ссылки:** Кувардин ЕС, Холопова ИВ, Белякова ЕА, Григорьева ИН, Мазинг АВ, Ткаченко ОЮ, Бехтерева ИА, Маслянский АЛ., Криволапов ЮА., Лапин СВ. Диагностическая значимость определения концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов в слюне при первичном синдроме Шегрена. Современная ревматология. 2023;17(1):24–30. DOI: 10.14412/1996-7012-2023-1-24-30

## Diagnostic value of the saliva immunoglobulin free light chains concentrations measured in primary Sjogren's syndrome

Kuvaradin E.S.<sup>1</sup>, Kholopova I.V.<sup>2</sup>, Belyakova E.A.<sup>3</sup>, Grigoryeva I.N.<sup>1</sup>, Masing A.V.<sup>2</sup>, Tkachenko O.Yu.<sup>2</sup>, Bekhtereva I.A.<sup>3</sup>, Maslyansky A.L.<sup>1</sup>, Krivolapov Yu.A.<sup>3</sup>, Lapin S.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Almazov National Medical Research Centre, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg;

<sup>2</sup>Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg;

<sup>3</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of Russia, St. Petersburg 12, Akkuratova Street, Saint Petersburg 197341, Russia; <sup>2</sup>6–8, Lev Tolstoy Street, Saint Petersburg 197022, Russia; <sup>3</sup>41, Kirochnaya Street, St. Petersburg 191015, Russia

Proliferation and hyperactivation of B-lymphocytes in the salivary glands is a feature of primary Sjogren's syndrome (pSS). Detection in saliva of proteins synthesized by B-lymphocytes may be important in the diagnosis of this disease.

**Objective:** to evaluate the diagnostic value of measuring the concentration of immunoglobulin free light chains (FLC) in saliva in patients with pSS.

**Material and methods.** The cross-sectional study included 24 patients with pSS over the age of 18 years. PSS was diagnosed according to the 2016 ACR/EULAR classification criteria. The control group consisted of 11 healthy volunteers. Blood-salivary glands histohematic barrier permeability ratio for albumin, FLC was measured. Quantitative determination of FLC and in blood and saliva was performed by enzyme immunoassay. An immunohistochemical study of biopsies of minor salivary glands (MSG) was carried out with a quantitative assessment of CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD21+, CD68+, CD138+ cells. The Mann–Whitney U-test was used to compare quantitative traits. Identification of diagnostic thresholds for the concentration of FLC in saliva for the diagnosis of pSS was carried out using the ROC analysis method. An operating characteristic curve was plotted, the area under the curve, indicators of diagnostic specificity, diagnostic sensitivity, and diagnostic accuracy were calculated.

**Results and discussion.** The obtained values corresponded to the low permeability of the histohematic barrier of the salivary glands for albumin and FLC in patients with pSS and healthy individuals. The median concentrations of FLC  $\kappa$  and  $\lambda$  in the saliva of patients with pSS and healthy volunteers were 1.08 [0.58; 1.91], 1.038 [0.55; 2.03] mg/l and 0.36 [0.32; 0.54], 0.35 [0.21; 0.52] mg/l, respectively. The concentration of FLC in the saliva of patients with pSS was statistically significantly higher than in the control group ( $p < 0.01$ ).

The amount of FLC  $\kappa$  and  $\lambda$  in saliva correlated with the rate of unstimulated saliva flow:  $r_s = -0.483$  ( $p = 0.02$ ),  $r_s = -0.491$  ( $p = 0.017$ ), respectively. A relationship was found between the concentration of  $\kappa$ -chains in saliva and the specific number of CD138+ cells:  $r_s = 0.733$  ( $p = 0.025$ ). Statistically significant correlations between the concentration of  $\lambda$ -chains and the number of mononuclear cells in the MSG have not been established.

Based on the results of ROC analysis, diagnostic thresholds for FLC concentrations in the saliva of patients with pSS were determined. Concentrations of  $\kappa$ - and  $\lambda$ -type FLC in saliva of 0.56 and 0.68 mg/l correspond to area under the curve values of 0.84 (95% confidence interval, CI 0.69–0.98) and 0.83 (95% CI 0.71–0.97), sensitivity 79.2% (95% CI 59.5–90.8) and 75% (95% CI 55.1–88), specificity 81.8% (95% CI 52.3–96.8) and 90.9% (95% CI 62.3–99.5), respectively.

