

Rola limfocytów T w patomechanizmie pierwotnego zespołu Sjögrena

The role of T-lymphocytes in primary Sjögren syndrome

Żaneta Smoleńska¹, Justyna Pawłowska², Zbigniew Zdrojewski¹

¹Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Katedra i Zakład Fizjopatologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Słowa kluczowe: zespół Sjögrena, limfocyty T, cytokiny, apoptoza, proces zapalny, proces autoimmunologiczny.

Key words: Sjögren syndrome, T-lymphocytes, cytokines, apoptosis, inflammatory process, autoimmune process.

Streszczenie

Zespół Sjögrena (ZS) jest chorobą tkanki łącznej o podłożu autoimmunologicznym, w przebiegu której przewlekły, postępujący proces zapalny w obrębie gruczołów łzowych i ślinowych prowadzi do upośledzenia ich funkcji sekrecyjnej, co powoduje powstanie suchości oczu i błon śluzowych jamy ustnej. Znacznie rzadziej występują objawy narządowe. Wyróżnia się pierwotny zespół Sjögrena (PZS) i wtórny zespół Sjögrena (WZS) współistniejący z innymi chorobami autoimmunologicznymi.

W patomechanizmie rozwoju PZS wymienia się wiele procesów immunologicznych, w które są zaangażowane liczne komórki układu immunologicznego. Wśród nich ważną rolę odgrywają limfocyty T, zwłaszcza w miejscowym procesie zapalnym (tab. I). Oprócz komórek układu immunologicznego, ważne znaczenie w patomechanizmie rozwoju PZS przypisuje się cytokinom, czynnikom chemotaktycznym, adhezyjnym oraz procesowi apoptozy. Dokładne poznanie roli limfocytów T jest istotne zarówno dla wyjaśnienia patomechanizmu tej choroby, jak i wprowadzenia bardziej celowanych i skutecznych metod terapii, w tym zastosowania leków biologicznych.

Wstęp

Pierwotny zespół Sjögrena (PZS) stanowi drugą pod względem częstości chorobę reumatyczną o cechach autoimmunologicznych, występującą u ok. 0,1–0,4% populacji na świecie. Pierwotny ZS jest definiowany jako auto-

Summary

Sjögren syndrome is a disease of the connective tissue with an autoimmune basis in the course of which chronic, progressing inflammatory processes in the lacrimal and salivary glands lead to the impediment of their secretory function, causing dryness of the eyes and the oral cavity; organ symptoms occur much more rarely. We can distinguish between primary and secondary Sjögren syndrome, which occur alongside other autoimmune diseases. Many cells of the immune system are involved in the not yet fully explored pathomechanism of Sjögren syndrome. Beyond doubt, type T lymphocytes play a significant role in the development of Sjögren syndrome, especially in local inflammation (Table I). Besides the cells of the immunological system, cytokines, chemotactic factors and adhesion molecules as well as apoptosis play an important role in the pathomechanism of the development of Sjögren syndrome. Acquiring precise understanding of the role of T lymphocytes is crucial for explaining the pathomechanism of this disease as well as for introducing more targeted and effective methods of therapy, including biological agents.

immunologiczna egzokrynopatia, w przebiegu której przewlekły, postępujący proces zapalny w obrębie gruczołów łzowych i ślinowych prowadzi do upośledzenia ich funkcji sekrecyjnej, co powoduje powstanie suchości oczu i jamy ustnej. Występuje głównie u kobiet, a stosunek zachorowania kobiet do mężczyzn wynosi 9 : 1 [1].

Adres do korespondencji:

dr n. med. Żaneta Smoleńska, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 7, 80-952 Gdańsk, tel. +48 58 349 28 31, faks +48 58 349 28 32, e-mail: z.smolenska@gumed.edu.pl

Praca wpłynęła: 1.07.2011 r.

Biorąc pod uwagę aspekt immunologiczny, ZS jest kompleksową reumatyczną chorobą autoimmunologiczną przejawiającą się naciekiem komórek jednojądrowych w gruczołach egzokrynych oraz obecnością autoprzeciwciał skierowanych przeciwko rybonukleoproteinie Ro/SSA i/lub La/SSB [2].

Proces niszczenia tkanki gruczołów egzokrynych przez nacieki komórkowe u chorych z powiększeniem gruczołów przyusznych i łzowych po raz pierwszy opisał w 1892 r. Polak – Jan Mikulicz-Radecki, i przez wiele lat zespół ten był określany jako choroba Mikulicza. Od 1933 r., kiedy szwedzki okulista Henryk Sjögren opublikował przypadek 40-letniej kobiety, u której wystąpiły: zapalenie rogówki i spojówki, nacieki limfocytów w spojówce, rogówce, gruczole łzowym i w śliniance przyusznej, z towarzyszącym zapaleniem stawów, obrzękiem ślinianek, suchością przełyku, a następnie opisał osiemnaście innych przypadków z podobnymi objawami, w piśmiennictwie nazwę tego schorzenia przyjęto od jego nazwiska [3].

