



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ LILRA3 ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ
ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ SJOGREN**

ΑΡΓΥΡΙΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ

ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΟΣ

Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εργαστήριο Φυσιολογίας / «Φυσιολογείον»

ΑΘΗΝΑ 2021

Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής

Ημερομηνία Αιτήσεως: 25 Ιανουαρίου 2016

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 23 Μαρτίου 2016

Ημερομηνία Ορισμού Θέματος: 6 Ιουνίου 2016

Ημερομηνία Ορισμού 7μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 22 Απριλίου 2021

Ημερομηνία Υποστήριξης Διατριβής: 10 Ιουνίου 2021

Βαθμολογία: Άριστα

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Πέτρος Π.Σφηκάκης

Μέλη της 7μελούς επιτροπής:

- Κουτσιλιέρης Μιχαήλ
- Τζιούφας Αθανάσιος
- Βουλγαρέλης Μιχαήλ
- Μαυραγάνη Κλειώ
- Σιμοπούλου Μαρία
- Αγγελολιάννη Παναγούλα
- Κοτσιφάκη Ελένη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Κλειώ Π. Μαυραγάνη: *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια*

Τομέας: Βασικών Ιατρικών επιστημών / Εργαστήριο Φυσιολογίας – «Φυσιολογείο»

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

- 1. Μαυραγάνη Π. Κλειώ** / *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια*, **Τομέας:** Βασικών Ιατρικών επιστημών / Εργαστήριο Φυσιολογίας – «Φυσιολογείο»
- 2. Σιμοπούλου Μαρία** / *Αναπληρώτρια καθηγήτρια* / **Τομέας:** Βασικών Ιατρικών επιστημών Απασχ. & Μητέρας Παιδιού / Εργαστήριο Φυσιολογίας – «Φυσιολογείο»
- 3. Κουτσιλιέρης Μιχαήλ** / *Καθηγητής*, **Τομέας:** Βασικών Ιατρικών επιστημών / Εργαστήριο Φυσιολογίας – «Φυσιολογείο»

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

‘Ομνυμι Απόλλωνα ιητρόν και Ασκληπιόν και Υγείαν και Πανάκειαν και θεούς πάντας τε και πάσας, ιστορας ποιεύμενος, επιτελέα ποιήσιν κατά δύναμιν και κρίσιν εμήν όρκον τόνδε και συγγραφήν τήνδε· ηγήσεσθαι μεν τον διδάξαντά με την τέχνην ταύτην ίσα γενέτησιν εμοίς, και βίου κοινώσεσθαι, και χρεών χρηΐζοντι μετάδοσιν ποιήσεσθαι, και γένος το έξ αυτού αδελφοίς ίσον επικρινείν άρρεσι, και διδάξειν την τέχνην ταύτην, ήν χρηΐζωσι μανθάνειν, άνευ μισθού και συγγραφής, παραγγελίης τε και ακροήσιος και της λοιπης απάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσεσθαι υιοίς τε εμοίς και τοις του εμέ διδάξαντος, και μαθητήσι συγγεγραμμένοις τε και ώρκισμένοις νόμω ιητρικώ, άλλω δέ ουδενί. διαιτήμασί τε χρήσομαι επ’ ώφελείη καμνόντων κατά δύναμιν και κρίσιν εμήν, επί δηλήσει δε και αδική είρξειν. ου δώσω δε ουδέ φάρμακον ουδενί αιτηθείς θανάσιμον, ουδέ υφηγήσομαι συμβουλίην τοιήνδε· ομοίως δε ουδέ γυναικί πεσσόν φθόριον δώσω αγνώς δε και οσίως διατηρήσω βίον τον εμόν και τέχνην την εμήν. ου τεμέω δε ουδέ μην λιθιώντας, εκχωρήσω δε εργάτησιν ανδράσι πρήξιος τήσδε. ες οικίας δε οκόσας αν εσίω, εσελεύσομαι επ’ ωφελείη καμνόντων, εκτός εών πάσης αδικίης εκουσίης και φθορίης, της τε άλλης και αφροδισίων έργων επί τε γυναικείων σωμάτων και ανδρώων, ελευθέρων τε και δούλων. α δ’ αν εν θεραπείη ή ακούσω, ή και άνευ θεραπείης κατά βίον ανθρώπων, α μη χρή ποτε εκλαλείσθαι έξω, σιγήσομαι, άρρητα ηγεύμενος είναι τα τοιαύτα. όρκον μεν ουν μοι τόνδε επιτελέα ποιέοντι, και μη συγχέοντι, είη επαύρασθαι και βίου και τέχνης δοξαζομένω παρά πάσιν ανθρώποις ες τον αιεί χρόνον- παραβαίνοντι δε και επιορκέοντι, ταναντία τούτων

Αφιέρωση

Στην Οικογένειά μου,
Στους Δασκάλους μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος - Ευχαριστίες	8
Συντμήσεις.....	11
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (1)	14
Επισκόπηση Συνδρόμου Sjögren	14
1. Ιστορική αναδρομή.....	15
2. Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren / Επιδημιολογικά δεδομένα	17
2.1 Επίπτωση και επιπολασμός	17
2.2 Ασθενείς ≥ 60 ετών	17
2.3 Παιδιατρικός πληθυσμός και άνδρες ασθενείς.....	18
2.4 Σύνδρομο Sjögren σχετιζόμενο με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα	19
2.5 Λέμφωμα	19
3. Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren / Κλινική Εικόνα.....	21
3.1 Συμπτωματολογία.....	21
3.2 Εργαστηριακές εκδηλώσεις.....	23
3.3 Ιστοπαθολογική εικόνα	25
4. Αιτιοπαθογένεια του συνδρόμου Sjögren	29
5. Διαγνωστική προσέγγιση – Κριτήρια Ταξινόμησης.....	31
6. Σύνδρομο Sjögren – Λεμφωματογένεση.....	36
<i>Βιβλιογραφία (1)</i>	41
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (2)	51
1. Παράγοντες Λεμφωματογένεσης	51
1.1 Εισαγωγή.....	52
1.2 Επιδημιολογικοί Παράγοντες.....	52
1.3 Κλινικοί παράγοντες.....	52
1.4 Ιστοπαθολογικοί δείκτες.....	54
1.5 Βιοδείκτες του περιφερικού αίματος.....	56
1.6 Ορολογικοί δείκτες.....	56
1.7 Βιοδείκτες σιέλου	57
1.8 Γενετικοί δείκτες	58
2. Θεραπευτική Αντιμετώπιση Λεμφώματος	62
3. Πρακτικές συμβουλές για τους SS-ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο (high risk) για την ανάπτυξη λεμφώματος	65
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	67
<i>Βιβλιογραφία (2)</i>	69

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	81
Ανοσοϋποδοχέας - LILRA3 στο Σύνδρομο Sjögren / Λεμφωματογένεση	81
1. Εισαγωγή.....	82
2. Ασθενείς – Μεθοδολογία	86
2.1 Πληθυσμιακή Ομάδα – Χαρακτηριστικά.....	86
2.2 Απομόνωση DNA.....	86
2.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) / Πολυμορφισμοί γονιδίου <i>LILRA3</i>	87
2.4 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	88
2.5 Στατιστική ανάλυση	88
3. Αποτελέσματα	89
3.1 Συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών του <i>LILRA3</i> στους SS ασθενείς και τους HC89	
3.2 Επίπεδα πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό	91
3.3 Λειτουργικός γονότυπος LILRA3 – Κλινικές και εργαστηριακές συσχετίσεις	93
4. Συζήτηση.....	95
Χρηματοδότηση	97
Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας.....	97
<i>Βιβλιογραφία (Ειδικό μέρος)</i>	98
Περίληψη Διδακτορικής Διατριβής.....	102
Summary of MD thesis.....	104
Βιογραφικό Σημείωμα	106

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Το σύνδρομο Sjögren (SS) είναι μία χρόνια πολυσυστηματική νόσος, η οποία χαρακτηρίζεται από ποικιλία φαινοτυπικών εκδηλώσεων, τόσο ως προς το είδος αλλά και την βαρύτητα των κλινικών εκφάνσεων. Η νοσηρότητα συσχετίζεται όχι μόνο με την ξηρότητα των βλεννογόνων, που επηρεάζει κυρίως την ποιότητα ζωής των ασθενών, αλλά με την εμφάνιση εξω-αδενικών ανοσοσυμπλεγματογόνων εκδηλώσεων, οι οποίες αυξάνουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη Non-Hodgkin λεμφώματος (NHL).

Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν την ύπαρξη συγκεκριμένων δημογραφικών, κλινικών, εργαστηριακών και ιστοπαθολογικών ευρημάτων να καθορίζουν τον φαινότυπο ασθενών που πάσχουν από SS και είναι υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη λεμφώματος. Επιπλέον, η ανακάλυψη μοριακών δεικτών κινητοποίησης των μηχανισμών της φυσικής ανοσίας, των Β-λεμφοκυττάρων καθώς γενετικών/επιγενετικών επιδράσεων ολοκληρώνει τη διαμόρφωση του προφίλ υψηλού κινδύνου SS ασθενών.

Η αναγνώριση των προαναφερόμενων παραγόντων λεμφωματογένεσης καθίσταται έτσι επιτακτική με σκοπό την πρόωπη διάγνωση και άμεση θεραπευτική παρέμβαση. Επιπλέον, η συνεχιζόμενη έρευνα για ολοένα νέους γενετικούς και επιγενετικούς δείκτες, με την ταυτόχρονη συνεργασία διεθνών επιστημόνων, επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που σχετίζεται με τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του νοσήματος, επιτρέποντας σταδιακά μια πιο εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση.

Πρόσφατα, στη βιβλιογραφία αναγνωρίστηκε ο ρόλος του γονιδίου Leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (*LILRA3*) ως παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση SS αλλά και NHL-B κυτταρικής αρχής (B-NHL) σε πληθυσμό ασθενών Καυκάσιας καταγωγής. Βάση των νέων αυτών δεδομένων, η παρούσα εργασία διερευνά τη συσχέτιση των πολυμορφισμών του *LILRA3* γονιδίου με την εμφάνιση SS αλλά και με το κίνδυνο λεμφωματογένεσης σε πληθυσμό ασθενών Ελληνικής καταγωγής.

Στο γενικό μέρος γίνεται αναφορά συνολικά στο σύνδρομο Sjögren, ως προς την επιδημιολογική, κλινικοεργαστηριακή εικόνα, τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά και τη διαγνωστική του προσέγγιση, με μια προσπάθεια διερεύνησης των μηχανισμών λεμφωματογένεσης που εμπλέκονται στην πορεία του συνδρόμου. Επιπλέον, γίνεται αναφορά στους προγνωστικούς παράγοντες - γενετικούς, επιγενετικούς, κλινικούς, εργαστηριακούς και ιστοπαθολογικούς δείκτες - που αποδεδειγμένα συνδέονται με κίνδυνο ανάπτυξης λεμφώματος. Τέλος, στο ειδικό μέρος που ακολουθεί, γίνεται λόγος για τα χαρακτηριστικά και τον μηχανισμό δράσης του γονιδίου *LILRA3*, καθώς και τα αποτελέσματα της μελέτης, που αφορούν τη συσχέτιση του *LILRA3* με το SS και τον κίνδυνο λεμφωματογένεσης στον ελληνικό πληθυσμό.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής και Εφηρμοσμένης Φυσιολογίας, κα Μαυραγάνη Π. Κλειώ τόσο για την ανάθεση του θέματος όσο και για την επίβλεψη, την αμέριστη βοήθεια και την ανεξάντλητη υπομονή της για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ τον Τακτικό Καθηγητή Πειραματικής Φυσιολογίας και Διευθυντή του Εργαστηρίου Φυσιολογίας κο Κουτσιλιέρη Μιχαήλ, όπως και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας κα Σιμοπούλου Μαρία, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την παρακολούθηση και την εποικοδομητική κριτική που άσκησαν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Από καρδιάς θα ήθελα, επίσης να ευχαριστήσω τη Διευθύντρια του Ρευματολογικού τμήματος του Γ.Ν.Α. Σισμανογλείου και σεβαστή μου δασκάλα κα Μποκή Κυριακή, για την αμέριστη υποστήριξη, καθοδήγηση και αγαστή συνεργασία καθ'όλη την διάρκεια αυτών των ετών.

Τον Καθηγητή Παθολογίας-Ρευματολογίας και Επιστημονικό Διευθυντή του Εργαστηρίου/Κλινικής Παθολογικής Φυσιολογίας κο Τζιούφα Αθανάσιο για την δυνατότητα συμμετοχής μου στα εξωτερικό ρευματολογικό ιατρείο της Παθολογικής Φυσιολογίας, που αποτέλεσε βασική πηγή για τη συλλογή δεδομένων καθώς και για τη συμβολή του επιστημονικού του έργου στην τεκμηρίωση και ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Όσον αφορά το πειραματικό σκέλος, θα ήταν παράλειψη μου να μην ευχαριστήσω και εκφράσω την εκτίμησή μου στον βιολόγο κο Νέζο Αδριανό, για την ουσιαστική του συμμετοχή στο σχεδιασμό και εκτέλεση του πειραματικού / εργαστηριακού σκέλους της εργασίας.

Ευχαριστώ, επίσης, τα υπόλοιπα μέλη της εργαστηριακής ομάδας της Πειραματικής Φυσιολογίας, καθώς και τα μέλη του γραμματειακού τμήματος για την υποστήριξη, βοήθεια και δημιουργική συνεργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου για τη συνεχή συμπαράσταση και την ανεξάντλητη υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια.

Συντμήσεις

Ελληνικές συντμήσεις (αλφαβητικά)

- **ΗΠΑ:** Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής
- **ΚΝΣ:** Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
- **ΣΕΛ:** Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
- **ΤΚΕ:** Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών αιμοσφαιρίων

Ξενογλωσσες συντμήσεις (αλφαβητικά)

- **ACR:** American College of Rheumatology
- **ANA:** Antinuclear antibody
- **ANCA:** AntiNeutrophil Cytplasmic Antibody
- **aPL:** Antiphospholipid antibodies
- **APOBEC3G:** Apolipoprotein B mRNA Editing enzyme, Catalytic polypeptide-like 3G
- **APS:** Antiphospholipid Syndrome
- **AS:** Ankylosing Spondylitis
- **BAFF:** B-cell Activating Factor
- **BAFF-R:** BAFF Receptor
- **bcl-2:** B-cell lymphoma 2 gene
- **BCR:** B cell Receptor
- **B-NHL:** B cell non Hodgkin Lymphoma
- **bp:** base pair
- **C3:** Complement component 3
- **C4:** Complement component 4
- **CCL21:** Chemokine (C-C motif) Ligand 21
- **CDR3:** Complementarity-Determining Region 3
- **CMV:** Cytomegalovirus
- **CXCL12:** C-X-C Motif Chemokine Ligand 12
- **DLBCL:** Diffuse Large B-cell Lymphoma
- **DNMT1:** DNA Methyltransferase 1
- **DNMT3B:** DNA (cytosine-5-)-Methyltransferase 3 Beta
- **EBV:** Epstein-Barr Virus
- **EDTA:** Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
- **EGC:** Ectopic Germinal Center
- **ESSDAI:** EULAR Sjögren's syndrome Disease Activity Index

- **FDC:** Follicular Dendritic Cell
- **FLC κ/λ :** Free light chains κ/λ
- **FS:** Focus Score
- **GVHD:** Graft Versus Host Disease
- **HC:** Healthy controls
- **HCV:** Hepatitis C virus
- **HCP5:** HLA Complex P5
- **HIV:** Human Immunodeficiency Virus
- **HLA:** Human Leukocyte Antigen
- **HTLV-1:** Human T Cell Lymphotropic Virus type1
- **IC:** Immunocomplex
- **IFN-I:** Interferon type I
- **IFN- γ :** Interferon gamma
- **Ig:** Immunoglobulin
- **IL-21:** Interleukin-21
- **IL-23:** Interleukin-23
- **ILD:** Interstitial Lung Disease
- **Kbp:** Kilo base pair
- **KIR:** Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor
- **LILR:** leukocyte Immunoglobulin-like Receptor
- **LILRA3:** Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor subfamily A member 3
- **LINEs:** Long Interspersed Elements
- **LIP:** Lymphocytic Interstitial Pneumonitis
- **MALT:** Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
- **MCTD:** Mixed Connective Tissue Disease
- **MECP2:** Methyl-CpG Binding Protein 2
- **MHC-I/II:** Major Histocompatibility Complex type I/II
- **MS:** Multiple Sclerosis
- **MSG:** Minor Salivary Glands
- **MTHFR:** Methylene Tetrahydrofolate Reductase
- **MZL:** Marginal Zone Lymphoma
- **MZBCL:** Marginal Zone B-cell Lymphoma
- **non-MZBCL:** non Marginal Zone B-cell Lymphoma
- **NF- κ B:** Nuclear factor- κ B
- **NHL:** Non-Hodgkin Lymphoma
- **NK:** Natural Killer cells

