

# Sześćdziesięciolecie odkrycia komórek LE

60<sup>th</sup> anniversary of discovery of the LE cell

Irena Zimmermann-Górska

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

**Słowa kluczowe:** zjawisko LE, komórki LE, toczeń rumieniowaty układowy.

**Key words:** LE phenomenon, LE cells, systemic lupus erythematosus.

## Streszczenie

Odkrycie zjawiska LE przed 60 laty stało się kamieniem milowym w nowoczesnej immunologii klinicznej – była to pierwsza metoda wykrywania przeciwciał przeciw dsDNA. „Obecność komórek LE” w preparatach wykonywanych *in vitro* stanowiła przez ok. 30 lat główne „zaburzenie immunologiczne” wśród kryteriów klasyfikacyjnych toczenia rumieniowatego układowego. Obecnie ta „żmudna” metoda badań została zastąpiona przez metodę immunofluorescencji i ELISA. Jednakże stwierdzenie obecności komórek LE powstających *in vivo* w wysiękach w jamie opłucnej, worku osierdziowym, płynie mózgowo-rdzeniowym, a także w płynie stawowym powinny stanowić nadal „narzędzie” diagnostyczne. Jednocześnie kontynuowane są ostatnio badania dotyczące wpływu przeciwciał przeciwnuklearnych przenikających *in vivo* do jąder komórkowych i z tego punktu widzenia zjawisko LE ponownie może służyć wyjaśnieniu roli autoimmunizacji w patogenezie chorób autoimmunologicznych.

## Summary

The discovery of the LE phenomenon 60 years ago was a milestone of modern clinical immunology – it was the first method for the detection of anti-dsDNA antibodies. “Positive LE preparation” was for about 30 years the first of the “immunological disorders” in the Criteria for the Classification of systemic lupus erythematosus. Nowadays this “arduous” method is generally replaced by immunofluorescence and ELISA. However, LE cells formed *in vivo* in effusions in cerebro-spinal fluid and in synovial fluid should still be diagnostic tools. Studies aimed at an explanation of the cell biological basis of the LE phenomenon are continued and they are important from the point of view of autoimmune diseases pathogenesis in general.

## Wstęp

W 2008 r. minęło 60 lat od odkrycia komórek LE (nazwa od *systemic lupus erythematosus* – toczeń rumieniowaty układowy, SLE) przez Hargravesa i jego współpracowników – Mortona i Richmond z Mayo Clinic [1–3]. Odkrywcy opisali je jako „dojrzałe granulocyty wielojądrowe, które sfagocytowały materiał jądrowy barwiący się metodą Feulgena”. Obecność komórek LE stwierdzali w preparatach szpiku kostnego, który był wcześniej poddany inkubacji. Odkrycie było „przypadkowe”, gdyż do inkubacji doszło w sposób niezamierzony... Określenie „komórki LE” wprowadzono w związku z obserwacją,

iż pojawiały się one wyłącznie w szpiku pochodzącym od chorych, u których podejrzewano lub rozpoznano toczeń rumieniowaty układowy. Nieco później Sundberg i Lich [4] stwierdzili, że do zjawiska LE dochodzi także wtedy, gdy inkubuje się „kożuszek” utworzony przez leukocyty na powierzchni próbki krwi obwodowej pobranej od osób chorych na SLE. Komórki LE powstawały ponadto podczas inkubacji surowicy tych chorych ze szpikiem kostnym pochodzącym od osób bez objawów SLE. Stało się więc jasne, że za ich powstawanie musi być odpowiedzialny czynnik znajdujący się w surowicy. Dalsze badania wykazały, że „czynnik LE” należy do frakcji globulin  $\gamma$ , a więc – że są to przeciwciała [5, 6].

---

### Adres do korespondencji:

prof. dr hab. med. Irena Zimmermann-Górska, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. 28 Czerwca 1956 r. 135/147, 61-545 Poznań, e-mail: zimmermannhorska@hotmail.com

**Praca wpłynęła:** 23.02.2009 r.

## Powstawanie komórek LE *in vitro*

Proces powstawania komórek LE rozpoczyna się od interakcji przeciwciał zawartych w surowicy i jąder komórkowych. Dochodzi do homogenizacji i pęcznienia jąder, które następnie zostają uwolnione z komórek jako „ciałka LE”. W obecności dopełniacza ciałka te są fagocytowane – głównie przez granulocyty – i powstają komórki LE.