Salivary FLC concentrations were compared in patients with pSS receiving and not receiving glucocorticoids (GC). The groups did not differ in a statistically significant way in terms of clinical and laboratory parameters. The median daily dose of GC was 10 [5; 10] mg in prednisolone equivalent. There were no significant differences between the concentrations of saliva FLC in patients of these groups.

**Conclusion.** Salivary-fixed FLCs are most likely produced by cells localized in the stroma of the salivary glands. Determination of the concentration of FLC in saliva can be proposed as a diagnostic test for the pSS. The concentration of free  $\kappa$ -chains in saliva can be considered as a surrogate marker of benign B-cell proliferation in the MSG. Therapy with low and medium doses of GC in pSS does not affect the concentration of FLC in saliva.

**Keywords:** primary Sjogren's syndrome; immunoglobulin free light chains; saliva; plasma cells.

**Contact:** Evgeniy Sergeevich Kuvaradin; [evgenkuv23@yandex.ru](mailto:evgenkuv23@yandex.ru)

**For reference:** Kuvaradin ES, Kholopova IV, Belyakova EA, Grigoryeva IN, Masing AV, Tkachenko OYu, Bekhtereva IA, Maslyansky AL, Krivolapov YuA, Lapin SV. Diagnostic value of the saliva immunoglobulin free light chains concentrations measured in primary Sjogren's syndrome. *Sovremennaya Revmatologiya* = *Modern Rheumatology Journal*. 2023;17(1):24–30. DOI: 10.14412/1996-7012-2023-1-24-30

Первичный синдром Шегрена (ПСШ) – системное аутоиммунное заболевание, для которого характерно снижение функции слюнных и слезных желез с возможным развитием системных проявлений [1].

Распространенность ПСШ в мире составляет 3,9–11,77 случаев на 100 тыс. человек в год с преобладанием среди заболевших женщин в возрасте 50–65 лет, что делает его одним из самых частых диффузных заболеваний соединительной ткани [1].

Согласно классификационным критериям ACR (American College of Rheumatology) / EULAR (European League Against Rheumatism) 2016 г., установление диагноза ПСШ основано на оценке объективных признаков сухого синдрома, вы-

явлении антител к SSA/Ro (анти-SSA/Ro), результатах гистологического анализа малых слюнных желез (МСЖ) [2]. Гистологическое и лабораторное исследования обладают наибольшим диагностическим удельным весом, но имеют недостатки. Изменения в биоптатах МСЖ у 23,3–30,1% больных с ПСШ не соответствуют установленным гистологическим критериям, и патоморфологический диагноз во многом зависит от опыта морфолога [3–5]. После проведения биопсии МСЖ возможны осложнения в месте выполнения вмешательства [3]. Определение анти-SSA/Ro – высокочувствительный, но умеренно специфичный метод диагностики ПСШ. Эти аутоантитела выявляются также у больных системной красной волчанкой, первичным билиарным цир-

розом, ревматоидным артритом [6]. В то же время они отсутствуют у 27% пациентов с ПСШ [4, 7].

Биопсия МСЖ и получение периферической крови – инвазивные процедуры. Для их выполнения необходимы асептические условия, медицинские расходные материалы. Однако слюну можно получить простым и атравматичным способом. Слюна – секрет органа-мишени ПСШ. Результаты ее анализа могут отражать особенности аутоиммунного воспаления слюнных желез при этом заболевании [8].

Для ПСШ характерно развитие очагового сиалоаденита с формированием фокусов из  $\geq 50$  мононуклеарных клеток, расположенных перидуктально и/или в периваскулярных пространствах. В воспалительных инфильтратах преобладают Т-лимфоциты. При длительном течении заболевания, выраженном аутоиммунном воспалении В-лимфоциты могут составлять половину мононуклеарных клеток МСЖ [9].

Пролиферация и гиперактивация В-лимфоцитов – отличительная черта патогенеза ПСШ [10]. Определение концентрации свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) в крови рассматривается как один из маркеров этих процессов. У пациентов с ПСШ концентрации СЛЦ  $\kappa$  и  $\lambda$  в крови выше, чем у здоровых лиц, что коррелирует с активностью заболевания [11, 12]. Изменение соотношения концентраций  $\kappa/\lambda$ -цепей в крови у больных с ПСШ может быть маркером развития МАЛТ-лимфом слюнных желез [12]. Данных о диагностической значимости определения концентрации СЛЦ в слюне больных с ПСШ недостаточно.