Wśród klinicznych objawów tej choroby wymienia się, oprócz suchości jamy ustnej i oczu: nasilenie próchnicy zębów, zwiększoną częstość zakażeń grzybiczych i zapaleń jamy ustnej. Zespół Sjögrena to również choroba układowa. Takie objawy, jak: bóle stawów, objaw Raynauda, suchość skóry, powiększenie węzłów chłonnych, zmiany w płucach, nerkach, zapalenie naczyń, powiększenie śledziony, uszkodzenie wątroby, polineuropatie oraz zapalenie mózgu, należą do pozagruczolowych objawów ZS [1]. Cechy te dotyczą zarówno pierwotnego, jak i wtórnego ZS, współwystępującego z innymi układowymi chorobami tkan-

ki łącznej, najczęściej z reumatoidalnym zapaleniem stawów i toczniem rumieniowatym układowym.

Teorie dotyczące patomechanizmu zespołu Sjögrena

Patomechanizm rozwoju ZS nie został do końca poznany. Opublikowane dane wskazują na udział wielu mechanizmów [2–5], z których szczególnie istotne są:

- aktywacja komórek epitelialnych – uwalnianie autoantygenów,
- udział czynników regulujących proces immunologiczny: cytokin, czynników chemotaktycznych i adhezyjnych,
- akumulacja komórek jednojądrowych w lokalnym miejscu zapalnym (gruczoły egzokryne), w tym:
 - udział limfocytów T, zaburzenie ich funkcji i powstanie autoreaktywnych limfocytów T (tab. I),
 - wpływ autoreaktywnych limfocytów B i produkowanych przez nie autoprzeciwciał,
 - zaburzenie procesu apoptozy: nasilenie apoptozy komórek epitelialnych w objętych procesem chorobowym gruczołach, zmniejszenie oporności na apoptozę komórek immunologicznych naciekających gruczoły egzokryne.

W rozwoju tego zespołu rozważa się również rolę dysfunkcji neurologicznej i rolę czynników środowiskowych, w tym infekcji wirusowej.

Pierwotny ZS jest uznawany za chorobę reumatyczną, w patomechanizmie której komponent zapalny oraz proces autoimmunologiczny odgrywają istotną rolę. Należa-

Tabela I. Udział limfocytów T w patomechanizmie zespołu Sjögrena
Table I. The role of T lymphocytes in pathomechanism of Sjögren syndrome

Dowody wskazujące na udział limfocytów T w patomechanizmie zespołu Sjögrena	Piśmiennictwo
Znaczna przewaga odsetkowa limfocytów T w nacieku komórek jednojądrowych w gruczołach objętych procesem zapalnym	[12, 15]
Obecność limfocytów T w ośrodkach rozmnażania powstających w naciekach zapalnych (tzw. ektopowa tkanka limfatyczna) w gruczole ślinowym u niektórych pacjentów z dużym ryzykiem rozwoju chłoniaka	[13]
Obecność limfocytów T o fenotypie komórek pomocniczych i o cechach cytotoksycznych	[14]
Wzmocniona ekspresja cząsteczek adhezyjnych i chemokin obecnych w gruczołach objętych procesem chorobowym, umożliwiających migrację/aktywację limfocytów T do/w miejscowym procesie chorobowym	[18, 19]
Obecność komórek prezentujących antygen aktywujących limfocyty T w gruczołach objętych procesem zapalnym	[16]
Duże stężenie cytokin, zwłaszcza prozapalnych limfocytów T, zarówno we krwi obwodowej, jak i w lokalnym miejscu zapalnym	[4, 5, 20]
Zależność pomiędzy aktywnością choroby, stopniem zmian histologicznych w gruczole objętym procesem zapalnym a liczbą i proporcjami subpopulacji limfocytów	[12]
Zależność pomiędzy liczbą limfocytów we krwi i <i>in situ</i> – migracja limfocytów do miejsc zajętych chorobowo	[17, 29]

łoby jednak przedyskutować, który z mechanizmów wymienionych powyżej jest najbardziej istotny, inicjujący chorobę i/lub prowadzący do jej progresji oraz do rozwoju różnych objawów klinicznych, a jednocześnie może być doskonałym celem skutecznej terapii tej choroby.

Opierając się na modelu zwierzęcym ZS, można wyróżnić trzy fazy choroby wyjaśniające jej patomechanizm [3]. W pierwszej fazie inicjacji choroby ważną rolę odgrywają zarówno predyspozycje genetyczne, czynniki fizjologiczne, jak i biochemiczne związane z opóźnieniem procesu organogenezy gruczołów wydzielniczych. Ponadto zwraca się uwagę na zwiększoną w tej fazie apoptozę komórek gruczołów, upośledzenie delecji klonalnej limfocytów T i B oraz związany z tym zjawiskiem rozwój autoreaktywnych limfocytów. Druga faza choroby jest związana z infiltracją limfocytów do gruczołów zewnątrzwydzielniczych i produkcją autooprzeciwciał oraz z będącym ich następstwem niszczeniem struktur gruczołów. W tej fazie podkreśla się zarówno rolę limfocytów T i B, jak i cytokin prozapalnych. Faza trzecia, jako wynik procesów poprzedniej fazy, wiąże się bezpośrednio z brakiem sekrecyjnych funkcji gruczołów objętych procesem chorobowym.