- **NLRP3:** NLR family Pyrin domain containing 3
- **P2X7R:** P2X receptor 7
- **p53:** tumor protein 53
- **PBC:** Primary Biliary Cholangitis
- **PCR:** Polymerase Chain Reaction
- **PET:** Positron Emission Tomography
- **pSS:** primary Sjögren's Syndrome
- **R-Benda:** Rituximab-Bendamustine treatment combination
- **RA:** Rheumatoid Arthritis
- **RF:** Rheumatoid Factor
- **SGs:** Salivary glands
- **SGE:** Salivary Glands Enlargement
- **SIR:** Standardized Incidence Ratio
- **SMR:** Standardized Mortality Ratio
- **SOX:** Sialadenitis-Osteoarthritis-Xerostomia
- **SS:** Sjögren's Syndrome
- **sSS:** secondary Sjögren's Syndrome
- **SUVmax:** maximum Standardized Uptake Value
- **Th follicular:** T helper follicular cells
- **Th1/Th2:** T helper 1/2 cells
- **Th17:** T helper 17 cells
- **TNFAIP3:** TNF Alpha Induced Protein 3
- **TRAIL:** TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand
- **Tregs:** T regulatory cells
- **TREX1:** Three prime Repair Exonuclease 1
- **TSLP:** Thymic Stromal Lymphopoietin

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (1)

Επισκόπηση Συνδρόμου Sjögren

1. Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη καταγεγραμμένη αναφορά περιστατικού με συστηματικά συμπτώματα ξηρότητας πραγματοποιήθηκε από τον W.B. Hadden (1856-1893), ο οποίος εν έτει 1888 περιέγραψε την κλινική εικόνα γυναίκας ασθενούς με έντονη ξηροστομία, δυσκαταποσία, ξηρότητα δέρματος και ξηροφθαλμία, προκαλούμενη από εισπνοή διαλύματος αμμωνίας (1). Παρολ'αυτά, το 1892, με την έκδοση του βιβλίου *The Principles and Practice of Medicine* (2) από τον Καναδό γιατρό Sir William Osler (1849-1919), παραλείπονται οι περιγραφές του Hadden. Αντιθέτως, γίνεται λόγος για τον Sir Jonathan Hutchison (1828-1913), ως πρωτοπόρο στην περιγραφή του συνδρόμου ξηρότητας, ο οποίος έγινε αργότερα γνωστός, περισσότερο για την περίφημη τριάδα Hutchison (διάβρωση οδόντων - προσβολή λαβυρίνθου - διάμεση κερατίτιδα) στο πλαίσιο συγγενούς σύφιλης.

Την ίδια χρονιά με την έκδοση του βιβλίου του Osler, ο Johann von Mikulicz-Radecki (1850-1905), περιέγραψε την εικόνα ασθενούς 42 ετών, η οποία παρουσίαζε αμφοτερόπλευρη συμμετρική διόγκωση δακρυϊκών, υπογνάθιων και υπογλώσσιων σιελογόνων αδένων, χωρίς να ακολουθείται από μειωμένη παραγωγή δακρύων και σιέλου, αντίστοιχα. Από την ιστολογική διερεύνηση παρατηρήθηκε, ωστόσο, έντονη φλεγμονώδης διήθηση και εκτεταμένη λοβιακή ατροφία (3). Αργότερα το 1926, στο νοσοκομείο Saint Louis, στο Παρίσι, ο Henri Gougerot (1881-1955), περιέγραψε ακόμη 3 ασθενείς με ατροφία όχι μόνο των σιελογόνων αδένων, αλλά και των επιπεφυκότων, της ρινός, του λάρυγγα και του κόλπου, θέτοντας την υπόνοια ότι τα συμπτώματα αυτά απαρτίζουν την εικόνα μιας νέας νοσολογικής οντότητας (4).

Παρά το γεγονός ότι τα πρώτα βιβλιογραφικά ιατρικά δεδομένα σχετιζόμενα με το σύνδρομο Sjögren ανάγονται στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, εντούτοις, η ονομασία αποδίδεται στον Σουηδό Οφθαλμίατρο Henrik Sjögren (*Εικόνα 1*), Συγκεκριμένα, το 1933 δημοσίευσε μια σειρά 19 ασθενών, γυναικείου φύλου, με συμπτώματα χρόνιας ξηροφθαλμίας, ξηροστομίας και αρθρίτιδας, δίνοντας για πρώτη φορά έμφαση στη συστηματική φύση του νοσήματος. Επιπλέον, ιστορικά καταγράφεται ως ο πρώτος οφθαλμίατρος, ο οποίος χρησιμοποίησε τη χρώση Rose Bengal για την καλύτερη επισκόπηση και εξέταση της επιφάνειας του οφθαλμού, αποδίδοντας τον όρο ξηρά

κερατοεπιπεφυκίτιδα και διαχωρίζοντάς τη από την ξηροφθαλμία οφειλόμενη σε έλλειψη βιταμίνης A ή φυματίωσης (5).

Η ιστορία του συνδρόμου Sjögren, σύμφωνα με τον N.Talal, μπορεί να αποδοθεί σε τρεις χρονικές περιόδους (6). Όπως ήδη αναφέρθηκε, η πρώτη φάση χαρακτηρίζεται κυρίως από την καταγραφή των δεδομένων σχετικά με την κλινική εικόνα του συνδρόμου, ακολουθούμενη στα τέλη της δεκαετίας του 1950 από την διερεύνηση των ανοσολογικών φαινομένων. Συγκεκριμένα, σχεδόν την ίδια χρονική περίοδο, συσχετίζεται η παρουσία των αντιπυρηνικών αντισώματων (ANA), του ρευματοειδούς παράγοντα (RF), των anti-Ro/SSA και των anti-La/SSB αντισωμάτων με την εκδήλωση του SS, (Jones 1958; Weissman 1958; Heaton 1959) (7).

Αργότερα, περί τις αρχές του 1980, με την ανάπτυξη των τεχνικών της μοριακής βιολογίας, δόθηκε η δυνατότητα για την ακριβέστερη περιγραφή των ιστοπαθολογικών ευρημάτων και της ταυτοποίησης του συνδρόμου. Έτσι, οι Stand και Talal, λόγω της χρόνιας λεμφοκυτταρικής διήθησης των εξωκρινών αδένων από αυτοδραστικά B λεμφοκύτταρα, απέδωσαν στο SS αρχικά τον όρο “αυτόανοση εξωκρινοπάθεια”(8). Στη συνέχεια όμως, υπό τον καθηγητή κ. Χ. Μουτσόπουλο, η περιγραφή αυτή τροποποιήθηκε σε αυτόανοση επιθηλιίτιδα, καθώς αναδείχθηκε ο ρόλος των επιθηλιακών κυττάρων των εξωκρινών αδένων να αποτελούν τους βασικούς ενορχηστρωτές της φλεγμονώδους διαδικασίας και των συστηματικών εκδηλώσεων που ακολουθούν (9).



Εικόνα 1. Henrik Sjögren

2. Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren / Επιδημιολογικά δεδομένα

2.1 Επίπτωση και επιπολασμός

Η πρώτη καταγραφή της ετήσιας επίπτωσης του πρωτοπαθούς συνδρόμου Sjögren (pSS) πραγματοποιήθηκε στη Μινεσώτα των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής (ΗΠΑ) σε συχνότητα 3.9 ασθενείς ανά 100,000 (95% confidence interval [CI] 2.8–4.9), μετά από αναδρομική συλλογή δεδομένων μεταξύ 1976-1992 (10). Στη συνέχεια, σε μια προοπτική μελέτη 599.589 ασθενών με pSS από τη Σλοβενία, με δεδομένα μεταξύ 2000-2002, η επίπτωση υπολογίσθηκε, ομοίως, σε 3.9 περιστατικά ανά 100,000 (95% CI 1.1–10.2), με τη συχνότητα να είναι 10 φορές μεγαλύτερη στον γυναικείο πληθυσμό (11). Τέλος, στην ελληνική επικράτεια, σε προοπτική καταγραφή στοιχείων μεταξύ 1982 - 2003, σημειώθηκαν 422 νέες περιπτώσεις ανά 488.435 πληθυσμού, με την επίπτωση να φτάνει σε 5.3 / 100,000 (95% CI 4.5–6.1) και με 20πλάσια συχνότητα μεταξύ των γυναικών (12).

Ετσι, το pSS θεωρείται το δεύτερο συχνότερο νόσημα μετά την Ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA) με τον επιπολασμό να παρουσιάζει ευρεία διακυμάνση της τάξεως 0.2 - 4.8% και με κυρίαρχη επικράτηση στο γυναικείο φύλο, σε αναλογία 9:1 (13). Η παρατηρούμενη αυτή απόκλιση οφείλεται, πιθανώς, στη χρήση διαφορετικών κριτηρίων κατάταξης μεταξύ των μελετών (14). Πιο ειδικά, στον ελληνικό πληθυσμό, με την χρήση των Ευρωπαϊκών και Αμερικανικών κριτηρίων ταξινόμησης του 2002 (American–European consensus group – 2002 / AECG) (15) από την πλειονότητα των καταγραφών που πραγματοποιήθηκαν, η συχνότητα μεταξύ 0.09% και 0.23% (12,16,17).

