

# SINDROME DE SJÖGREN: DA IMUNOLOGIA À TERAPIA GENÉTICA

António Pedro Silva - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*  
Aluno de Medicina Dentária | 9266@ufp.pt

Eurico Melo Felino - *Faculdade de Ciências da Saúde, UFP*  
Aluno de Medicina Dentária | 9484@ufp.pt

## ■ ABSTRACT

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic inflammatory disease with major immunological features that include infiltration of salivary and lacrimal glands by CD4+ T cells and B cells, the presence of autoantibodies to nucleoproteins and its genetic predisposition linked to the HLA region.

Its diagnosis can be made using different criteria approved by WHO.

Recent advances in the field of genetic therapy opens new perspectives for the treatment of SS – the use of genes encoding for anti-inflammatory cytokines is being studied.

## ■ RESUMO

O síndrome de Sjögren (SS) é uma doença inflamatória crónica caracterizada por patologias imunológicas como a infiltração das glândulas salivares e lacrimais por linfócitos T CD4+ e linfócitos B, pela presença de autoanticorpos anti-nucleares e por uma predisposição genética ligada à região HLA.

O seu diagnóstico usa diferentes critérios aprovados pela OMS.

Recentes avanços no campo da terapia genética abrem novas perspectivas no tratamento da doença: o uso de genes codificadores de citocinas anti-inflamatórias tem sido estudado.

## ■ INTRODUÇÃO

Em 1888, J. Mikulicz descreveu pela primeira vez aspectos clínicos deste síndrome, tendo sido mais tarde H. Gougerot e H. Sjögren, os principais responsáveis pela sua caracterização, e só em 1953 o termo Síndrome de Sjögren foi adoptado (Manoussakis and Moutsopoulos, 2000). Contudo, ainda hoje em dia, são frequentes as dificuldades no seu diagnóstico, principalmente quando não ocorre uma expressão clínica aparente. Como tal, os critérios de diagnósticos têm sido continuamente alterados, o que leva a que a sua incidência venha reportada em diversas literaturas com uma variação desde 1/1000 a 1/100. Tal discrepância reflecte os diferentes critérios de classificação (Robert, 1994). Sendo maior a incidência em mulheres (90%) nomeadamente na faixa etária dos 40-60 anos pode, também, aparecer em crianças e adolescentes (Manoussakis and Moutsopoulos, 2000; Al-Hashimi, 2001).

Trata-se de uma doença auto-imune que, assim como o Lupus Eritematoso Disseminado (LED), a Artrite Reumatoide e a Esclerose Múltipla, surge quando existe uma falha nos mecanismos de tolerância do organismo, resultando numa resposta agressiva contra o próprio, com a formação de auto-anticorpos (Parslow *et al.*, 2001). Partindo desta definição, as doenças

**162** auto-ímmunes classificam-se dentro de um espectro em que numa extremidade se encontram as doenças auto-ímmunes “específicas de órgão” como a doença de Hashimoto, e na outra as sistémicas, em que não há lesões específicas de um órgão (LED). O SS é prioritariamente uma lesão localizada envolvendo as glândulas lacrimais e as glândulas salivares, mas frequentemente integrado num quadro de doença sistémica (Roitt, 1994).

As principais manifestações desta patologia são disfunções glândulares exócrinas: lacrimais (xerofalmia) e salivares (xerostomia). Esta última manifestação é da maior relevância no que à Medicina Dentária diz respeito, uma vez que ela será a causa de outros sinais e sintomas secundários que serão descritos posteriormente; também devido a estas manifestações e implicações orais o médico dentista tem um papel essencial não só no diagnóstico mas também no tratamento da doença (Kassan, 1998).

A etiologia do SS permanece desconhecida embora se pense que seja multifactorial, envolvendo factores ambientais e genéticos dos quais se reconhece uma associação com os alelos leucocitários humanos HLA I e II. A imunomodulação do síndrome está, actualmente, dependente dos avanços feitos ao nível da imunologia e terapia genética, tendo em conta a múltipla heterogeneidade de etnias envolvidas (Kassan, 1998).

## ■ IMUNOPATOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES

Uma das hipóteses quanto às causas do SS é a infecção vírica, sendo frequente a sua associação em pacientes com Hepatite C ou Herpesvirus, infecções estas que irão conduzir a alterações do comportamento imunológico, com estabelecimento dos sintomas revistos na literatura (Fox, 1994).