Hansen i wsp. [6] na podstawie wyników obserwacji chorych zaproponowali swoją teorię immunopatogenezy ZS. W hipotezie tej autorzy podkreślają rolę czynników środowiskowych, które na podłożu różnych uwarunkowań genetycznych oraz zależnie od stanu hormonalnego mogą prowadzić do zaburzenia prezentacji antygenów lub też powstania neoantygenów. Kolejnym istotnym elementem wskazanym przez tych badaczy jest interakcja pomiędzy gruczołowymi komórkami epitelialnymi a komórkami układu immunologicznego – limfocytami T i B, które poprzez sieć cytokin oraz odpowiednie autooprzeciwciała indukują przetrwać odpowiedź zapalną i proces autoimmunizacji, co prowadzi do dysfunkcji gruczołów.

Katsifis i wsp. [7] w zaproponowanej własnej teorii patomechanizmu choroby podkreślają, że miejscem inicjującym proces zapalny w ZS są komórki epitelialne gruczołu ślinowego. Ponadto zwracają uwagę na udział w tym procesie wydzielanego przez te komórki interferonu γ (IFN- γ) oraz podkreślają istotną rolę produkowanych czynników chemotaktycznych, regulujących migrację komórek układu immunologicznego do miejsca objętego procesem zapalnym. W dalszej kolejności, wg tych autorów, zachodzi proces prezentacji antygeny przez komórki epitelialne, który prowadzi do aktywacji limfocytów T i ich różnicowania w kierunku limfocytów T-pomocniczych – Th-1, Th-2, Th-17 i NKT (*natural killer T-cells*) – oraz komórek regulatorowych w zależności od cech środowiska. Następnym istotnym procesem jest aktywacja limfocytów B i sekrecja autooprzeciwciał.

Podobny patomechanizm przedstawił Gottenberg dla zaprezentowania patomechanizmu PZS u ludzi [5]. Autor

ten w pierwszej kolejności wymienia czynniki środowiskowe (wirusy), czynniki hormonalne, które prowadzą do aktywacji komórek epitelialnych. Mechanizm ten zachodzi u pacjentów z genetycznie uwarunkowanymi predyspozycjami związanymi z zaburzeniami w obrębie genów szlaku IFN. U tych osób występuje aktywacja szlaku IFN, co z kolei prowadzi do zwiększenia ilości BAFF (*B-cell activating factor of the TNF family*), odpowiedzialnego za aktywację głównie limfocytów B. Autor ten podkreśla również rolę autooprzeciwciał oraz kompleksów immunologicznych, które wpływają na uwalnianie IFN przez komórki dendrytyczne.

We wszystkich proponowanych modelach opisujących patomechanizm ZS zwraca się uwagę, że czynnikiem prowadzącym do niszczenia gruczołów i rozwoju choroby jest proces zapalny oraz bezpośrednio inicjujące go komórki.

Rola limfocytów T w patomechanizmie zespołu Sjögrena

Istotnym zagadnieniem dotyczącym udziału czynnika immunologicznego w patomechanizmie ZS jest odpowiedź na pytanie, które z dwóch grup limfocytów – T czy B – są głównym elementem rozwoju tej choroby. Znalezienie odpowiedzi na to pytanie jest bardzo ważne, zwłaszcza biorąc pod uwagę możliwości wykorzystania nowych, ukierunkowanych biologicznych sposobów leczenia tej choroby.

W wielu badaniach klinicznych nad zastosowaniem terapii biologicznej u pacjentów z PZS podkreślana jest skuteczność leczenia eliminującego limfocyty B (rituksymab, przeciwciało anti-CD20), zwłaszcza w aspekcie rozwoju chłoniaka u tych pacjentów [8]. Wyniki badań klinicznych z zastosowaniem leczenia polegającego na neutralizacji TNF- α okazały się jednak mniej jednoznaczne, a nawet sprzeczne. Steinfeld i wsp. [9] wykazali na małej grupie pacjentów z PZS, że neutralizacja TNF- α jest skutecznym i dobrze tolerowanym postępowaniem terapeutycznym, skierowanym zarówno na systemowe, jak i miejscowe objawy choroby. W badaniu z randomizacją z zastosowaniem placebo na większej grupie pacjentów nie potwierdzono jednak tych obserwacji [10].

Obecne badania kliniczne skupiły się na innych cytokinach odgrywających istotną rolę w aktywacji limfocytów B oraz na należącym do rodziny TNF – BAFF [5].