2.2 Ασθενείς ≥ 60 ετών

Αν και θεωρείται νόσος των γυναικών μέσης ηλικίας, με έναρξη μεταξύ 4^{ης} - 5^{ης} δεκαετίας, εντούτοις η συχνότητα φαίνεται να είναι 5 με 8 φορές μεγαλύτερη μεταξύ ασθενών 6^{ης} και 7^{ης} δεκαετίας (14). Συγκεκριμένα σε μια πολυκεντρική Νορβηγική μελέτη, η διάγνωση του pSS ήταν 6 με 8 φορές συχνότερη σε άτομα ηλικίας 71-74 ετών συγκριτικά με ασθενείς 40-44 ετών (18). Ομοίως στον ελληνικό πληθυσμό, παρατηρήθηκε 5πλάσια συχνότητα σε ασθενείς ≥ 65 ετών (19), στο Ηνωμένο Βασίλειο ο επιπολασμός εκτιμήθηκε στο 4.9% (20), ενώ σε σειρά 336 Ιταλών ασθενών, σημειώθηκε σε ποσοστό 6%, χωρίς διαφοροποίηση της κλινικής εικόνας σε

σχέση με άτομα νεαρής και μέσης ηλικίας (21). Παρόλ'αυτά, νεότερα δεδομένα κατέδειξαν αυξημένη βαρύτητα κλινικής έκφανσης σε άτομα >65 ετών, με συχνότερη την εκδήλωση λεμφώματος ($p=0.011$) και διάμεσης πνευμονικής ίνωσης (ILD) ($p=0.006$), συγκριτικά με ασθενείς μέσης ηλικίας (22).

Παρόλ'αυτά, αρκετοί παράγοντες είναι αυτοί που θα μπορούσαν να εξηγήσουν την πιθανή αυξημένη συχνότητα του pSS σε άτομα μεγάλης ηλικίας. Η μειωμένη παραγωγή σιέλου και δακρύων που παρατηρείται φυσιολογικά με την πάροδο του χρόνου σε συνδυασμό με συννοσηρότητες, όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, αλλά και η πολυφαρμακία, είναι παράγοντες που συντελούν στην επίταση των συμπτωμάτων ξηρότητας στους ηλικιωμένους ασθενείς (18). Επιπλέον, η συχνότερη ανίχνευση αυτοαντισωμάτων, σε συνδυασμό με κλινικές εκδηλώσεις που προσομοιάζουν στο pSS, θα μπορούσε να οδηγήσει σε υπερδιάγνωση του συνδρόμου στις συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες.

2.3 Παιδιατρικός πληθυσμός και άνδρες ασθενείς

Η μέση ηλικία εκδήλωσης του pSS στον παιδιατρικό πληθυσμό σημειώνεται περίπου μεταξύ 9.4 - 10.7 ετών (23) με την επικράτηση και πάλι του γυναικείου φύλου σε αναλογία 5-7:1(24,25). Στους άνδρες ασθενείς το ηλικιακό πρότυπο κυμαίνεται μεταξύ 39.4 - 56.9 ετών, ενώ φαίνεται ότι η εκδήλωση των συμπτωμάτων ξεκινά σε πρωιμότερα στάδια (23). Επιπλέον, από βιβλιογραφικά δεδομένα σε ασθενείς νεαρής ηλικίας με pSS, η νόσος χαρακτηρίζεται από πιο επιθετική εικόνα με την εμφάνιση κυρίως εξωαδενικών συστηματικών εκδηλώσεων, υπερδραστηριότητα του B κυτταρικού πληθυσμού (23,26–28) και εκδήλωση λεμφώματος (22,29). Ομοίως, σε πληθυσμό περίπου 1997 ατόμων, επιβεβαιώνεται αυξημένη πιθανότητα λεμφωματογένεσης ($p=0.03$) σε ηλικία <35 ετών, συγκριτικά με SS ασθενείς μέσης ηλικίας (22). Η ίδια επιθετική φύση του νοσήματος όμως φαίνεται να χαρακτηρίζει και τους άνδρες, όπου και εδώ οι συστηματικές εκδηλώσεις προσεγγίζουν το 52.6-92.3% (23). Επιπλέον, συγκρινόμενοι με γυναίκες ίδιας ηλικίας και διάρκειας νόσου, παρουσιάζουν λιγότερο συμπτώματα ξηροστομίας ($p=0.018$), αλλά αυξημένη πιθανότητα για παρουσία anti-La/SSB αντισωμάτων ($p=0.001$) και εκδήλωση λεμφώματος ($p=0.001$) (22).

2.4 Σύνδρομο Sjögren σχετιζόμενο με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα

Το σύνδρομο Sjögren σχετιζόμενο με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (sSS) χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια κλινικών εκδηλώσεων, εργαστηριακών και ανοσολογικών ευρημάτων, γεγονός που οφείλεται στην παρουσία διαφορετικών υποκείμενων αυτοάνοσων νοσημάτων. Η συχνότητα του sSS σε συνδυασμό με Συστηματικό Ερυθματώδη Λύκο (ΣΕΛ) υπολογίζεται σε 6.5% - 19% (30–35), με Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (RA) σε πληθυσμό Μεσογειακών χωρών προσεγγίζει το 26% - 31% (35–38), ενώ με Συστηματικό Σκληρόδερμα φτάνει στο 14% - 20.5% (39–41). Συνύπαρξη, επίσης, sSS καταγράφεται με τη Μεικτή Νόσο του Συνδετικού Ιστού (MCTD) (42,43), με Πρωτοπαθή Χολική Κίρρωση (PBC) (44–47) καθώς και με αυτοάνοσες παθήσεις του θυρεοειδούς (Hashimoto/Graves) (48,49). Σχετικά με το Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS), συχνότερα ανευρίσκονται θετικά τα αντισώματα καρδιολιπίνης σε ασθενείς, κυρίως, με pSS σε ποσοστό 13%, με μόλις το 1.4% αυτών να πληρούν τα κριτήρια του APS (50). Στην περίπτωση της Σαρκοείδωσης, η συχνότητα συνύπαρξης με sSS υπολογίζεται στο 1% - 2% (50), ενώ στις φλεγμονώδεις μυοπάθειες ανέρχεται μεταξύ 1.8% - 14%, αν και τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι περιορισμένα (50,51). Τέλος, σπάνια καταγράφονται αναφορές που αφορούν τη συνύπαρξη sSS με Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Antibodies (ANCA) αγγειίτιδες (50).

Σύμφωνα με συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση του 2018 που πραγματοποιήθηκε από τους H. Alani et al. η συχνότητα φαίνεται να είναι μεγαλύτερη στον γυναικείο πληθυσμό, ως το μοναδικό επιδημιολογικό γνώρισμα που ορίζεται σαφώς. Εκτός αυτού όμως, παρά την προσπάθεια που γίνεται για μια πιο στοιχειοθετημένη περιγραφή του συνδρόμου, δεν είναι ακόμη εφικτός ο ακριβής προσδιορισμός, όχι μόνο της συμπτωματολογίας του, αλλά και ο καθορισμός της κλινικής πορείας και έκβασης αυτών των ασθενών. Έτσι, εξαιτίας αδυναμίας κατηγοριοποίησης των φαινοτυπικών εκδηλώσεων του sSS, προκύπτει αναπόφευκτα δυσκολία και στον τομέα των θεραπευτικών αποφάσεων (52).

2.5 Λέμφωμα

Η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά με συστηματική καταγραφή του κινδύνου λεμφωματογένεσης σε ασθενείς με σύνδρομο ξηρότητας πραγματοποιήθηκε το 1978, όπου υπολογίστηκε να είναι 44 φορές μεγαλύτερος συγκριτικά με υγιή πληθυσμό, ίδιας ηλικίας, φύλου και φυλής (53). Στις επόμενες δεκαετίες, διάφορες

επιστημονικές ομάδες επισήμαναν εξίσου τον αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη B-NHL, μεταξύ pSS ασθενών, με τον επιπολασμό να κυμαίνεται μεταξύ 2.7% - 9.8% (54–62). Μάλιστα, οι ασθενείς αυτοί φαίνεται να έχουν τον υψηλότερο κίνδυνο για λεμφοϋπερπλαστική νόσο - Standardized Incidence Ratio (SIR)=18.9, 95% CI=9.4–37.9) - συγκριτικά με τους πάσχοντες από ΣΕΛ ή RA (63), με την πιθανότητα να αγγίζει στην 5ετία το 3.4% και στην 15ετία το 9.8% (64). Η μέση ηλικία διάγνωσης του λεμφώματος είναι τα 58 έτη, περίπου 7.5 χρόνια μετά την διάγνωση του pSS (65). Επιπλέον, τα ποσοστά θνησιμότητας που καταγράφονται είναι υψηλότερα συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό (66–68), με τον λόγο θνησιμότητας - Standardized Mortality Ratio - (SMR) να κυμαίνεται μεταξύ 1.02 (95% CI=1.03–3.71) με 4.66 (95% CI=3.85–5.60) (69). Ειδικά, το SMR που προκύπτει από την εμφάνιση NHL στους pSS ασθενείς προσεγγίζει το 7.89 (95% CI=2.89–17.18), αποδεικνύοντας, σαφώς, ότι η επιβίωσή τους περιορίζεται από την εκδήλωση λεμφώματος (70), παρά το γεγονός ότι στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι χαμηλής κακοήθειας (71).



3. Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren / Κλινική Εικόνα

3.1 Συμπτωματολογία

Το pSS, στην πλειονότητα των περιπτώσεων (~90%), είναι μια εντοπισμένη νόσος με καλοήγη πορεία, η οποία χαρακτηρίζεται από προσβολή των εξωκρινών αδένων, κυρίως σιελογόνων και δακρυϊκών, με συμπτώματα ξηροστομίας και ξηροφθαλμίας, αντίστοιχα (72). Οι ασθενείς παρουσιάζουν δυσκολία στη μάσηση και την κατάποση, διαταραχή της στοματικής υγιεινής, με συχνές μυκητιασικές λοιμώξεις, τερηδόνα, γωνιακή χειλίτιδα καθώς και ατροφία των θηλών της γλώσσας (εξέρυθρη – γεωγραφική). Αναφέρουν, πολύ συχνά, αίσθημα ξένου σώματος εντός των οφθαλμών, με ανάγκη τακτικής χρήσης τεχνητών δακρύων, λόγω χρόνιου ερεθισμού και έντονου αισθήματος κνησμού. Σε ποσοστό 50%, παρατηρείται άμφω διόγκωση των παρωτίδων, η οποία είναι ανώδυνη και σκληρής σύστασης στην ψηλάφηση. Επιπλέον, σε μικρότερη συχνότητα περιγράφεται προσβολή του δέρματος με εικόνα ξηροδερμίας και κνησμού, προσβολή του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος με ξηρότητα του ρινικού βλεννογόνου και της τραχείας (67), καθώς και δυσπαρεύνια σε πληθυσμό προεμμηνοπαυσιακών γυναικών (73). **(Πίνακας 1.)**

Εκτός των αδενικών, διακρίνονται και οι εξωαδενικές μη ειδικές εκδηλώσεις του νοσήματος, με κύριο χαρακτηριστικό το έντονο αίσθημα κόπωσης (74). Η ένταση της συμπτωματολογίας ενισχύεται, ακόμη περισσότερο, από το ψυχοπαθολογικό προφίλ των SS ασθενών, το οποίο μπορεί να διακρίνεται από στοιχεία νευρωτισμού, εμμονές, υποχονδρίαση, σωματοποίηση, διαταραχές ύπνου, ψύχωση και τα οποία, συνήθως, προηγούνται της κλινικής έκφανσης του pSS (75,76). Σε μικρότερο ποσοστό και ηπιότερο εμφανίζεται το φαινόμενο Raynaud (77), καθώς και η προσβολή του μυοσκελετικού συστήματος, με τις αρθραλγίες να αποτελούν βασικό γνώρισμα, χωρίς στοιχεία οστικής διάβρωσης (67). Επιπλέον, στον απεικονιστικό έλεγχο, μπορεί να παρατηρηθούν, περιστασιακά, περιαρθρικές επασβεστώσεις των μαλακών μορίων, ειδικά στους ασθενείς με φαινόμενο Raynaud (77). **(Πίνακας 1.)**

Στις εξωαδενικές SS εκδηλώσεις συγκαταλέγονται και οι σχετιζόμενες με περιεπιθηλιακές διηθήσεις των παρεγχυματικών οργάνων. Η εμφάνιση ξηρού, μη παραγωγικού βήχα καθώς και η δύσπνοια προσπαθείας, είναι συμπτώματα απότοκα της χρόνιας φλεγμονώδους διήθησης περίξ των βρόγχων ή/και των βρογχιολίων, με

αποφρακτικά φαινόμενα που αφορούν τους μικρούς κυρίως αεραγωγούς (67). Η προσβολή του διάμεσου ιστού είναι λιγότερο συχνή στο SS, με κυριότερη μορφή την λεμφοκυτταρική διάμεση πνευμονίτιδα (LIP). Επιπλέον, χρόνιες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις έχουν παρατηρηθεί πέριξ των χολαγγείων, των ενδοηπατικών χοληφόρων πόρων με εικόνα που προσομοιάζει της πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης (78), αλλά και πέριξ των νεφρικών ουροφόρων σωληναρίων με στοιχεία διάμεσης νεφρίτιδας και άπω νεφροσωληναριακής οξέωσης (79). Περιεπιθηλικά διήθηματα παρατηρούνται και στο παρέγχυμα των ενδοκρινών αδένων, του θυρεοειδούς, των επινεφριδίων και των οωθηκών, με σπάνια έκπτωση της λειτουργικότητάς τους, αλλά κυρίως με αντίχρεση αντισωμάτων έναντι θυρεοειδικών, επινεφριδιακών (έναντι υδροξυλάσης 21) και ωοθηκικών αντιγόνων αντίστοιχα (72). **(Πίνακας 1.)**

Τέλος, ένα μικρό αλλά σημαντικό ποσοστό των pSS ασθενών, λόγω της υπερδραστηριότητας του Β-κυτταρικού πληθυσμού εμφανίζει συμπτωματολογία ανοσοσυμπλεγματικής νόσου. Συγκεκριμένα, ψηλαφητή πορφύρα, περιφερική νευροπάθεια, σπειραματονεφρίτιδα, αλλά και αγγειϊτιδικές βλάβες του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) (απολμυελινωτικές βλάβες – οπτική νευρίτιδα – εγκάρσια μυελίτιδα), αποτελούν βασικές κλινικές εκδηλώσεις, οι οποίες, μεταξύ άλλων, φαίνεται να αποτελούν βασικούς παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση NHL σε ποσοστό περίπου 5%-10% του pSS πληθυσμού (72). **(Πίνακας 1.)**

Πίνακας 1. Κλινικές εκδηλώσεις	Συχνότητα, %
Προσβολή εξωκρινών αδένων	
Ξηροστομία	90
Ξηροφθαλμία	95
Διόγκωση παρωτίδων	50
Ξηρότητα Δέρματος	10
Ξηρότητα Αναπνευστικού συστήματος	20
Δυσπαρέυνια	40
Εξωαδενικές Συστηματικές Εκδηλώσεις – Μη ειδική συμπτωματολογία	
Μυοσκελετικές εκδηλώσεις (μη ειδική αρθρίτιδα)	70
Εύκολη κόπωση	70
Φαινόμενο Raynaud	30
Περιεπιθηλιακές διηθήσεις	
Προσβολή βρογχικού δέντρου	20
Αυτοάνοση Ηπατίτιδα	20

Πίνακας 1. / Κλινικές εκδηλώσεις (Συνέχεια)	Συχνότητα %
Περιπεπθλιακές αλλοιώσεις	
Α΄παθής χολική κίρρωση	5
Νεφρική προσβολή	2.5
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	10-20
Κλινικός υποθυρεοειδισμός	1-16.5
Προσβολή επινεφριδίων	17
Προσβολή ωοθηκών	27
Ανοσοσυμπλεγματική νόσος	
Ψηλαφητή πορφύρα	10
Περιφερική Νευροπάθεια	2-10
Σπειραματονεφρίτιδα	2
Αγγειοπάθεια ΚΝΣ	3-20
Λέμφωμα	5-10

3.2 Εργαστηριακές εκδηλώσεις

Από τον εργαστηριακό έλεγχο των ασθενών με pSS (**Πίνακας 2.**), συχνό εύρημα είναι οι πενίες σε ποσοστό 30%-60%. Συγκεκριμένα, αναιμία χρόνιας νόσου ανευρίσκεται σε συχνότητα 15%-45%, αιμολυτική αναιμία μόλις στο 1% του πληθυσμού, ενώ σπανιότερα εκδηλώνεται απλαστική ή μεγαλοβλαστική αναιμία (13). Συχνό, επίσης, εργαστηριακό εύρημα είναι και η λευκοπενία με συχνότητα 10%-25%, με την λεμφοπενία να ανευρίσκεται στο 10% του πληθυσμού. Σοβαρή μείωση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων ($WBC \leq 2000/mm^3$) σημειώνεται σε μικρότερη συχνότητα μεταξύ των pSS ασθενών (~0.2%), ενώ αποτελεί παράγοντα που αυξάνει την πιθανότητα για την εκδήλωση λεμφώματος (13). Επιπλέον, στο 5%-13% εντοπίζεται η εικόνα θρομβοπενίας, ως αποτέλεσμα πιθανώς της παρουσίας αντιαιμοπεταλιακών αντισωμάτων ή λόγω ανοσοσυμπλεγματικής καταστροφής. Η εκδήλωσή της φαίνεται να συσχετίζεται με εμφάνιση νεφρικής βλάβης, παρουσία anti-Ro/SSA αντισωμάτων και περίπου 4.6 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για θετική βιοψία σιελογόνων αδένων (OR 4.6, 95% CI 1.2 - 39.7) (13).