**Цель работы** – оценка диагностической значимости определения концентрации СЛЦ в слюне у пациентов с ПСШ.

**Материал и методы.** В одномоментное исследование включено 24 больных с ПСШ в возрасте старше 18 лет, обследованных в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» (НМИЦ им. В.А. Алмазова) в 2018–2020 гг., не получавших генно-инженерных биологических препаратов. Диагноз ПСШ верифицирован согласно классификационным критериям ACR/EULAR 2016 г.

Контрольную группу составили 11 здоровых добровольцев старше 18 лет с результатами теста Ширмера  $>15$  мм за 5 мин и нестимулированной сиалометрии  $>1,5$  мл за 15 мин.

Всеми участниками подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании, одобренном комитетом по этике НМИЦ им. В.А. Алмазова.

Кровь и слюну у обследованных брали в один день. Слюну для анализа получали в ходе нестимулированной сиалометрии [13] и центрифугировали в лабораторной центрифуге ELM1 CM-6MT (ELMI, Россия) при скорости 3500 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость собирали в пробирки Eppendorf Safe-Lock Tubes (Eppendorf, Германия) объемом 1,5 мл и помещали в морозильную камеру с температурой 20 °С.

Количественное определение СЛЦ в слюне и сыворотке крови проводилось методом иммуноферментного анализа (набор «Полигност», Россия). Метод основан на выявлении эпитопов СЛЦ  $\kappa$  и  $\lambda$ , доступных в этих белках только в не связанном с молекулой иммуноглобулина состоянии. Распознающие эпитопы СЛЦ-антитела сорбированы в твердой фазе. Это обеспечивает специфический захват СЛЦ из образцов сыворотки и слюны. Для выявления комплекса антитело–СЛЦ используются меченные пероксидазой хрена антитела.

Исследуемые образцы сыворотки и слюны предварительно разводили в 100 раз. Концентрация  $\kappa$ - и  $\lambda$ -цепей рассчитывалась по калибровочной кривой, построенной исходя из концентраций стандартных растворов СЛЦ от 0 до 500 нг/мл. Измерение оптической плотности проводилось на фотометре при длине волны 450 нм.

Для оценки проницаемости гистогематического барьера слюнных желез определялись концентрации микроальбумина в слюне и альбумина крови обследованных с использованием стандартных коммерческих реагентов. Вычислялся показатель проницаемости гистогематического барьера слюнных желез по альбумину (Qalb) [14].

Рассчитывались показатели проницаемости гистогематического барьера слюнных желез для СЛЦ  $\kappa$  (Q $\kappa$ ) и  $\lambda$  (Q $\lambda$ ):

$$Q\kappa = \frac{\text{Концентрация } \kappa\text{-цепей слюны}}{\text{Концентрация } \kappa\text{-цепей крови}},$$

$$Q\lambda = \frac{\text{Концентрация } \lambda\text{-цепей слюны}}{\text{Концентрация } \lambda\text{-цепей крови}}$$

Всем пациентам с ПСШ в асептических условиях под местной анестезией 1% раствором лидокаина выполнялась биопсия МСЖ по методу Н. Терро [15]. Биоптат фиксировался в 10% нейтральном забуференном формалине. Биоптаты подвергали стандартной проводке с последующей заливкой в парафин. Из полученных блоков готовили срезы толщиной 2–3 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах биопсийного материала 9 пациентов. Использовались панель антител: CD3 (polyclonal rabbit, DAKO), CD4 (monoclonal rabbit, clone SP35, CELL MARQUE), CD8 (monoclonal mouse, clone CB/1448, DAKO), CD20 (monoclonal mouse, clone L26, DAKO), CD21 (monoclonal mouse, clone 2G9, Immulogic), CD68 (monoclonal mouse, clone KP1, DAKO), CD138 (monoclonal mouse, clone M15, DAKO); система визуализации Envision FLEX (Agilent DAKO, США). Препараты докрашивали гематоксилином и заключали под покровное стекло. Оценка результатов осуществлялась с помощью светоптического микроскопа Olympus BX46 (Evident, Япония). Рассчитывалось удельное количество клеток в 4 мм<sup>2</sup> площади среза.

Тест Ширмера проводился без применения локальных анестетиков с использованием специальных тест-полосок Ширмера – Tear Strips (Tear Flo; Contacare, Индия).

Изучение антинуклеарного фактора (АНФ) проводилось методом непрямой иммунофлюоресценции на клетках линии Hep2 с выявлением титра и типа свечения. Анти-SSA/Ro выявлялись методом лайн-блоттинга.

СОЭ, концентрации СРБ, С3-, С4-фракций комплемента определялись стандартными методами с применением коммерческих наборов.