Technika wykonania testu mającego na celu wywołanie zjawiska LE jest bardzo prosta. Inkubacja pobranej „na skrzep” krwi żyłnej i mechaniczne uszkodzenie komórek (przetarcie przez metalowe sito) ułatwiają ten proces. Z uzyskanego po odwirowaniu „kożuszka” leukocytów wykonuje się rozmazy, w których po wybarwieniu metodą Maya-Grünwalda-Giemsy w mikroskopie świetlnym określa się liczbę powstałych komórek LE na 500 „ocalałych” granulocytów [5].

Dodatni test na obecność komórek LE był przez ok. 30 lat pierwszym z „zaburzeń immunologicznych” należących do kryteriów klasyfikacyjnych SLE [7]. Pomiędzy je dopiero w zmodyfikowanych kryteriach wprowadzonych przez Amerykańskie Kolegium Reumatologiczne (ACR) w 1997 r. [8].

## Dalsze badania związane ze zjawiskiem LE

Po ok. 10 latach od odkrycia komórek LE wykazano, że za zjawisko LE odpowiedzialne są przeciwciała przeciw natywnemu DNA (dsDNA), które odgrywają główną rolę w patogenezie SLE. Opracowano wówczas wiele nowych technik wykrywania przeciwciał, opartych na immunoprecypitacji, odczynie wiązania dopełniacza i hemaglutynacji. Później powstały kolejne metody, stosowane obecnie rutynowo – immunofluorescencja i ELISA – pozwalające nie tylko na stwierdzenie obecności przeciwciał, ale równocześnie na dokładne sprecyzowanie ich swoistości [9, 10]. Metody te – co jest oczywiste – zastąpiły żmudne liczenie komórek LE, które musiało przejść do historii. W piśmiennictwie ukazały się artykuły zatytułowane m.in. „Komórki LE na emeryturze” [11], a nawet „Śmierć komórek LE” [12]. Równocześnie jednak często podkreśla się, że odkrycie komórek LE było kamieniem milowym dla nowoczesnej immunologii klinicznej – rozpoczęło ono erę autopreciwciał! W niektórych laboratoriach w Polsce nadal wykonuje się „test LE”. Liczba komórek LE zwiększa się często wraz ze wzrostem aktywności SLE, co odgrywa rolę w monitorowaniu przebiegu choroby.

Pomimo „przechodzenia do historii” zjawisko LE jest nadal przedmiotem badań mających na celu wyjaśnienie procesów toczących się w komórkach w jego przebiegu. Zauważono niedawno, że przeciwciała przeciw dsDNA należące do immunoglobulin klasy G mogą

przenikać do jąder żywych komórek, hamować w ich obrębie reakcje enzymatyczne i indukować apoptozę [13–15]. „Ciałka LE” powstawałyby więc w wyniku apoptozy. Powyższe spostrzeżenia mogą mieć znaczenie dla dalszych badań zmierzających do określenia roli przeciwciał przeciw antygenom wewnątrzkomórkowym w patofizjologii chorób autoimmunologicznych.

## Komórki LE powstające *in vivo*

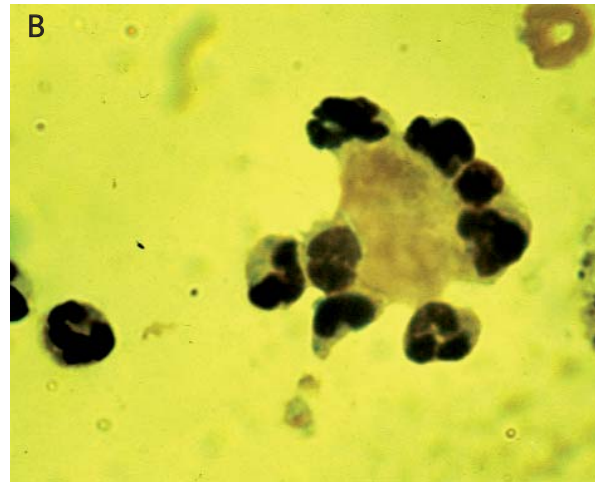
Rezygnując z oznaczania komórek LE jako testu diagnostycznego, zapomina się, że są one często tworzone *in vivo* w wysięku powstającym w jamie opłucnej lub osierdziowej u chorych na SLE [16]. Komórki te spostrzega się także w płynie stawowym w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego (SLE) i reumatoidalnego zapalenia stawów (RA) oraz zespołu nakładania tych chorób (SLE/RA) [17–22]. W jamie stawowej w tych przypadkach zachodzą dogodne warunki dla zjawiska LE: obecne są przeciwciała przeciw dsDNA, uszkodzona jest bariera naczyniowo-maziówkowa, w płynie stawowym występują liczne granulocyty obojętnochłonne znajdujące się w stanie „inkubacji”, które ulegają mechanicznym urazom związanym z tarciem uszkodzonych powierzchni stawowych [23, 24].