Δεδομένου ότι το SS χαρακτηρίζεται από υπερλειτουργία πολυκλωνικών Β κυττάρων, στον εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώνεται συχνά εικόνα υπεργαμμασφαιριναιμίας (20%-50%), η παρουσία της οποίας συσχετίζεται επίσης με την πιθανότητα για αυξημένη λεμφοκυτταρική διήθηση στην βιοψία σιελογόνων

αδένων. Επιπλέον, φαίνεται να αυξάνεται η πιθανότητα για υψηλή Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΤΚΕ), η οποία σπάνια ξεπερνά το επίπεδο > 100mm/h (~ 4%). Από την άλλη, σπάνια παρατηρείται ανοσοανεπάρκεια στους SS ασθενείς (~1%) (13). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον, εντούτοις, έχει η ανίχνευση μονοκλωνικής γαμμαπάθειας που συνήθως πρόκειται για ανοσοσφαιρίνη τάξεως IgG. Σε ποσοστό όμως 10%-20% ανιχνεύονται κρυσφαιρίνες μεικτού τύπου, οι οποίες χαρακτηρίζονται από μοκλωνική παρουσία IgM ανοσοσφαιρίνης, με δράση RF. Η κρυσφαιριναιμία αποτελεί στοιχείο συστηματικής προσβολής, χαρακτηριζόμενη από αγγειιτιδικού τύπου κλινικές εκδηλώσεις, ενώ παράλληλα συμβάλλει στον κίνδυνο λεμφωματογένεσης (13)

Εκτός των ανοσοσφαιρινών, επιπλέον στοιχείο της χυμικής ανοσίας που διαταράσσεται, είναι το σύστημα του συμπληρώματος. Χαμηλά επίπεδα complement 3 (C3) ανιχνεύονται στο 10%-15%, ενώ χαμηλά επίπεδα C4 στο 5%-20% του πληθυσμού, πιθανώς στο πλαίσιο ανάπτυξης ανοσοσυμπλεγματοτικής νόσου που καταλήγει στην κατανάλωση του συμπληρώματος. Ειδικά, η C4 υποσυμπληρωματιναιμία φαίνεται να συσχετίζεται με υψηλότερο focus score λεμφοκυτταρικών διηθήσεων στη βιοψία σιελογόνων αδένων, ενώ παράλληλα ανήκει στο πλαίσιο παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη NHL (13).

Σχετικά με το ανοσολογικό προφίλ των SS ασθενών, ANA αντισώματα ανιχνεύονται σε ποσοστό 59%-85%, με τον λεπτό στικτό φθορισμό να υπερτερεί (62%). Συνήθως είναι ασθενείς γυναικείου φύλου, νεαρότερης ηλικίας και οι οποίοι επιπλέκονται με εικόνα παρωτιδομεγαλίας, φαινόμενο Raynaud, πολυσυστηματική προσβολή και υψηλό ποσοστό χορήγησης κορτικοστεροειδών (80). Η παρουσία, επίσης, RF είναι συχνή (36%-74%), συσχετίζεται με σημαντική ορολογική ενεργότητα – θετικοί τίτλοι ANA, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, κρυσφαιριναιμία, υπεργαμμασφαιριναιμία και χαμηλά επίπεδα συμπληρώματος, αυξάνοντας επίσης την πιθανότητα για πολυσυστηματική εκδήλωση του pSS (80). Χαρακτηριστική, βέβαια είναι η ανίχνευση των anti-Ro/SSA και anti-La/SSB αντισωμάτων, που ανευρίσκονται συνήθως πρώιμα κατά την πορεία της νόσου, με την σύνθεσή τους να επιτελείται πιθανότατα τοπικά σε επίπεδο σιελογόνων αδένων. Η διαγνωστικής τους αξία είναι σημαντική, καθώς εντάσσονται στα κριτήρια ταξινόμησης της νόσου τόσο του 2002 (15), όσο και στα αναθεωρημένα κριτήρια του 2016 (81) και σχετίζονται με

πρώιμη εκδήλωση του pSS, με παρωτιδομεγαλία, με έντονα συμπτώματα ξηρότητας στόματος και οφθαλμών, συστηματική ανοσοσυμπλεγματική νόσο και έντονη ορολογική (ANA, RF, κρυσσοφαιρίνες) και εργαστηριακή ενεργότητα (λευκοπενία, θρομβιοπενία, υπεργαμμασφαιριναιμία) (80). Τέλος, παρουσία αντιφωσfolιπιδικών αντισωμάτων (aPL), σε μέτριους συνήθως τίτλους, ανευρίσκεται σε συχνότητα 13%-38% , χωρίς την εκδήλωση θρομβωτικών επεισοδίων και νοσηρότητα της κήσης. Συνήθως συνδυάζονται με εικόνα υπεργαμμασφαιριναιμίας και φαίνεται να είναι επιφανόμενα της πολυκλωνικής B κυτταρικής δραστηριότητας (13).

Πίνακας 2. Εργαστηριακά ευρήματα	Συχνότητα, %
Εργαστηριακός έλεγχος	
Αναιμία χρόνιας νόσου	15-45
Λευκοπενία	10-25
Λεμφοπενία	10
Θρομβοπενία	5-13
Αυξημένη ΤΚΕ > 100mm/h	4
Υπεργαμμασφαιριναιμία	20-50
Κρυσσοφαιριναιμία	10-20
Μονοκλωνική γαμμαπάθεια	10-20
Ανοσολογικός έλεγχος	
ANA	59-85
RF	36-74
anti-Ro/SSA	33-74
anti-La/SSB	23-52
↓C3	10-15
↓C4	5-20
aPL	13-38

3.3 Ιστοπαθολογική εικόνα

Χαρακτηριστικό ιστοπαθολογικό εύρημα των ασθενών με SS αποτελεί η παρουσία αθροίσεων μονοπύρηνων κυττάρων πέριξ των πόρων και των λοβίων των εξωκρινών αδένων, κυρίως σιελογόνων και δακρυϊκών (82). Βάσει των Ευρωπαϊκών/Αμερικανικών (15), αλλά και των πρόσφατων αναθεωρημένων κριτηρίων του Αμερικανικού Κολεγίου Ρευματολογίας (American College of Rheumatology-ACR) (81), η βιοψία θεωρείται συμβατή με SS, όταν το focus score

(50 λεμφοκύτταρα ανά 4mm² επιφάνειας, σε 4 τουλάχιστον λόβια) είναι ≥ 1 , σύμφωνα με το σύστημα Chisholm (83).

Οι λεμφοκυτταρικές διηθήσεις θεωρούνται υπεύθυνες των δομικών και λειτουργικών διαφοροποιήσεων που επιτελούνται στους σιελογόνους και δακρυϊκούς αδένες, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται και η εκκριτική τους ικανότητα. Ανάλογη είναι και η προσβολή των διαφόρων παρεγχυματικών οργάνων, όπου η παρουσία λεμφοκυττάρων περίξ των βρόγχων, των νεφρικών σωληναρίων και σπειραμάτων, αλλά και περίξ των χολαγγείων να οδηγεί στην αντίστοιχη κλινική συμπτωματολογία που αναφέρθηκε και προηγουμένως (82).

Η έκταση των λεμφοκυτταρικών διηθήσεων στους σιελογόνους αδένες ποικίλλει, χαρακτηριζόμενη ως ήπια, μέτρια και σοβαρή και η οποία σε επίπεδο βιοψίας υποδηλώνεται με τη χρήση του Tarpley score (84). Σε πρώιμα στάδια της νόσου, παρατηρείται παρουσία **CD4+ T** και σε μικρότερο βαθμό **B-κυττάρων (CD20+)** (~20% του συνολικού ποσοστού λεμφοκυττάρων), τα οποία φαίνεται να υπερτερούν σε προχωρημένα στάδια του SS (*Εικόνα 2*) (85). Τα CD4+ T κύτταρα διαφοροποιούνται σε T-helper 1 (Th1) και T-helper 2 (Th2), όπου διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αυτών, φαίνεται να αποτελεί πυροδοτικό μηχανισμό για την ανάπτυξη του συνδρόμου (82).