Активность заболевания оценивалась с помощью индекса активности ПСШ EULAR (EULAR Sjogren's syndrome disease activity index, ESSDAI) и индекса активности ПСШ EULAR, указанного пациентом (EULAR Sjogren's Syndrome Patient Reported Index, ESSPRI).

Статистический анализ результатов выполнен с использованием лицензионных прикладных статистических

Таблица 1. Клиническая характеристика больных с ПСШ (n=24)  
Table 1. Clinical characteristics of patients with pSS (n=24)

Показатель	Значение
Мужчины/женщины, n	3/21
Клинические признаки, n (%):	
конституциональные проявления	0
лимфаденопатия	6 (25)
увеличение размеров слюнных желез	1 (4,2)
суставной синдром	3 (12,5)
кожные проявления	0
поражение легких	1 (4,2)
поражение почек	0
поражение мышц	0
поражение периферической нервной системы	6 (25)
поражение ЦНС (поперечный миелит)	0
аутоиммунная цитопения	6 (25)
снижение концентрации С3- и/или С4- фракций комплемента	6 (25)
криоглобулинемия	2 (8,3)
Терапия на момент включения в исследование, n (%):	
без терапии	3 (12,5)
гидроксихлорохин	11 (45,8)
ГК	12 (50)
метотрексат	2 (8,3)
лефлуномид	1 (4,2)
циклоспорин	1 (4,2)
циклофосфамид	1 (4,2)
микофенолата мофетил	1 (4,2)
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	57 [41; 64]
Длительность заболевания, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	6 [5; 10]
ESSPRI, баллы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	4,2 [2; 5,7]
ESSDAI, баллы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	6 [1; 10]
Титр АНФ, Ме [25-й; 75-й перцентили]	3200 [320; 10 000]
Анти-Ro/SSA+, n (%)	20 (83,3)
Анти-La/SSB+, n (%)	10 (41,7)
Анти-Ro52+, n (%)	17 (70,8)
Тест Ширмера, мм, Ме [25-й; 75-й перцентили]	4 [1; 7]
Скорость нестимулированной саливации, мл/мин, Ме [25-й; 75-й перцентили]	0,13 [0,07; 0,2]
СОЭ, мм/ч, Ме [25-й; 75-й перцентили]	22 [11; 42]
СРБ, мг/л, Ме [25-й; 75-й перцентили]	1,13 [0,43; 4,08]
С3, г/л, Ме [25-й; 75-й перцентили]	1,08 [0,875; 1,19]
С4, г/л, Ме [25-й; 75-й перцентили]	0,19 [0,098; 0,256]

**Примечание.** ЦНС – центральная нервная система.

программ Statistica 10.0 для Windows (StatSoft Inc., США), Prisma GraphPad 6.0 (GraphPad Software, США). При ненормальном характере распределения результаты описывались в виде медианы и интерквартильного интервала (Ме [25-й; 75-й перцентили]). Для сравнения количественных признаков использовался U-критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rs). С целью определения диагностического порога (ДП) для каждого изучаемого признака проводился ROC-анализ, строилась кривая операционной характеристики, рассчитывались площадь под

кривой (ППК), показатели диагностической специфичности (ДС), диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической точности (ДТ). Критерий значимости устанавливался на уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В исследовании приняли участие 24 пациента с диагнозом ПСШ (табл. 1). Медиана возраста – 57 [41; 64] лет, продолжительности заболевания – 6 [5; 10] лет. Ксерофтальмия была наиболее частым проявлением сухого синдрома. Медиана значения теста Ширмера – 4 [1; 7] мм. У большинства пациентов определялась умеренная активность заболевания, медиана ESSDAI – 6 [1; 10] баллов.

Таблица 2. Сравнение результатов обследования пациентов с ПСШ и здоровых добровольцев  
Table 2. Comparison of the results of examination of patients with pSS and healthy volunteers