Chociaż w wielu pracach podkreśla się znaczenie zarówno limfocytów T, jak i B w patomechanizmie ZS, w większości prac badawczych uwagę skupiono na limfocytach B jako komórkach odgrywających znaczącą rolę w rozwoju tej choroby, nawet poprzez proces aktywacji niezależny od limfocytów T [11]. Na ich udział zwraca uwagę stwierdzana u chorych hipergammaglobulinemia i obecność krążących autooprzeciwciał, w tym anti-SSA/Ro i anti-SSB/La. Inną kwestią jest również znacznie częstszy niż w innych układowych chorobach tkanki łącznej rozwój

chłoniaków, zwłaszcza chłoniaka z limfocytów B strefy brzeżnej. Wyniki badania histologicznego ślinianek osób z ZS sugerują jednak istotną rolę limfocytów T, ponieważ w ich obrazie stwierdza się nacieki komórek jednojądrowych, przy stosunku komórek T do B 80% : 20% [1, 12].

Wyniki badań histologicznych ślinianek wskazują na znaczny udział limfocytów T w procesie zapalnym *in situ*, wobec czego podjęcie dalszej dyskusji na temat roli limfocytów T w patomechanizmie ZS wydaje się słuszne. Rozpatrując wyniki tych badań, warto podkreślić charakterystyczne rozmieszczenie komórek naciekających ślinianki. Limfocyty T i limfocyty B lokalizują się głównie w nabłonku przewodów ślinianek (*ductal epithelial*), a makrofagi i komórki dendrytyczne naciekają cały narząd, przy czym największe skupiska komórkowe są zlokalizowane w pobliżu przewodu ślinianek [12]. Salomonsson i wsp. [13] u 17% pacjentów z ZS z objawami pozagruzołowymi wykazali w obrazie histopatologicznym nacieków komórkowych w śliniankach obecność ośrodków rozmnażania (*germinal center* – GC), w których stwierdzili limfocyty T i B. Struktury te są charakterystyczne dla narządów limfatycznych.

Warto zwrócić uwagę na dominujący fenotyp limfocytów T naciekających gruczoły ślinowe. Wykazano, że komórkami naciekającymi gruczoły ślinowe są limfocyty T o fenotypie komórek pomocniczych Th (*T-helper*) [14]. Katsifis i wsp. [7] udowodnili, że w gruczole ślinowym limfocyty Th przeważają nad limfocytami T cytotoksycznymi. W innym badaniu stwierdzono jednak, że wśród limfocytów Th obecnych jest aż 20% komórek cechujących się ekspresją perforyny, a tym samym wykazujących aktywność cytotoksyczną [14]. Inna grupa badawcza dodatkowo odnotowała, że wśród limfocytów T-pomocniczych znaczną większość stanowią komórki pamięci [15]. Kolejnym dowodem potwierdzającym udział limfocytów T w patomechanizmie choroby, związanym z zapoczątkowaniem lokalnego procesu immunologicznego, są wyniki badań wykazujące, że proces prezentacji antygenów limfocytom T, a tym samym ich aktywacja, odbywa się *in situ* w śliniankach. Esch i wsp. wykazali, że komórki epitelialne gruczołów ślinowych wykazują ekspresję cząsteczek kostymulujących, a tym samym biorą udział we wspomnianych procesach [16].

W innym badaniu zwrócono uwagę na zmianę udziału proporcji limfocytów *in situ* w zależności od stopnia zaawansowania i przewlekłości nacieku komórkowego ślinianek. Wykazano, że liczba limfocytów T-pomocniczych (CD4+) się zmniejsza, natomiast limfocytów B zwiększa się wraz ze stopniem nasilenia nacieku zapalnego gruczołów. Warto dodać, że nie wykazano zależności pomiędzy aktywnością choroby a liczbą komórek cytotoksycznych CD8+, jak również komórek NK (*natural killers*). Liczba makrofagów, tak jak i limfocytów B, zwiększała się wraz z aktywnością choroby, natomiast liczba komórek den-

drytycznych ulegała zmniejszeniu [12]. Wspomniani autorzy oceniali również korelację pomiędzy liczbą komórek układu immunologicznego a poziomem autooprzeciwciał u pacjentów. Stwierdzili, że liczba limfocytów T się zmniejszała, a limfocytów B i komórek NK zwiększała się wraz ze wzrostem poziomu czynnika reumatoidalnego (*rheumatoid factor* – RF).

Szodoray i wsp. badali fenotyp oraz zmiany limfocytów T na obwodzie u chorych z PZS [17]. Autorzy pracy nie wykazali żadnych zmian ogólnej liczby limfocytów T, jak również limfocytów B pomiędzy pacjentami z PZS a grupą kontrolną. Wykazali natomiast zwiększenie odsetka komórek T mających ekspresję wczesnego antygeny aktywacji – CD69, co podkreśla stan aktywacji limfocytów na obwodzie. W cytowanej pracy stwierdzono także zwiększony odsetek komórek NK oraz NKT, natomiast znacznie niższy odsetek komórek T pamięci. Liczba limfocytów T i B pozytywnie korelowały z poziomem RF, podkreślając tym samym rolę obu kompartmentów w odpowiedzi humoralnej [17].