O SS pode-se desenvolver na ausência (SS primário) ou presença (SS secundário) de outras doenças auto-ímmunes. Nos pacientes com SS, a diminuição do fluxo das glândulas salivares e lacrimais deve-se a infiltrados linfocitários com destruição epitelial (Manoussakis and Moutsopoulos, 2000). Uma vez que as células dendríticas são conhecidas como as “profissionais” apresentadoras de antígeno (APCs) às células T naive, estas tem sido implicadas na patogénese do SS, estando no centro de uma quebra de tolerância a linfócitos auto-reactivos (Cravens and Lipsky, 2002).

As células que compõem o infiltrado das glândulas salivares são predominantemente células T, CD4<sup>+</sup> e, numa menor percentagem, CD8<sup>+</sup> (Fox, 1995). Estes linfócitos T formam 80% do infiltrado sendo os restantes 20% compostos por linfócitos B e plasmócitos (Yamano and Baum, 2000). Os linfócitos TCD4<sup>+</sup> são caracteristicamente CD45<sup>+</sup>RO (memória) embora não totalmente activos (Yamamoto, 2003).

A percentagem de macrófagos e células Natural Killer (NK) é irrelevante; as células epiteliais destes pacientes expressam principalmente citocinas como IL-1 e IL-6, proto-oncogenes (c-myc), autoantígenos e moléculas de co-estimulação-B7.1, B7.2 (Tapinos *et al.*, 1998).

A destruição posterior, por este infiltrado linfocitário, das glândulas está associada à apoptose das células epiteliais (figura 1). A apoptose pode ser induzida por linfócitos TCD8+, pela libertação de perforinas e granzimas ou pela activação directa da molécula Fas, e possui um papel relevante nos indivíduos com SS. Nestes pacientes foi observada uma modulação anormal dos genes inibidores e indutores da apoptose- Bcl-2 e Bax nas células T CD8+ (Manganelli and Fietta, 2003).

Estudos recentes dividem a ocorrência de SS em 2 fases: a primeira independente da apoptose e exclusivamente marcada pelo aumento do infiltrado linfocitário, e uma segunda em que a apoptose das células glândulares é evidente causando maiores disfunções e, eventualmente, o aparecimento de linfomas (Brochers *et al.*, 2003). Pacientes com SS apresentam um risco 44 vezes superior de os desenvolverem, e um em cada cinco pacientes morre em consequência deste tipo de cancro.

A concentração anormal de linfócitos B em relação aos linfócitos T é notada na parótida, enquanto que, ao nível periférico, as células B memória parecem depletadas (Dorner and Lipsky, 2002); este desequilíbrio na homeostasia das células B não provoca “danos” visíveis na produção de Igs e no seu repertório (Dorner *et al.*, 2002).

Para além das células mencionadas, no soro é detectada a presença de autoanticorpos anti-nucleares, anti-SS-A e anti-SS-B, estes muitas vezes associados com patologias secundárias não específicas e produção de metaloproteinasas que se relacionam com o sistema neuroendocrino (Fox and Stern, 2002); a presença destes anticorpos antinucleares e também do Factor Reumatóide (FR) estará correlacionada com o desenvolvimento precoce de sintomas clínicos extraglandulares, tumefacção da parótida por maior infiltrado inflamatório com predomínio linfocitário (Mavragani *et al.*, 2000).

Apesar da etiologia multifactorial do SS, é reconhecida pela OMS (Rhodus, 1999), não só a sua associação ao HLA Classe I e II como também com o marcador genético HLA-DR4 e um aumento da frequência alélica dos genes TAP1 e TAP2 (Fox *et al.*, 1999).

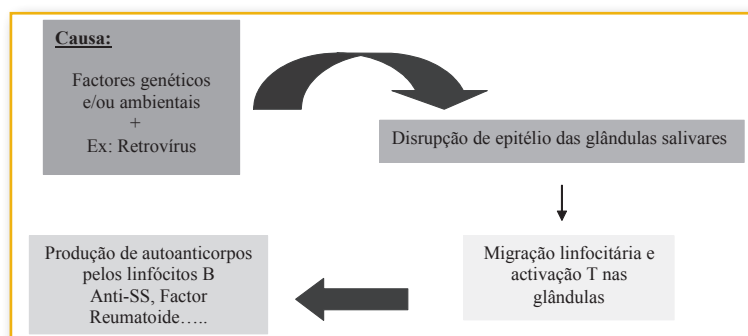


Fig. 1. Imunopatogénese do Síndrome de Sjögren.