Показатель	Больные с ПСШ (n=24)	Контроль (n=11)	p
Концентрация СЛЦ κ-типа в сыворотке крови, мг/л	11,67 [6,31; 17,5]	4,55 [3,94; 5,71]	<0,001
Концентрация СЛЦ λ-типа в сыворотке крови, мг/л	17,4 [9,26; 28,67]	4,77 [3,53; 5,99]	0,001
Концентрация СЛЦ κ-типа в слюне, мг/л	1,08 [0,58; 1,91]	0,36 [0,32; 0,54]	0,001
Концентрация СЛЦ λ-типа в слюне, мг/л	1,038 [0,55; 2,03]	0,35 [0,21; 0,52]	0,001
Соотношение концентраций κ/λ-цепей сыворотки крови	0,69:1	1:1	0,065
Соотношение концентраций κ/λ-цепей в слюне	0,93:1	1,3:1	0,238
Qalb, ×10 <sup>-3</sup>	0,97 [0,47; 4,1]	1,5 [1,4; 2,7]	0,344
Qκ	0,092 [0,043; 0,22]	0,079 [0,06; 0,12]	1,0
Qλ	0,062 [0,04; 0,14]	0,089 [0,037; 0,11]	0,637

Примечание. Данные представлены как Ме [25-й; 75-й перцентили], если не указано иначе.

Таблица 3. Параметры диагностического теста определения концентраций СЛЦ в слюне пациентов с ПСШ  
Table 3. Parameters of the diagnostic test for determining the concentrations of FLCF in the saliva of patients with pSS

Показатель	СЛЦ в слюне	
	κ-цепи	λ-цепи
ППК (95% ДИ)	0,84 (0,69–0,98)	0,839 (0,71–0,97)
ДП, мг/л	0,56	0,68
ДЧ, % (95% ДИ)	79,2 (59,5–90,8)	75 (55,1–88)
ДС, % (95% ДИ)	81,8 (52,3–96,8)	90,9 (62,3–99,5)
ДТ, %	80,5	82,6
p	<0,001	0,0015

Концентрация СЛЦ в слюне и крови у пациентов с ПСШ была значимо выше, чем в контроле (табл. 2, рис. 1, 2). Отмечались низкие значения показателей проницаемости гистогематического барьера слюнных желез. Qalb, Qκ, Qλ у пациентов с ПСШ и здоровых добровольцев значимо не различались. При проведении корреляционного анализа выявлена взаимосвязь концентраций СЛЦ κ и λ в слюне больных с ПСШ со скоростью нестимулированной саливации ( $r_s = -0,483$ ,  $p = 0,02$  и  $r_s = -0,491$ ,  $p = 0,017$ ) и возрастом ( $r_s = 0,509$ ,  $p = 0,011$  и  $r_s = 431$ ,  $p = 0,035$  соответственно). Корреляции между концентрациями СЛЦ в слюне и другими клинико-лабораторными параметрами пациентов с ПСШ не обнаружены. При определении связи между удельным количеством клеточных субпопуляций МСЖ и концентрациями СЛЦ в слюне пациентов с ПСШ выявлена корреляция между концентрацией κ-цепей и количеством CD138+ клеток ( $r_s = 0,733$ ,  $p = 0,025$ ). Статистически значимых корреляций между концентрацией λ-цепей и количеством моноклеарных клеток МСЖ не зафиксировано.

Проводилось сравнение концентраций СЛЦ в слюне у больных с ПСШ, получающих и не получающих глюкокортикоиды (ГК). Группы статистически значимо не различались по клинико-лабораторным параметрам. Медиана дозы ГК по

преднизолону – 10 [5; 10] мг. Значимых различий между концентрациями СЛЦ в слюне у пациентов этих групп не выявлено.

Возможность использования определения концентрации СЛЦ в слюне для диагностики ПСШ оценивалась с помощью ROC-анализа (табл. 3).

**Обсуждение.** В течение последних 20 лет появилось большое количество публикаций, посвященных изучению слюны больных с ПСШ. В настоящем исследовании мы определяли в ней концентрацию СЛЦ. Результаты сопоставлялись с клинико-лабораторными показателями, гистологической картиной биопсийного материала МСЖ.