Powyższe obserwacje wydają się potwierdzać ważną rolę limfocytów T w zapoczątkowaniu miejscowego procesu zapalnego oraz ich bezpośredniego udziału w procesie niszczenia gruczołów lub też, z uwagi na fakt obecnej aktywacji już na obwodzie, ich udziału w patologii systemowej ZS. Wykazana u pacjentów z ZS obecność limfocytów T pamięci *in situ*, zmniejszenie odsetka komórek T na obwodzie, jak również zmiany liczebności limfocytów w zależności od aktywności choroby świadczą o przemieszczaniu się tych komórek z obwodu do lokalnego miejsca zapalenia.

Cząsteczki adhezyjne i chemokiny w patomechanizmie zespołu Sjögrena – udział limfocytów T w miejscowym procesie zapalnym

Omawiając zagadnienie dotyczące udziału limfocytów T w patogenezie ZS należy przytoczyć wyniki badań dotyczących cząsteczek adhezyjnych czy też czynników chemotaktycznych – chemokin, które „przyciągają” odpowiadające im komórki do miejsc zapalnych w gruczołach.

Chemokiny są dużą grupą białek odgrywających ważną rolę w procesie zapalnym poprzez wpływ na aktywację, regulację i proliferację komórek układu immunologicznego, a przede wszystkim poprzez regulację migracji komórek układu immunologicznego. Adhezyny to białka uczestniczące w przyleganiu komórek do siebie, w interakcjach międzykomórkowych w tkance i migracji komórek do miejsca zapalenia.

Salomonsson i wsp. [13] wykazali w śliniankach chorych z ZS obecność czynników chemotaktycznych dla limfocytów, zwłaszcza dla limfocytów T, takich jak CXCL12 [*chemokine (C-X-C motif) ligand 12*], CXCL13 [*C-X-C motif*

chemokine 13], CCL21 [*chemokine (C-C motif) ligand 12*], jak i cząsteczek adhezyjnych: ICAM-1 (*inter-cellular adhesion molecule 1*), będącego ligandem dla integryny LFA-1, receptora obecnego na powierzchni leukocytów; VCAM-1 (*vascular cell adhesion protein 1*) – czynnika adhezyjnego głównie dla limfocytów, będącego ligandem dla integryny VLA-4 (*very late antigen-4*). Badania immunohistochemiczne biopsji ślinianek pacjentów z PZS pokazały, że komórki epitelialne wykazują wysoką ekspresję makrofagalnych protein zapalnych MIP, interleukiny 8 (IL-8) oraz RANTES (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*) [18]. Cechy te nie były obserwowane w tkance zdrowej. Wyniki tych badań wskazują, że komórki epitelialne wydzielają różne chemokiny przyciągające komórki układu immunologicznego, w tym limfocyty T, do lokalnego miejsca zapalnego.

Kolejne badania wykazały wysoką ekspresję IL-8 w nabłonku spojówki. Cytokina ta działa chemotaktycznie na neutrofile, eozynofile, bazofile, jak również limfocyty T [19]. Wyniki te potwierdziły więc zaangażowanie limfocytów T i innych komórek układu immunologicznego w miejscowym procesie zapalnym, nie tylko w śliniankach, lecz także w nabłonku spojówki.

Rola cytokin w patomechanizmie zespołu Sjögrena

Na podstawie wyników dotychczasowych badań uważa się, że limfocyty, które naciekają gruczoły objęte procesem zapalnym w przebiegu ZS, wydzielają zarówno cytokiny charakterystyczne dla odpowiedzi Th-1, jak i Th-2 oraz Th-17, mimo że stosunek Th-1 do Th-2 jest przesunięty w kierunku odpowiedzi Th-1. Stwierdza się więc głównie zwiększenie liczby takich cytokin, jak: IFN- γ , IL-2, IL-10, IL-6, IL-17, zwłaszcza w miejscowym procesie zapalnym [3–5, 20].

Omawiając te zagadnienia, należy rozgraniczyć wyniki badań z wykorzystaniem krwi obwodowej od wyników badań bioptatów gruczołów egzokrynych. Stwierdzenie zwiększonego stężenia IL-17 we krwi obwodowej podkreśla ważny udział tej stosunkowo niedawno odkrytej prozapalnej subpopulacji komórek Th-17 [21]. Potwierdzają to m.in. badania Katsifisa i wsp., które wykazały obecność komórek Th-17 w gruczołach ślinowych oraz zwiększone stężenie cytokiny IL-17 w surowicy pacjentów z PZS [21].

Lee i wsp. [3] wśród najważniejszych cytokin uczestniczących w patogenezie ZS wymieniają IFN- γ , odgrywający ważną rolę w apoptozie komórek gruczołu (*acinar tissue*), IL-4 uczestniczącą w rozwoju komórek B, jak również w proliferacji i różnicowaniu limfocytów T, IL-17 – prozapalną cytokinę, indukującą wytwarzanie wielu cytokin prozapalnych, chemokin i enzymów degradujących tkankę łączną, która szczególnie w aspekcie patomechanizmu ZS i jej wysokiego poziomu na obwodzie również bierze

udział w procesie dojrzewania i migracji neutrofilów doprowadzającym do zniszczenia gruczołu.