## 164 ■ DIAGNÓSTICO

O Médico Dentista tem um papel marcante na detecção desta patologia, sendo ele quase sempre o primeiro profissional de saúde a diagnosticar a doença. A função comprometida das glândulas salivares expõe estes doentes a um maior risco de desenvolvimento de cáries (Wu, 2003). No entanto, um correcto diagnóstico deste síndrome requer a avaliação clínica completa por observação do doente como através de exames complementares e eventualmente por mais do que um especialista (oftalmologista e reumatologista por exemplo).

I. Ocular symptoms: a positive response to at least one of the following questions:

1. Have you had daily, persistent, troublesome dry eyes for more than 3 months?
2. Do you have a recurrent sensation of sand or gravel in the eyes?
3. Do you use tear substitutes more than 3 times a day?

II. Oral symptoms: a positive response to at least one of the following questions:

1. Have you had a daily feeling of dry mouth for more than 3 months?
2. Have you had recurrently or persistently swollen salivary glands as an adult?
3. Do you frequently drink liquids to aid in swallowing dry food?

III. Ocular signs—that is, objective evidence of ocular involvement defined as a positive result for at least one of the following two tests:

1. Schirmer's I test, performed without anaesthesia (<5 mm in 5 minutes)
2. Rose bengal score or other ocular dye score (>4 according to van Bijsterveld's scoring system)

IV. Histopathology: In minor salivary glands (obtained through normal-appearing mucosa) focal lymphocytic sialoadenitis, evaluated by an expert histopathologist, with a focus score >1, defined as a number of lymphocytic foci (which are adjacent to normal-appearing mucous acini and contain more than 50 lymphocytes) per 4 mm<sup>2</sup> of glandular tissue<sup>18</sup>

V. Salivary gland involvement: objective evidence of salivary gland involvement defined by a positive result for at least one of the following diagnostic tests:

1. Unstimulated whole salivary flow (<1.5 ml in 15 minutes)
2. Parotid sialography showing the presence of diffuse sialectasias (punctate, cavitary or destructive pattern), without evidence of obstruction in the major ducts<sup>19</sup>
3. Salivary scintigraphy showing delayed uptake, reduced concentration and/or delayed excretion of tracer<sup>20</sup>

VI. Autoantibodies: presence in the serum of the following autoantibodies:

1. Antibodies to Ro(SSA) or La(SSB) antigens, or both

Tab. 1. Critérios Internacionais de Classificação do Síndrome de Sjögren (Vitali *et al.*, 2002)

Esta tabela contém os critérios de classificação adoptados em 2002 pela EU, resultado de uma interacção de vários grupos de especialistas (europeus e americanos) da “Sjögren's Syndrome Foundation” com várias revisões feitas na última década. Ela mostra a subjectividade ainda existente em algumas áreas, atribuindo grande importância à sensibilidade do clínico para um diagnóstico imediato da doença. Ainda de notar que qualquer grupo requer testes, tanto clínicos como laboratoriais específicos, e ainda a considerável ênfase da biópsia da glândula salivar.

## ■ DIAGNÓSTICO CLÍNICO

O exame oral deve então ter início com a recolha do historial clínico do paciente, de forma a ver sintomas anteriores em que, sinais de reduzido funcionamento das glândulas salivares, poderão dar um indício desta patologia; estes sinais podem incluir: xerostomia, aftas, dificuldade em deglutir ou mesmo alteração do paladar (atrofia das papilas filiformes) e do olfacto; também será de ter em atenção a dificuldade no uso de próteses dentárias devido à sua má adesão. Em grande parte destes doentes há uma tumefacção das glândulas salivares que normalmente ficam insensíveis á palpação. No decorrer deste exame, podem ser detectados lábios secos, descamados, a mucosa eritematosa, halitose, candidíase e na ausência de medidas atempadas, há maior susceptibilidade de cárie, nomeadamente na região cervical e bordo incisal dos dentes. Por último, estes doentes tem um maior risco de desenvolver linfomas nas glândulas salivares e Candidíase atrófica recorrente (Chandre *et al.*, 2001). É ainda importante o questionário ao doente, visto ser de esperar que nem todos os doentes se queixem espontâneamente de certos sintomas, que também se podem reflectir no tipo alimentar praticado pelo doente.

Só então se deverá iniciar uma possível serie de testes de diagnósticos a fim de completar com uma avaliação objectiva a componente oral do SS, sendo os mais comuns:

- Biópsia – envolvendo 5 a 7 glândulas salivares menores, procura-se detectar presença de infiltrações de células inflamatórias. Existem classificações conforme o número de focos inflamatórios (tabela 1);
- Sialometria, electroforese das proteínas salivares, sialografia, cintigrafia e ultrassonografia.