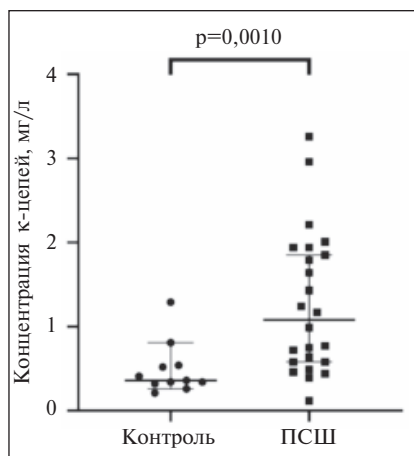
В соответствии с нашими данными концентрация СЛЦ κ и λ в слюне у больных с ПСШ выше, чем у здоровых лиц. Подобные результаты были получены P. Sandhya и соавт. [11], но в их исследовании было включено меньшее число пациентов. Увеличение концентрации СЛЦ в слюне больных с ПСШ может быть следствием повышенного синтеза плазматическими клетками в слюнных железах и/или их поступлением в слюну из крови [11, 16]. В настоящей работе показано, что гистогематический барьер слюнных желез у пациентов с ПСШ и здоровых добровольцев обладает низкой проницаемостью для альбумина и СЛЦ. Корреляций между концентрациями СЛЦ κ и λ в слюне и крови не обнаружено. Эти данные позволяют считать, что локальный синтез СЛЦ в слюнных железах преобладает над их поступлением из крови. Принимая во внимание прямую корреляцию между концентрацией κ-цепей иммуноглобулинов в слюне и удельным количеством инфильтрирующих МСЖ CD138+ клеток, плазматические клетки можно считать основным источником СЛЦ в слюне пациентов с ПСШ. При аутоиммунном сиалоадените у больных с ПСШ увеличивается количество CD138+ клеток в МСЖ [17]. Патогенетические механизмы этого феномена неизвестны. Популяция плазматических клеток в слюнных железах может увеличиваться за счет их миграции из крови и/или локальной активации и пролиферации

В-лимфоцитов в формирующихся на фоне аутоиммунного сиалоаденита лимфоидных фолликулах [17–19].

Согласно полученным нами результатам, у больных с ПСШ увеличение концентрации СЛЦ κ и λ в слюне не сопровождается изменением их соотношения. Это может быть следствием повышенного синтеза и секреции СЛЦ поликлональными плазматическими клетками, локализованными в слюнных железах [20, 21]. Поликлональная активация В-лимфоцитов – особенность патогенеза ПСШ, ассоциированная с увеличенным риском развития лимфом [10]. У пациентов с ПСШ с MALT-лимфомой слюнных желез изменяется соотношение κ/λ-цепей крови [12]. Однако сведения о диагностической значимости определения концентрации СЛЦ слюны отсутствуют.

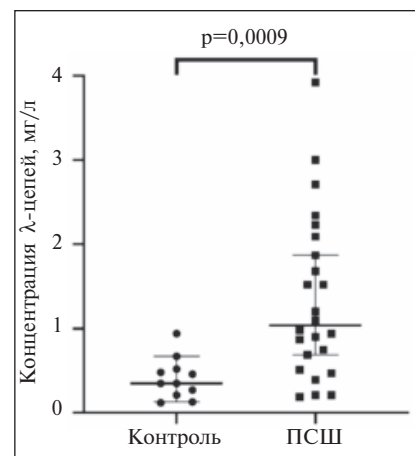
Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между концентрацией СЛЦ κ и λ в слюне и скоростью нестимулированной саливации. При выраженном аутоиммунном сиалоадените в МСЖ увеличивается число воспалительных инфильтратов. Эти изменения коррелируют с объективными признаками ксеростомии и долей плазматических клеток слюнных желез, секретирующих СЛЦ [17, 22]. В крупном международном исследовании выделены клинико-лабораторные субтипы ПСШ с проявлениями сухого синдрома и признаками гиперактивации В-лимфоцитов [23]. Корреляция между концентрацией СЛЦ κ и λ в слюне и возрастом, вероятно, связана с особенностями выборки. В исследовании участвовало небольшое число пациентов с медианой возраста 57 лет.

В настоящей работе установлены меньшие ДП концентраций СЛЦ в слюне пациентов с ПСШ, чем в исследовании P. Sandhya и соавт. [11]. Чувствительность и специфичность количественной оценки κ-цепей в слюне больных с ПСШ, по нашим данным, больше, чем в указанной выше статье. Разные объемы выборки, различия тест-систем и преаналитических этапов лабораторных исследований могли повлиять на параметры диагностического теста определения концентрации СЛЦ в слюне пациентов с ПСШ. В отличие от публикации P. Sandhya и соавт., в данной работе не проводилось сопоставления содержания



**Рис. 1.** Сравнение концентраций свободных κ-цепей иммуноглобулинов в слюне пациентов с ПСШ и в контрольной группе

**Fig. 1.** Comparison of the concentrations of free κ-chains of immunoglobulins in the saliva of patients with pSS and in the control group



**Рис. 2.** Сравнение концентраций свободных λ-цепей иммуноглобулинов в слюне пациентов с ПСШ и в контрольной группе

**Fig. 2.** Comparison of the concentrations of free λ-chains of immunoglobulins in the saliva of patients with pSS and in the control group

СЛЦ κ и λ в слюне больных с ПСШ и другими аутоиммунными заболеваниями [24]. В связи с этим рассматривать количественное определение СЛЦ в слюне как диагностический маркер ПСШ на основании полученных нами результатов преждевременно.