Ostatnio w komentarzu dotyczącym zaleceń Europejskiej Ligi do Walki z Chorobami Reumatycznymi, prof. Wallace zaznaczył, iż błędem jest pominięcie w zaleceniach znaczenia badania płynu mózgowo-rdzeniowego w diagnostyce toczenia neuropsychiatrycznego [25]. Autor ten stwierdza: „jest dobrze udokumentowane przez dane naukowe, że zwiększone stężenie białka, leukocytoza, synteza IgG, obecność prążków oligoklonalnych, przeciwciał antyneuronalnych **lub komórek LE** w płynie mózgowo-rdzeniowym wiąże się z zapaleniem naczyń w obrębie ośrodkowego układu nerwowego”.

Komórki LE łatwo jest wykryć w płynach wysiękowych. W barwionych rozmazach osadu można znaleźć



Ryc. 1. Komórka LE w płynie stawowym.  
Fig. 1. LE cell in synovial fluid.



**Ryc. 2a i b.** Rozety utworzone przez granulocyty wokół ciałek LE w płynie stawowym.

**Fig. 2a, b.** Rosettes performed by polymorphonuclear cells around the LE-bodies in synovial fluid

„klasyczne” komórki, ciała LE i tworzone przez nie rozety (ryc. 1 i 2). Powstawanie komórek LE *in vivo* może poprzedzać typowe objawy choroby i z tego powodu badanie to jest nadal wartościową metodą w diagnostyce laboratoryjnej układowych chorób tkanki łącznej.

## Podsumowanie

1. Odkrycie komórek LE przed 60 laty było pierwszym tropem łączącym autoimmunizację z patogenezą układowych chorób tkanki łącznej.
2. Oznaczanie liczby komórek LE w „teście LE” zostało obecnie zastąpione czułymi i swoistymi metodami wykrywania przeciwciał przeciw dsDNA, nadal może być jednak przydatne do oceny aktywności choroby.
3. Mechanizm powstawania komórek odpowiedzialny za zjawisko LE jest w dalszym ciągu przedmiotem badań, a jego pełne poznanie będzie mieć znaczenie dla wyjaśnienia niektórych procesów związanych z patogenezą chorób autoimmunologicznych.
4. Wykrycie komórek LE powstających *in vivo* w płynach wysiękowych nadal stanowi wartościową i prostą metodę w diagnostyce SLE.

## Komentarz

Nie ulega obecnie wątpliwości, że nowoczesne metody laboratoryjne pozwalają na znacznie szybsze, a przy tym bardziej precyzyjne wykrywanie przeciwciał przeciwjądrowych w porównaniu z liczeniem komórek LE. Budzi się jednak refleksja – w ostatnich latach eliminuje się coraz więcej takich „żmudnych” metod i zastępuje je automatycznymi. Jest to oczywiście związane z postępem nauki i pozwala oszczędzać „bezcenny” czas, ale równocześnie automatyzacja niesie ze sobą różne zagrożenia. Oto jeden z przykładów: opracowano metodę oznaczania liczby i rodzaju leukocytów w płynie sta-

wowym przy zastosowaniu automatycznego licznika używanego w hematologii [26]. Metoda ta nie może jednak zastąpić mikroskopowego badania komórek znajdujących się w płynie stawowym – nie są to bowiem wyłącznie leukocyty! Można w nim także znaleźć m.in. komórki LE, komórki Reitera, synowioocyty, lipofagi, komórki plazmatyczne, mieloblasty czy komórki nowotworowe. Każdy rodzaj tych komórek może odgrywać istotną rolę w diagnostyce.