## ■ DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

É importante e indicado a realização de certos testes laboratoriais. Alguns dos resultados serológicos mais frequentes são traduzidos por níveis elevados de imunoglobulinas séricas, níveis anormais de algumas enzimas hepáticas e níveis evidentes de auto-anticorpos em especial ANA (anticorpos anti-nucleares), anti-Ro/anti-SS-A e anti-Ro/anti-SS-B (anti-ribonucleares) e Factor Reumatóide (Al-Hashimi, 2001). São estes anti-RoSS-A e SS-B, os auto-anticorpos mais associados com este síndrome, uma vez que eles actuam contra os antigenos dos ductos salivares. Encontram-se, também, associados outros auto-anticorpos que estão presentes em 95% dos doentes e que actuam contra a proteína á-fodrin maioritariamente expressa na membrana esquelética das células dos mamíferos (Ulbricht *et al.*, 2003) embora mais recentemente tenha sido demonstrado que os anticorpos anti-á-fodrin não são muito relevantes no diagnóstico do SS (Zandbelt and Vogelzangs, 2004).

## 166 ■ TERAPIA GENÉTICA

Como foi referido anteriormente, sendo a etiologia do SS desconhecida, estudos actuais apontam para implicações virais e genéticas na sua patogénese, principalmente, nas glândulas exócrinas (Pedersen and Nauntofte, 2001). Investigadores do síndrome reclamam para este uma origem poligenica primária que irá posteriormente interagir com factores antigénicos e ambientais, como por exemplo *Cândida* (Sawalha *et al.*, 2003).

O termo Terapia Genética é relativamente recente e tem entusiasmado a comunidade científica, devido aos rápidos progressos no conhecimento do Genoma Humano e da Biologia Molecular, pelo que os pacientes já podem usufruir dos seus resultados (Baum and O'connell, 2003). Poucas são as patologias em que este inovador processo faz já parte do protocolo de tratamento, pois é necessário conhecer o completo mecanismo da doença e só será aplicável a doenças resultantes de um único gene; este, se a terapia genética se aplicar, é transportado através de um vector que pode ser viral (adenovírus, retrovirus, AAV) ou não viral (lipossomas catiónicos) (Wheeler *et al.*, 1996). Muitos estudos têm sido elaborados na procura de um vector ideal no tratamento das doenças auto-imunes, nomeadamente o SS, que seja capaz de expressar uma proteína a nível terapêutico sem induzir toxicidade. Mas uma intervenção a nível imunológico é considerada uma matéria delicada, pois pode causar uma imunossupressão geral ou uma reacção imunológica exacerbada (Baum *et al.*, 2002).

As glândulas salivares apresentam características que permitem considerar a imunoregulação através da farmacoterapia genética. São órgãos encapsulados e localizados superficialmente, podendo-se assim regular a expressão genética sem uma intervenção invasiva. O seu potencial clínico pode ser largamente explorado dentro de 7 a 10 anos, e não antes, devido á falta de vectores ideais de transferência genética (Baum *et al.*, 2002).

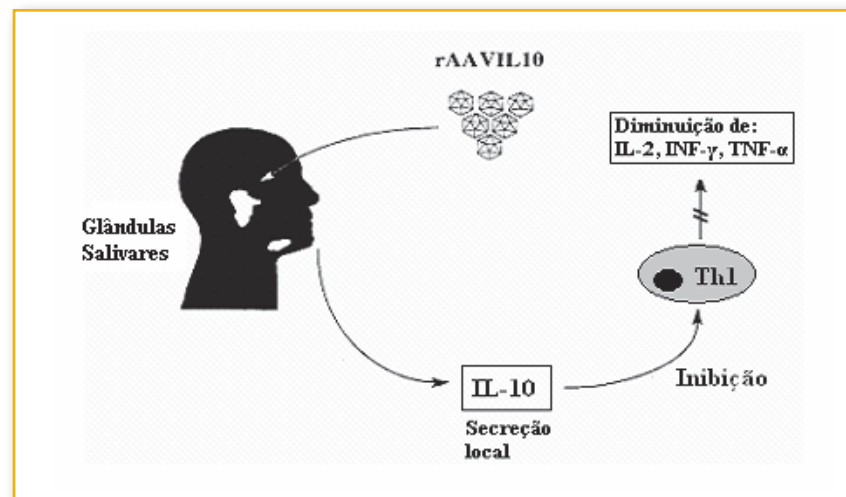
Foram desenvolvidos estudos experimentais no tratamento do SS que passam pela introdução de genes codificadores de citoquinas potencialmente anti-inflamatórias ou genes que codificam os receptores dessas citoquinas, promovendo desta forma a diminuição da inflamação causada (Simmons and Baum, 2001). As citoquinas, como já referido anteriormente, são secretadas pelo infiltrado linfocitário das glândulas salivares e são as principais moduladoras da resposta imune e inflamatória; são também descritas como diferentes moduladoras da resposta Th1/Th2 em situações autoimunes (Mosmann and Sad, 1996).