Fox i wsp. [22] stwierdzili natomiast, że komórki epitelialne syntetyzują znacznie więcej IL-1, IL-6, IL-10, jak również TNF- α niż te same komórki osób zdrowych. Autorzy ci stwierdzili obecność tych cytokin i dodatkowo IFN- γ w ślinie chorych, podkreślając zaangażowanie tych cząsteczek w rozwój lokalnego stanu zapalnego. Badania Kolkowskiego i wsp. [23] potwierdzają wysoką ekspresję cytokin charakterystycznych dla odpowiedzi Th-1, takich jak IL-2, IFN- γ , IL-12, IL-18, TNF- α w bioptatach ślinianek osób z ZS, natomiast nie wykazały wysokiej ekspresji cytokin charakterystycznej dla odpowiedzi Th-2, np. IL-4. Autorzy nie wykazali również różnic w ekspresji tych cytokin w zależności od stopnia aktywności choroby ocenionej w skali Chisholm's. Zauważyli jedynie dodatnią zależność IL-2 oraz IFN- γ od czasu trwania choroby. Roescher i wsp. [20] przedstawili wyniki pracy potwierdzające wysoką ekspresję IFN, TNF- α , IL-6, IL-12 i IL-18, a dodatkowo BAFF, natomiast niską ekspresję cytokin przeciwzapalnych – IL-4 oraz TGF- β w gruczołach egzokrynych u osób z ZS.

Badania Hagiwary i wsp. [24] wykazały, że liczba komórek jednojądrowych we krwi obwodowej, w tym limfocytów T wydzielających IL-2, jak również IFN- γ , jest znacznie obniżona u osób chorych w porównaniu z osobami zdrowymi. Wspomniani autorzy stwierdzili ponadto u pacjentów z wysoką aktywnością choroby, głównie z obecnością układowego zapalenia naczyń, znacznie mniejszą liczbę komórek jednojądrowych produkujących IFN- γ na obwodzie w porównaniu z pozostałymi pacjentami. Niektóre wyniki badań wykazały jednak duże stężenie tej cytokiny w surowicy pacjentów z PZS w porównaniu z osobami zdrowymi [17]. Biorąc pod uwagę fakt, że istotnym źródłem tej cytokiny są komórki dendrytyczne oraz uwzględniając wysoką ekspresję tej cytokiny w gruczołach egzokrynych, należy stwierdzić, że IFN- γ odgrywa znaczącą rolę w lokalnym procesie zapalnym [4].

Wyniki tych badań wskazują na istotny udział cytokin, zwłaszcza w miejscowym procesie zapalnym, i dodatkowo, że komórki wydzielające cytokiny obecne w gruczołach egzokrynych przemieszczają się z obwodu do miejsc zajętych chorobowo.

Osobnego omówienia wymaga udział TNF- α w patogenezie ZS. Cytokinie tej przypisuje się duży udział w chorobach autoimmunologicznych, zwłaszcza w patogenezie RZS. W badaniu na modelu zwierzęcym ZS potwierdzono, że TNF- α bierze bezpośrednio udział w procesie niszczenia gruczołów łzowych, a jego inhibicja zapobiega ich niszczeniu [25]. Podobną rolę tej cytokiny w patomechanizmie niszczenia komórek ślinianek wykazano w badaniach *in vitro* na ludzkich komórkach ślinianek [26], chociaż wyniki badań klinicznych dotyczących skuteczności terapii anty-TNF- α w ZS nie wykazały zmniejszenia objawów choroby

po terapii z zastosowaniem rozpuszczalnego receptora TNF- α , a co więcej – w badaniach tych wykazano zastanawiający wzrost ilości TNF- α we krwi po stosowaniu tej terapii [10]. Nieskuteczność leczenia neutralizującego TNF- α wskazuje, że cytokina ta nie ma kluczowego znaczenia w ZS.

W odróżnieniu od TNF- α , w patomechanizmie ZS szczególnie istotny wydaje się BAFF, który uczestniczy w reaktywacji zarówno limfocytów B, jak i T. Wykazano jego duże stężenie zarówno w ślinie, jak i w surowicy oraz wysoką ekspresję w gruczołach egzokrynych objętych procesem chorobowym [20]. Synteza BAFF indukowana jest przez IFN, a jego głównym źródłem wytwarzania są limfocyty T, natomiast główną komórką odbiorczą są limfocyty B, wpływając na ich przeżycie [4]. Wyniki badań wskazują również, że BAFF wpływa na formowanie wspomnianych już wcześniej ośrodków rozmnażania w gruczołach ślinowych, podkreślając tym samym fakt jego udziału w nowotworzeniu.