Συγκεκριμένα, σε ηπιότερες ιστοπαθολογικές βλάβες ανευρίσκονται Th2 κύτταρα. Από την άλλη, τα Th1 εντοπίζονται σε σοβαρότερες μορφές (86), όπου μέσω παραγωγής ιντερφερόνης- γ (IFN- γ) (82), προάγεται η περαιτέρω φλεγμονώδης διήθηση και κινητοποίηση του συστήματος του πλασμινογόνου, οδηγώντας σε μεγαλύτερη ιστική καταστροφή (87). Επιπλέον, σε προχωρημένες βλάβες ανευρίσκονται **T-helper 17 (Th17)**, τα οποία, μέσω παραγωγής ιντερλευκίνης-17 (IL-17) (88) και IL-22 (89), επιτείνουν την φλεγμονώδη απόκριση.

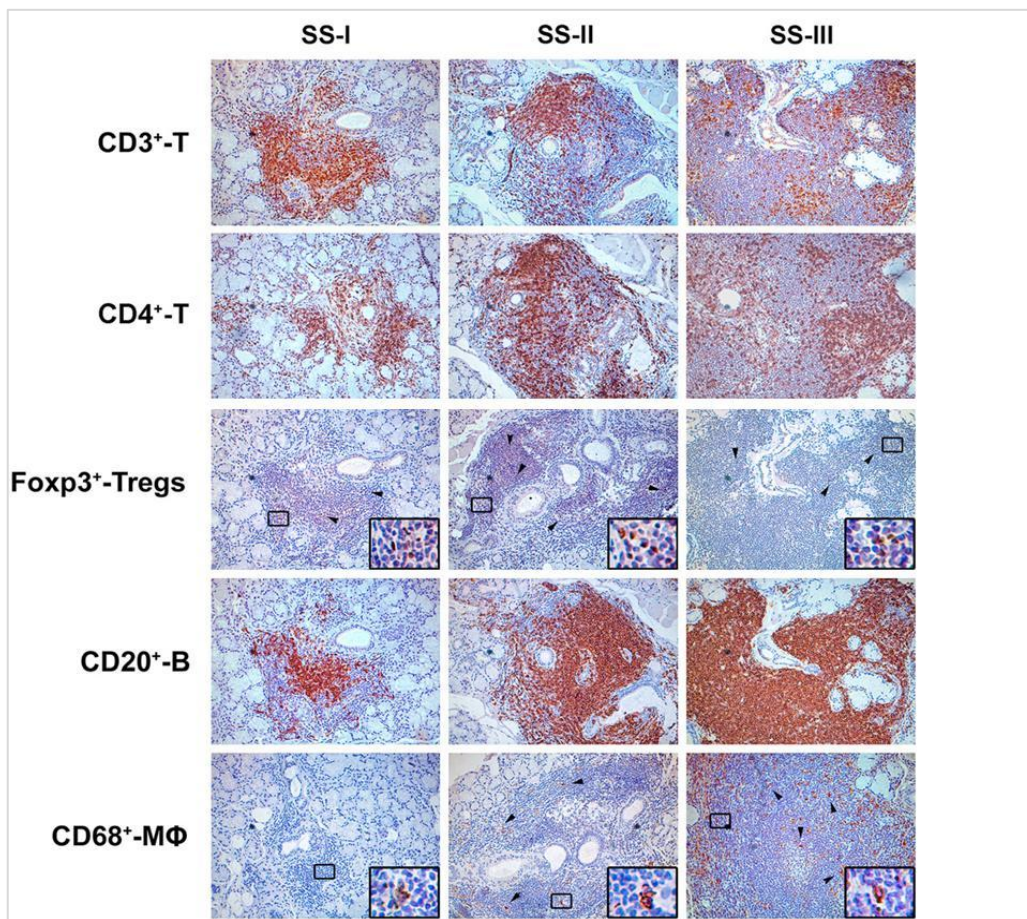
Στην παραγωγή κυτταροκινών, φαίνεται να συμβάλλει και ο πληθυσμός των **Th follicular κυττάρων**, μέσω παραγωγής IL-21. Η τελευταία, η οποία συμμετέχει στον σχηματισμό των έκτοπων βλαστικών κέντρων (EGCs) και τη διαφοροποίηση των B κυττάρων σε πλασματοκύτταρα, ανευρίσκεται αυξημένη στην κυκλοφορία ασθενών με SS και εκτεταμένες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις στους σιελογόνους αδένες (90,91).

Αντιθέτως, ο πληθυσμός των **T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (Tregs)**, τα οποία περιορίζουν την υπερβολική ανοσολογική απόκριση, ανευρίσκεται λιγότερο συχνά στις προχωρημένες ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (92).

Όσον αφορά την κατηγορία των κλασικών αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων - **μακροφάγα και δενδριτικά (DCs)** - που οδηγούν στην έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών [IL-6, IL-12, IL-18, Tumor Necrosis Factor (TNF)] - εντοπίζονται κατά κύριο λόγο σε βαριές βλάβες, με συχνότητα ανάλογη της σοβαρότητας των αλλοιώσεων (93). Πιο ειδικά, στα ιστολογικά παρασκευάσματα σιελογόνων αδένων από pSS ασθενείς, αναγνωρίζονται πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs), που είναι τα κατεξοχήν κύτταρα παραγωγής IFN-I. Αυτά φέρουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς Toll Like Receptor 7 (TLR-7) και TLR-9, που αναγνωρίζουν ενδογενή ή εξωγενή νουκλεϊνικά οξέα, καθιστώντας πιθανό ένα ιογενές ερέθισμα, να κινητοποιεί τα pDCs, πυροδοτώντας τον καταρράκτη της ανοσολογικής απόκρισης και οδηγώντας τελικά στην εκδήλωση του SS, σε γενετικώς προδιαθετειμένα άτομα (94,95). Παράλληλα, από την αυξημένη παραγωγή IFN-I επάγεται η κινητοποίηση του παράγοντα B-cell activating factor (BAFF) (96). Αυτός με τη σειρά του προάγει την επιβίωση των αυτοδραστικών B κυττάρων, που προεξάρχουν στις προχωρημένες βλάβες και τα οποία συμμετέχουν στον σχηματισμό των EGCs και στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων (97).

Τέλος, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, οι λεμφοκυτταρικές διηθήσεις εντοπίζονται περίξ των επιθηλιακών κυττάρων των εξωκρινών αδένων και των λοιπών παρεγχυματικών οργάνων που προσβάλλονται στο πλαίσιο του νοσήματος. Αυτό υποδεικνύει τον σημαντικό ρόλο που κατέχουν **τα επιθηλιακά κύτταρα** στην παθογένεια της νόσου. Μέσω της έκφρασης μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξεως I και II (MHC I/II), συνδιεγερτικών (CD40, B7/CD80, PD-L1) αλλά και μορίων προσκόλλησης (intracellular adhesion molecule 1, CD54) και απόπτωσης (Fas, Fas ligant), λειτουργούν σαν αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (86), παράλληλα με παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, BAFF) (98,99). Φέρουν, επίσης, στην επιφάνειά τους υποδοχείς της φυσικής ανοσίας, όπως τους TLRs, προάγοντας την φλεγμονώδη απόκριση με την κινητοποίηση τόσο των T όσο και των B λεμφοκυττάρων (100,101). Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν τον ρόλο του B κυτταρικού πληθυσμού στην πρόκληση απόπτωσης των επιθηλιακών

κυττάρων των σιελογόνων αδένων (102). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση ενδογενών αυτοαντιγόνων, όπως οι ριβονουκλεοπρωτεΐνες Ro/SSA-La/SSB, επάγοντας την ανοσολογική απάντηση και καθιστώντας την επιθηλιακή απόπτωση κεντρικό γεγονός της παθογένειας του SS (103)



Εικόνα 2. (Πηγή: Christodoulou MI et al. *J Autoimmun.* 2010 Jun;34(4):400-7)

Κατανομή των φλεγμονωδών κυττάρων βάση της βαρύτητας των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων σε ήπιες (S-I), μέτριες (S-II) και σοβαρές (S-III). Στις ήπιες βλάβες προεξάρχει ο ολικός CD3⁺-T και ο CD4⁺-T κυτταρικός πληθυσμός, σε αντίθεση με τα CD20⁺-B και CD68⁺-MΦ-μακροφάγα κύτταρα που επικρατούν στις σοβαρές αλλοιώσεις. Αντίθετα, η συγκέντρωση των Foxp3⁺-Tregs κυττάρων μειώνεται στα προχωρημένα στάδια των βλαβών (S-III).