Examinando as citoquinas, por exemplo, as citoquinas Th2, verifica-se que são capazes de inibir a apresentação antigénica e proliferação linfocitária T, assim como de inibir a produção de IL-2, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  por células Th1; estas actividades sugerem o seu possível uso na terapia genética do SS.

Recentemente, um estudo realizado num modelo animal – rato NOD (Non Obese Diabetic) – mostrou que a associação de um vector AAV (Adeno

Associated Virus) ao gene codificador para a IL-10 humana, altera os efeitos da doença nas glândulas salivares, reduzindo o processo inflamatório (Kok *et al.*, 2003). Estes resultados fazem aumentar as perspectivas de uma possível utilização em humanos (Yamano and Baum, 2000; Kok *et al.*, 2003) (fig.2).

A IL-10 tem uma actividade immunosupressora, inibindo as citocinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , o factor estimulador de colónias granulócito-macrófago (GM-CSF) sintetizado pelos monócitos/ macrófagos e suprime directamente a síntese de IFN- $\gamma$  pelos Th1.



**Fig.2.** Perspectiva do uso do AAV recombinante e da citocina IL-10 com efeitos terapêuticos no SS (adaptado de Yamano and Baum, 2000).

Os principais problemas com que os geneticistas se deparam são a integração genómica falhada, ficando o DNA introduzido numa localização extra-cromossómica do núcleo; por outro lado mesmo sendo esta integração bem sucedida, muitas vezes não é induzida num grau aceitável uma potente resposta imune celular e humoral.

Encontramo-nos, ainda, numa situação de dúvidas e real dificuldade numa terapêutica genética efectiva: no doente a presença de anticorpos anti-nucleares é variável, como tal, o grau de imunização e por outro lado os ensaios no animal também, ainda, não são concludentes (Bolstad and Jonsson, 2002).

Estudos posteriores serão necessários, e mesmo segundo alguns investigadores, serão necessários 10 anos para que, a terapia genética aplicada ao Síndrome de Sjögren seja uma realidade clínica (Baum *et al.*, 2002).