Udział limfocytów T-regulatorowych w zespole Sjögrena

Ogromną rolę w tolerancji immunologicznej przypisuje się limfocytom T-regulatorowym, wykazującym ekspresję czynnika transkrypcyjnego FoxP3 (*forkhead box P3*) oraz wysoką ekspresję antygenu CD25. Populacja ta charakteryzuje się zdolnością do supresji odpowiedzi immunologicznej i jest odpowiedzialna za utrzymywanie obwodowej tolerancji immunologicznej – poprzez hamowanie aktywacji i ekspansji komórek T, zdolnych do reakcji na własne antygeny. Z tego też względu przypuszcza się, że wiele chorób autoimmunizacyjnych może być spowodowanych brakiem lub zmniejszeniem ilości i/lub zaburzeniem funkcji komórek regulatorowych. Wyniki badań dotyczących zaangażowania tej subpopulacji limfocytów w patomechanizmie ZS są sprzeczne.

Gottenberg i wsp. [27] wskazują, że limfocyty regulatorowe o fenotypie CD4+CD25^{high}, o zachowanej funkcji supresyjnej – dotyczącej hamowania odpowiedzi limfocytów efektorowych – występują we krwi obwodowej u osób z PZS w wyższym odsetku niż w grupie kontrolnej. Autorzy tłumaczą swoje obserwacje tym, że zwiększenie się liczby limfocytów regulatorowych stanowi regulację zwrotną, będącą odpowiedzią na toczący się proces autoimmunologiczny, która jednak nie jest wystarczająca do supresji zachodzącego procesu zapalnego.

Różnice w rezultatach przeprowadzonych badań mogą wynikać ze stosowania różnych metod laboratoryjnych oznaczania tej subpopulacji komórek. W wielu pracach komórki te były oznaczane nie za pomocą specyficznych markerów powierzchniowych tych komórek, jak w badaniu cytowanym powyżej, ale poprzez obecność czynnika transkrypcyjnego FoxP3, uważanego za charakterystyczny dla tych

komórek. W badaniach stosujących ten sposób oznaczenia nie wykazano różnic dotyczących liczby komórek z ekspresją czynnika transkrypcyjnego FoxP3 we krwi obwodowej pomiędzy grupą kontrolną a chorymi z PZS [28, 29]. Wyniki te są z kolei sprzeczne z wynikiem badania cytowanego wcześniej.

Omawiając tę subpopulację limfocytów, należy rozważyć zależność ich odsetka we krwi obwodowej od oceny aktywności choroby ustalonej na podstawie badania immunohistochemicznego wycinka ślinianek.

Osoby z wysoką aktywnością choroby charakteryzowały się wyższym odsetkiem komórek regulatorowych FoxP3+ w porównaniu z osobami chorymi ze średnią aktywnością choroby, a także osobami z grupy kontrolnej. Osoby ze średnią aktywnością choroby charakteryzowały się statystycznie niższą liczbą komórek regulatorowych niż osoby z grupy kontrolnej [28]. Sarigul i wsp. [29] w swoim badaniu nie wykazali jednak zależności pomiędzy liczbą komórek regulatorowych na obwodzie a aktywnością choroby.

Osobnego omówienia wymagają wyniki badań dotyczące analizy liczby komórek regulatorowych *in situ*. W jednym z badań nie wykazano różnic pomiędzy pacjentami z PZS a grupą kontrolną [28]. Związek pomiędzy liczbą komórek regulatorowych a aktywnością choroby, ustaloną na podstawie badania biopsji gruczołu ślinowego, był nietypowy. Ocena komórek regulatorowych w bioptacie wykazała największy udział ilościowy limfocytów mających ekspresję FoxP3 u osób ze średnią aktywnością choroby w porównaniu z pacjentami z małą oraz wysoką aktywnością choroby.

Sarigul i wsp. [29] wykazali, że oprócz większej liczby komórek regulatorowych FoxP3+ w śliniankach osób z PZS w porównaniu z grupą kontrolną, liczba ta korelowała ze skalą aktywności choroby, wskazując tym samym na znaczącą rolę tych komórek w patomechanizmie PZS. We krwi zauważono natomiast odwrotną zależność ilościową limfocytów FoxP3+ w odniesieniu do ich liczby w śliniance, co z kolei wskazuje na migrację tych komórek z krążenia do lokalnego miejsca zapalenia [28, 29].

Podsumowanie

W patomechanizmie PZS zaangażowanych jest wiele komórek układu immunologicznego. Niewątpliwie limfocyty T odgrywają znaczącą rolę w patomechanizmie PZS, ponieważ biorą udział w miejscowym procesie zapalnym prowadzącym do niszczenia gruczołów egzokrynych.

Z uwagi na brak jednoznacznych kryteriów klasyfikacyjnych PZS oraz specyficznego leczenia tej jednostki chorobowej, ważnym celem dociekań naukowych jest poznanie dokładnej roli tych komórek i ich charakterystyki, a przez to znalezienie skutecznego i specyficznego sposobu leczenia.