Ponadto – komputer nie zauważy – tak jak uczynił to Malcolm M. Hargraves – nowych, nieznanych jeszcze zjawisk. Gdzie więc w przyszłości znajdzie się miejsce na „przypadkowe” odkrycia?

## Piśmiennictwo

1. Hargraves MM, Richmond H, Morton RJ. Presentation of two bone marrow elements: the tart cell and the L. E. cell. *Proc Mayo Clin* 1948; 23: 25-28.
2. Hargraves MM. Discovery of the “LE.” cell. *Am Lupus Soc Quart* 1984; 5: 1-2.
3. Nelson CW. Mayo and the LE cell. *Mayo Clin Proc* 1991; 66: 1190.
4. Sundberg RD, Lick NB. LE. cells in the blood in acute disseminated lupus erythematosus. *J Invest Derm* 1949; 12: 83-84.
5. Lachmann P. A two-stage indirect LE. cell test. *Immunology* 1961; 4: 142-152.
6. Holman HR, Kunkel HG. Affinity between the LE factor and cell nucleic acid nucleoprotein. *Science* 1957; 126: 162-163.
7. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
8. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1725.
9. Pincus T. Classics in rheumatology. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 652.

10. Tan EM. The L.E. cell and its legacy. 1948. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 652-658.
11. Olive A. The retirement of LE cell. *Medicina Clinica (Barc)* 1999; 112: 799.
12. Piette JC. LE cell death. *Presse Med* 1997; 26: 6.
13. Ruiz-Argüelles A, Alarcon-Segovia D. Novel facts about an old marker: the LE cell. *Scand J Clin Lab Invest* 2001; suppl. 235: 31-37.
14. Böhm I. LE cell phenomenon: nuclear IgG deposits inhibit enzymatic cleavage of the nucleus of damaged cells and support its phagocytic clearance by PMN. *Biomed Pharmacother* 2004; 58: 196-201.
15. Böhm I. Flow cytometric analysis of the LE cell phenomenon. *Autoimmunity* 2004; 37: 37-44.
16. Zimmermann-Górska I, Konieczna B. Zjawisko LE w wysięku opłucnowym. *Pol Arch Med Wewn* 1981; 66: 243-245.
17. Zimmermann-Górska I. Zjawisko LE w płynie stawowym chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Reumatologia* 1980; 19: 7-17.
18. Zimmermann-Górska I. LE phenomenon in synovial fluid. *Rev Rheum* 1981; No. special 1423.
19. Pollard KM, Furphy LJ, Webb J. Anti-Sm and anti-DNA antibodies in paired serum and synovial fluid samples from patients with SLE. *Rheum Int* 1988; 8: 197-204.
20. Vivino FB, Schumacher HR. Synovial fluid characteristics and the LE cell phenomenon in drug-induced lupus. Findings in three patients and a review of pertinent literature. *Arthritis Rheum* 1989; 32: 560-568.
21. Gatter RA, Schumacher HR. A practical handbook of joint fluid analysis. Second edition. Lea & Febiger, Philadelphia 1991.
22. Freemont AJ. Role of cytological analysis of synovial fluid in diagnosis and research. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 120-123.
23. Zimmermann-Górska I. Antinuclear antibodies in synovial fluid in rheumatoid arthritis and rheumatoid arthritis/systemic lupus erythematosus overlap syndrome. *Period Biol* 1987; 89 suppl. 1: 146.
24. Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G, Puszczewicz M. Atlas płynu stawowego. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995.
25. Wallace DJ. Aktualne zalecenia europejskie (EULAR 2008) dotyczące postępowania w toczniu rumieniowatym układowym – z perspektywy amerykańskiej. *Med Prakt* 2008/07.
26. Sugiuchi H, Ando Y, Manabe M, et al. Measurement of total and differential white blood cell counts in synovial fluid by means of an automated hematology analyzer. *J Lab Clin Med* 2005; 146: 36-42.