## ■ BIBLIOGRAFIA

- Al-Hashimi I. (2001). The management of Sjogren's syndrome in dental practice, *In: J Am Dent Assoc.* 132(10), pp 1460-1.
- Baum BJ. *et al.* (2002). The impact of Gene Therapy on Dentistry. A revisiting after six years, *In: Jada*, Vol.133.
- Baum BJ.; O'connell B. (1995). The impact of Gene Therapy on Dentistry, *In: Jada*, Vol.126.
- Bolstad AI.; Jonsson R. (2002). Genetic aspects of Sjogrens syndrome, *In: Arthritis Res* 4(6), pp 353-9.
- Borchers AT. *et al.* (2003). Immunopathogenesis of Sjogren's syndrome, *In: Clin Rev Allergy Immunol* 25(1), pp 89-104.
- Chandre F *et al.* (2001). – Vieillessement des glandes salivaires. *Actualités Odonto Stomatologique* n° 215.
- Cravens PD.; Lipsky PE. (2002). Dendritic cells, chemokine receptors and autoimmune inflammatory diseases, *In: Immunol Cell Biol* 80(5) pp 497-505.
- Dorner T *et al.* (2002). Immunoglobulin repertoire analysis provides new insights into immunopathogenesis of Sjogren's syndrome, *In: Autoimmun Rev* 1(3), pp 119-24.
- Dorner T; Lipsky PE. (2002). Abnormalities of B cell phenotype, immunoglobulin gene expression and the emergence of autoimmunity in Sjogren's syndrome, *In: Arthritis Res* 4(6), pp 360-71.
- Fox RI. (1994). Epidemiology, pathogenesis, animal models, and treatment of Sjogren's syndrome, *In: Curr Opin Rheumatol* 6(5), pp 501-8.
- Fox RI. (1995). Sjogren's syndrome, *In: Curr Opin Rheumatol* 7(5), pp 409-16.
- Fox RI. *et al.* (1999). Current issues in the diagnosis and treatment of Sjogren's syndrome, *In: Curr Opin Rheumatol* 11(5), pp 364-7.
- Fox RI.; Stern M. (2002). Sjogren's syndrome: mechanisms of pathogenesis involve interaction of immune and neurosecretory systems, *In: Scand J Rheumatol Suppl.* 116, pp 3-13.
- Kassan SS. (1998). Immunogenetics of Sjogren's syndrome, *In: Ann Med Interne (Paris)* 149(1), pp 45-8.
- Kok MR. *et al.* (2003). Use of localised gene transfer to develop new treatment strate for the salivary component of Sjogrens syndrome, *In: Ann Rheum Dis* 62 (11), pp 1038-46.
- Kok MR., Yamano S. Lodde BM., (2003). Local Adeno-Associated Virus-Mediated Interleukin 10 Gene Transfer Has Disease-Modifying effects in a Murine Model of Sjogren Syndrome, *In: Human Gene Therapy* 14, pp 1605-1618.
- Manganelli P.; Fietta P. (2003). Apoptosis and Sjogren syndrome, *In: Semin Arthritis Rheum* 33(1), pp 49-65.
- Manoussakis MN; Moutsopoulos HM (2000) . Sjogren's Syndrome: autoimmune epithelitis, *In: Bailliere Clinical Rheumatology*, pp 73-95.
- Mavragani CP *et al.* (2000). Sjogren's syndrome: autoantibodies to cellular antigens. Clinic and molecular aspects, *In: Int Arch Allergy Immunol.* 123(1), pp 46-57.
- Mosmann TR.; Sad S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more, *In: Immunol Today* 17, pp 138-146.
- Parslow *et al.* (2001). *Medical Immunology*. 10ª edição, Mc GrawHill.
- Pedersen AM; Nauntofte B (2001). Primary Sjogren's syndrome: oral pathogenesis, diagnostic criteria, clinical features and approaches for therapy, *In: Expert Opin Pharmacother.* 2(9), pp 1415-36.
- Rhodus NL. (1999). Sjogren's syndrome, *In: Quintessence Int* 30(10), pp 689-99

- Robert I. Fox. (1994). Criteria for diagnosis of Sjögren Syndrome, *In: Rheumatic disease clinics of North America*.
- Roitt I. (1994). *Essential Immunology*. 8ª edição, Blackwell Scientific Publications.
- Simmons RK ; Baum BJ. (2001). Transferring genes to salivary glands, *In: J Dent Educ*. 65(9), pp 907-10.
- Tapinos NI *et al.* (1998). Immunopathology of Sjögren`s syndrome, *In: Ann Med Interne (Paris)* 149(1), pp 17-24.
- Ulbricht KU. *et al.* (2003). Antibodies against alpha-fodrin in Sjögren`s syndrome, *In: Autoimmun Rev* 2(2), pp 109-13.
- Vitali C. *et al.* (2002). - Classification criteria for Sjögren`s syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group, *In: Ann Rheum Dis*, Junho, pp 554-8.
- Wheeler CJ *et al.* (1996). A novel cationic lipid greatly enhances plasmid DNA delivery and expression in mouse lung, *In: Proc Natl Acad Sci USA* 92, pp 11454-11459.
- Wu AJ. (2003). The oral component of Sjögren`s syndrome: pass the scalpel and check the water, *In: Curr Rheumatol Rep*. 5(4), pp 304-10.
- Yamamoto K. ( 2003). Pathogenesis of Sjögren`s syndrome, *In: Autoimmun Rev* 2(1), pp 13-8.
- Yamano S.; Baum BJ. (2000). Prospects por Gene-Based Immunopharmacology in Salivary Glands, *In: Jpn. J. Pharmacol.* 82, pp 281-286.
- Zandbelt MM.; Vogelzangs J. (2004). Anti-á-fodrin antibodies do not add much to the of diagnosis of Sjögren`s Syndrome, *In: Arthritis Res Ther* 6, pp R33-R38.

## ■ AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos à professora Sandra Soares pela revisão do manuscrito, realizado no âmbito da disciplina de Imunologia. Não queremos deixar de referir o carinho e incentivo demonstrados no sentido de fazer sempre e cada vez melhor.