В нашей работе концентрации СЛЦ в слюне больных с ПСШ, получающих и не получающих ГК, статистически значимо не различались. Это позволяет говорить об отсутствии влияния средних доз ГК на секрецию СЛЦ плазматическими, инфильтрирующими слюнные железы. В клиническом исследовании P.C. Fox и соавт. [25] использование системных ГК у больных ПСШ не влияло на саливацию и выраженность аутоиммунного воспаления в МСЖ.

**Заключение.** В представленной работе показана низкая проницаемость гистогематического барьера слюнных желез для белков. Выявляемые в слюне пациентов с ПСШ белковые молекулы наиболее вероятно продуцируются локализованными в строме слюнных желез клетками. Концентрация СЛЦ κ в слюне может рассматриваться как суррогатный маркер доброкачественной В-клеточной пролиферации в МСЖ. По данным одномоментного исследования, терапия средними дозами ГК не влияет на концентрацию СЛЦ в слюне больных с ПСШ.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, et al. 2016 American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism Classification Criteria for Primary Sjögren's Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology Involving Three International Patient Cohorts. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Jan;69(1): 35-45. doi: 10.1002/art.39859. Epub 2016 Oct 26.
- Qin B, Wang J, Yang Z, et al. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2015 Nov;74(11):1983-9. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-2053. Epub 2014 Jun 17.
- Caporali R, Bonacci E, Epis O, et al. Safety and usefulness of minor salivary gland biopsy: retrospective analysis of 502 procedures performed at a single center. *Arthritis Rheum.* 2008 May 15;59(5):714-20. doi: 10.1002/art.23579.
- Thorlacius GE, Hultin-Rosenberg L, Sandling JK, et al. Genetic and clinical basis for two distinct subtypes of primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2021 Feb 1; 60(2):837-48. doi: 10.1093/rheumatology/keaa367.
- Carubbi F, Alunno A, Cipriani P, et al. Different operators and histologic techniques in the assessment of germinal center-like structures in primary Sjögren's syndrome minor salivary glands. *PLoS One.* 2019 Jan 25;14(1):e0211142. doi: 10.1371/journal.pone.0211142. eCollection 2019.
- Shoenfeld Y, Meroni PL, Gershwin ME. Autoantibodies. Waltham: Elsevier; 2014. P. 233-8.
- Brito-Zeryn P, Acar-Denizli N, Zeher M, et al. How does primary Sjögren syndrome