Piśmiennictwo

1. Fox PC. Autoimmune diseases and Sjögren's syndrome – an autoimmune exocrinopathy. *Oral-Based Diagnostics* 2007; 1098: 15-21.
2. Jonsson R, Vogelsang P, Volchenkov R, et al. The complexity of Sjögren's syndrome: Novel aspects on pathogenesis. In: *Immunology Letters*, Elsevier 2011.
3. Lee BH, Tudares MA, Nguyen CQ. Sjögren's syndrome: an old tale with a new twist. *Arch Immunol Ther Exp* 2009; 57: 57-66.
4. Nikolov NP, Illei GG. Pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 465-470.
5. Gottenberg JE. Primary Sjögren's syndrome: pathophysiological, clinical and therapeutic advances. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 591-594.
6. Hansen A, Lipsky PE, Dörner T. Immunopathogenesis of primary Sjögren's syndrome: implications for disease management and therapy. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17: 558-565.
7. Katsifis GE, Moutsopoulos NM, Wahl SM. T lymphocytes in Sjögren's syndrome: contributors to and regulators of pathophysiology. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; 32: 252-264.
8. Pijpe J, van Imhoff GW, Vissink A, et al. Changes in salivary gland immunohistology and function after rituximab monotherapy in a patient with Sjögren's syndrome and associated MALT lymphoma. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 958-960.
9. Steinfeld SD, Demols P, Appelboom T. Infliximab in primary Sjögren's syndrome – one-year followup. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3301-3303.
10. Mariette X, Ravaud P, Steinfeld S, et al. Infliximab in primary Sjögren's syndrome: open extension 2 of the TRIPSS study in 64 patients. *Arthritis Rheum* 2004; 50: S574-S575.
11. Varin M-M, Le Pottier L, Youinou P, et al. B-cell tolerance breakdown in Sjögren's Syndrome: Focus on BAFF. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 604-608.
12. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Characteristics of the minor salivary gland infiltrates in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun* 2010; 34: 400-407.
13. Salomonsson S, Jonsson MV, Skarstein K, et al. Cellular basis of ectopic germinal center formation and autoantibody production in the target organ of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3187-3201.
14. Xanthou G, Tapinos NI, Polihronis M, et al. CD4 cytotoxic and dendritic cells in the immunopathologic lesion of Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 1999; 118: 154-163.
15. Skopouli FN, Fox PC, Galanopoulou V, et al. T-cell subpopulations in the labial minor salivary-gland histopathologic lesion of Sjögren syndrome. *J Rheumatol* 1991; 18: 210-214.
16. Esch TR. Pathogenetic factors in Sjögren's syndrome: Recent developments. *Critical Rev Oral Biol Med* 2001; 12: 244-251.
17. Szodoray P, Gal I, Barath S, et al. Immunological alterations in newly diagnosed primary Sjögren's syndrome characterized by skewed peripheral T-cell subsets and inflammatory cytokines. *Scand J Rheum* 2008; 37: 205-212.
18. Wakefield D, Palladinetti P, Tedla N, et al. Chemokine expression in primary Sjögren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: S553-S573.
19. Pflugfelder SC, Jones D, Ji ZH, et al. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999; 19: 201-211.
20. Roescher N, Tak PP, Illei GG. Cytokines in Sjögren's syndrome: potential therapeutic targets. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 945-948.
21. Katsifis GE, Rekka S, Moutsopoulos NM, et al. Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjögren's syndrome immunopathogenesis. *Am J Pathol* 2009; 175: 1167-1177.
22. Fox RI, Kang HI, Ando D, et al. Cytokine messenger – RNA expression in salivary-gland biopsies of Sjögren's syndrome. *J Immunol* 1994; 152: 5532-5539.
23. Kolkowski EC, Reth P, Pelusa F, et al. Th1 predominance and perforin expression in minor salivary glands from patients with primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmunity* 1999; 13: 155-162.
24. Hagiwara E, Pando J, Ishigatsubo Y, Klinman DM. Altered frequency of type 1 cytokine secreting cells in the peripheral blood of patients with primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol* 1998; 25: 89-93.
25. Hunger RE, Muller S, Laissue JA, et al. Inhibition of submandibular and lacrimal gland infiltration in nonobese diabetic mice by transgenic expression of soluble TNF-receptor p55. *J Clin Invest* 1996; 98: 954-961.
26. Azuma M, Motegi K, Aota K, et al. Role of cytokines in the destruction of acinar structure in Sjögren's syndrome salivary glands. *Lab Invest* 1997; 77: 269-280.
27. Gottenberg JE, Lavie F, Abbed K, et al. CD4 CD25(high) regulatory T cells are not impaired in patients with primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmunity* 2005; 24: 235-242.
28. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Foxp3(+) T-Regulatory Cells in Sjögren's Syndrome Correlation with the Grade of the Autoimmune Lesion and Certain Adverse Prognostic Factors. *Am J Pathol* 2008; 173: 1389-1396.
29. Sarigul M, Yazisiz V, Bassorgun CI, et al. The numbers of Foxp3(+) Treg cells are positively correlated with higher grade of infiltration at the salivary glands in primary Sjögren's syndrome. *Lupus* 2010; 19: 138-145.