- present in biopsy-proven patients without circulating rola autoantibodies? Characteristics at diagnosis of 2073 patients from the Sjögren big data project. <https://acrabstracts.org/abstract/sjogren-big-data-project-influence-of-geolocation-on-the-phenotypic-expression-at-diagnosis-in-8310-patients-north-to-south-gradient/>
8. Aqrabi LA, Galtung HK, Guerreiro EM, et al. Proteomic and histopathological characterisation of sicca subjects and primary Sjögren's syndrome patients reveals promising tear, saliva and extracellular vesicle disease biomarkers. *Arthritis Res Ther*. 2019 Jul 31; 21(1):181. doi: 10.1186/s13075-019-1961-4.
  9. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun*. 2010 Jun;34(4):400-7. doi: 10.1016/j.jaut.2009.10.004. Epub 2009 Nov 3.
  10. Nocturne G, Mariette X. B cells in the pathogenesis of primary Sjögren syndrome. *Nat Rev Rheumatol*. 2018 Mar;14(3):133-45. doi: 10.1038/nrrheum.2018.1. Epub 2018 Feb 8.
  11. Sandhya P, Christudoss P, Kabeerdoss J, et al. Diagnostic accuracy of salivary and serum-free light chain assays in primary Sjögren's syndrome: a pilot study. *Int J Rheum Dis*. 2017 Jun;20(6):760-766. doi: 10.1111/1756-185X.12965. Epub 2016 Dec 30.
  12. Verstappen GM, Moerman RV, van Nimwegen JF, et al. Serum immunoglobulin free light chains are sensitive biomarkers for monitoring disease activity and treatment response in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2018 Oct 1;57(10):1812-21. doi: 10.1093/rheumatology/key180.
  13. Navazesh M, Kumar SK. Measuring salivary flow: challenges and opportunities. *J Am Dent Assoc*. 2008 May;139 Suppl:35S-40S. doi: 10.14219/jada.archive.2008.
  14. Тотолян АА. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний. *Медицинская иммунология*. 1999;1(1-2):75-108. [Totolian AA. Modern approaches to the diagnostic of immunopathological conditions. *Meditsinskaya immunologiya*. 1999;1(1-2): 75-108. (In Russ.)].
  15. Teppo H, Revonta M. A follow-up study of minimally invasive lip biopsy in the diagnosis of Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol*. 2007 Jul;26(7):1099-103. doi: 10.1007/s10067-006-0457-1. Epub 2006 Nov 25.
  16. Katsiogiannis S, Wong DTW. The Proteomics of Saliva in Sjögren's Syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*. 2016;42(3):449-56. doi: 10.1016/j.rdc.2016.03.004. Epub 2016 Jun 21.
  17. Szyszko EA, Brokstad KA, Ojordsbakken G, et al. Salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients express factors vital for plasma cell survival. *Arthritis Res Ther*. 2011 Jan 7;13(1):R2. doi: 10.1186/ar3220.
  18. Mingueneau M, Boudaoud S, Haskett S, et al. Cytometry by time-of-flight immunophenotyping identifies a blood Sjögren's signature correlating with disease activity and glandular inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jun;137(6):1809-21.e12. doi: 10.1016/j.jaci.2016.01.024. Epub 2016 Apr 1.
  19. Будкова АИ, Лапин СВ, Серебрякова МК и др. Субпопуляционный состав В-клеток периферической крови у больных системной красной волчанкой. *Медицинская иммунология*. 2017;19(2):175-84. [Budkova AI, Lapin SV, Serebriakova MK, et al. B-cell subpopulations of peripheral blood in systemic lupus erythematosus. *Meditsinskaya immunologiya*. 2017;19(2):175-4. (In Russ.)].
  20. Hamza N, Bootsma H, Yuvaraj S, et al. Persistence of immunoglobulin-producing cells in parotid salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome after B cell depletion therapy. *Ann Rheum Dis*. 2012 Nov;71(11):1881-7. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201189. Epub 2012 May 21.
  21. Takeshita M, Suzuki K, Kaneda Y, et al. Antigen-driven selection of antibodies against SSA, SSB and the centromere 'complex', including a novel antigen, MIS12 complex, in human salivary glands. *Ann Rheum Dis*. 2020 Jan;79(1):150-8. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215862. Epub 2019 Oct 14.
  22. Bookman AA, Shen H, Cook RJ, et al. Whole stimulated salivary flow: correlation with the pathology of inflammation and damage in minor salivary gland biopsy specimens from patients with primary Sjögren's syndrome but not patients with sicca. *Arthritis Rheum*. 2011 Jul;63(7):2014-20. doi: 10.1002/art.30295.
  23. Tarn JR, Howard-Tripp N, Lendrem DW, et al. Symptom-based stratification of patients with primary Sjögren's syndrome: multi-dimensional characterisation of international observational cohorts and reanalyses of randomised clinical trials. *Lancet Rheumatol*. 2019 Sep 25;1(2):e85-94. doi: 10.1016/S2665-9913(19)30042-6.
  24. Sandhya P, Kabeerdoss J, Christudoss P, et al. Salivary free light chains and salivary immunoglobulins as potential non-invasive biomarkers in primary Sjögren's syndrome. *Int J Rheum Dis*. 2022;25(1):61-9. doi: 10.1111/1756-185X.14242. Epub 2021 Nov 17.
  25. Fox PC, Datiles M, Atkinson JC, et al. Prednisone and piroxicam for treatment of primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1993 Mar-Apr;11(2):149-56.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

24.06.2022/22.11.2022/27.11.2022

#### Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Квардин Е.С. <https://orcid.org/0000-0001-8598-0391>

Холопова И.В. <https://orcid.org/0000-0001-9520-453X>

Белякова Е.А. <https://orcid.org/0000-0002-1677-9237>

Григорьева И.Н. <https://orcid.org/0000-0001-9619-1048>

Мазинг А.В. <https://orcid.org/0000-0002-3055-6507>

Ткаченко О.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-1479-6551>

Бехтерева И.А. <https://orcid.org/0000-0002-5206-3367>

Маслянский А.Л. <https://orcid.org/0000-0003-2427-4148>

Криволапов Ю.А. <https://orcid.org/0000-0002-9872-0326>

Лапин С.В. <https://orcid.org/0000-0002-4998-3699>