4. Αιτιοπαθογένεια του συνδρόμου Sjögren

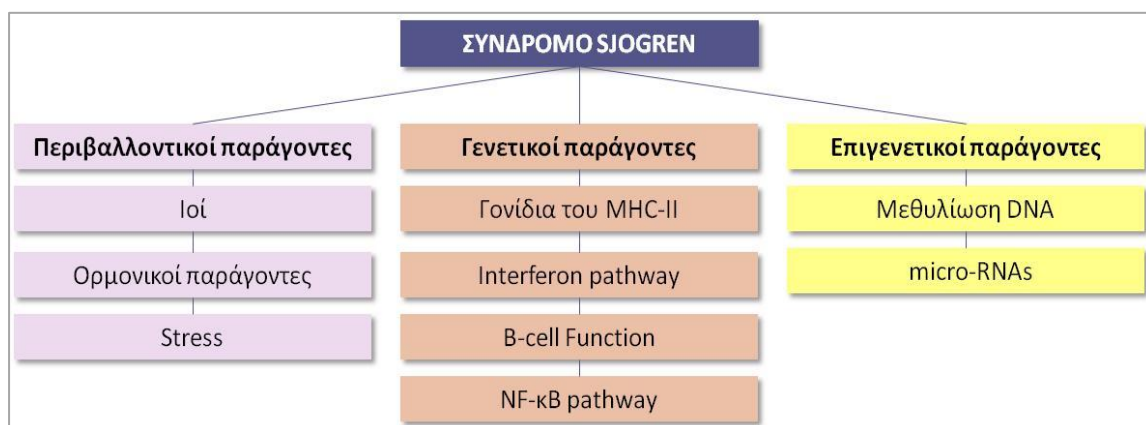
Παρά την διενέργεια πολλαπλών μελετών τα τελευταία χρόνια, η αιτιοπαθογένεια του SS παραμένει αδιευκρίνιστη. Φαίνεται πως η αλληλεπίδραση γενετικών, περιβαλλοντικών, ορμονολογικών και νευροψυχιατρικών παραγόντων είναι υπεύθυνη στο σύνολό της για την επαγωγή και ενίσχυση της ανοσολογικής απάντησης που πυροδοτείται (*Εικόνα 3*).

Η **γενετική προδιάθεση** υποδεικνύεται από το γεγονός ότι η νόσος εκδηλώνεται συχνότερα μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων, αλλά και μεταξύ των μελών μιας οικογένειας. Γονίδια που κωδικοποιούν **μόρια που εδράζονται εντός του MHC-II**, όπως το Human Leukocyte Antigen-DR (HLA-DR) / HLA-DQ, αλλά και εντός του **MHC-I**, όπως το *LILRA3*, εμπλέκονται στην παθογένεια του SS (104). Εκτός των παραπάνω, αναγνωρίζονται και γονιδιακοί παράγοντες **εκτός του MHC** και συσχετίζονται: **1. με την δράση του σηματοδοτικού μονοπατιού της IFN** (*interferon signature, Interferon Regulatory Factor 5 - IRF5, Signal Transducer and Activator of Transcription 4-STAT4, IL-12A, Natural Cytotoxicity Triggering Receptor 3-NCR3, Protein Tyrosine Phosphatase Nonreceptor 22-PTPN22*), **2. με την κινητοποίηση των B κυττάρων και την παραγωγή αυτοαντισωμάτων** (*B-Lymphocyte kinase - Blk, BAFF, Chemokine C-X-C Motif Receptor 5-CXCR5*) και **3. με εκείνα που εμπλέκονται στη δράση του πρωτεϊνικού συμπλέγματος nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB)** (*Tumor Necrosis Factor Alpha Induced Protein 3-TNFAIP3, TNFAIP3 Interacting Protein 1-TNIP1, Lymphotoxin Gene A-LTA, Chemokine C-C motif Ligand 11-CCL11*) (104).

Εκτός του γενετικού υποστρώματος, τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ο ρόλος των **επιγενετικών μηχανισμών**, οι οποίοι καθορίζουν την περαιτέρω έκφραση της γονιδιακής πληροφορίας. Συγκεκριμένα, τα microRNAs, τα οποία είναι μετα-μεταφραστικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, φαίνεται να έχουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση του SS, μέσω ελέγχου της ανοσολογικής απόκρισης (105–107). Επιπλέον, σε επίπεδο σιελογόνων αδένων έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση ενζύμων μεθυλίωσης, πιθανώς σαν αντιροπιστικός μηχανισμός στην ακατάλληλη υπερέκφραση ενδογενών long interspersed nuclear elements (LINEs; L1). Τα LINEs παρουσιάζουν γενετική ομολογία με ανθρώπινους ρετροϊούς, επάγοντας την

παραγωγή IFN-I που χαρακτηρίζει τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό του συνδρόμου (108).

Από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, πιθανολογείται πως οι ιοί, όπως cytomegalovirus - CMV, Epstein Barr virus - EBV, Human T lymphotropic virus 1- HTLV1, Hepatitis C virus - HCV και Human Herpes Virus type 6 - HHV6 αποτελούν πυροδοτικό μηχανισμό του SS, μέσω προσβολής των επιθηλιακών κυττάρων και κινητοποιώντας ανοσολογική απόκριση τύπου IFN-I. Τέλος, δεδομένου ότι η νόσος προσβάλλει συνήθως γυναίκες περιεμμηνόπαυσιακής ηλικίας, υποδεικνύει πως ορμονικοί παράγοντες, όπως η ανεπάρκεια οιστρογόνων αλλά και ανδρογόνων σε συνδυασμό με νευροορμονικές διαταραχές επαγόμενες από έντονα στρεσογόνα γεγονότα, να αποτελούν κοινή συνισταμένη στην εκδήλωση του SS (82).



Εικόνα 3. Σύνδρομο Sjögren – Αιτιοπαθογενετικοί Παράγοντες



5. Διαγνωστική προσέγγιση – Κριτήρια Ταξινόμησης

Δεδομένου ότι το SS χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλία φαινοτυπικών εκδηλώσεων, η αξιολόγηση των ασθενών στηρίζεται στην λήψη εκτενούς ιστορικού και φυσικής εξέτασης, με σκοπό την αντικειμενοποίηση των βασικών χαρακτηριστικών: 1) τον βαθμό ξηρότητας των οφθαλμών, 2) την ξηρότητα του στοματικού βλεννογόνου και 3) την απόδειξη της αυτοανοσίας (109). Έτσι, αν και ο σκοπός δεν ήταν διαγνωστικός, εντούτοις την τελευταία 15ετία αναπτύχθηκαν κριτήρια ταξινόμησης, τα οποία παρέχουν στον κλινικό γιατρό ένα πλαίσιο διαγνωστικής προσέγγισης.

Κοινό χαρακτηριστικό τόσο των 2002 American - European Consensus Group (AECG) κριτηρίων (15) **(Πίνακας 3.)**, όσο των 2012 ACR-Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (ACR-SICCA) (110) **(Πίνακας 4.)**, αλλά και των 2016 ACR-European League Against Rheumatism (EULAR) κριτηρίων (81) **(Πίνακας 5.)**, αποτελεί ο ορισμός της θετικής βιοψίας χείλους (focus score >1 ανά 4mm²), με σκοπό την τεκμηρίωση της ιστολογικής διάγνωσης. Επιπλέον, δίνεται βαρύτητα στα αντικειμενικά ευρήματα ξηροστομίας και ξηροφθαλμίας και όχι μόνο στην υποκειμενική sicca συμπτωματολογία, επιτρέποντας την ταξινόμηση του συνδρόμου, ακόμα και αν δεν πληρείται το ιστολογικό κριτήριο. Από την άλλη πλευρά, ενώ τα κριτήρια του 2002, δίνουν μεγαλύτερο εύρος επιλογής μεταξύ των διαγνωστικών δοκιμασιών και στη διαφοροποίηση μεταξύ πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς SS, εκείνα του 2012 εντοπίζονται περισσότερο στην αντικειμενική απόδειξη του. Συγκεκριμένα, προσφέρουν μεγαλύτερη ευελιξία στον ανοσολογικό έλεγχο και δίνουν την επιλογή ενός πιο ευαίσθητου και λιγότερου τοξικού τεστ (fluroscein / lissamine green) για την πιστοποίηση της ξηράς κερατοεπιπεφυκίτιδας (13).

Υβριδικό αποτέλεσμα των παραπάνω ταξινομήσεων αποτελούν τα 2016 ACR-Eular κριτήρια, τα οποία παρουσιάζουν υψηλό επίπεδο ευαισθησίας (87.4%) και ειδικότητας (95.4%) **(Πίνακας 5.)**. Οι ασθενείς με συμπτώματα ξηροστομίας / ξηροφθαλμίας ή/και μία αξωαδενική εκδήλωση, αξιολογούνται με ένα σύστημα βαθμονόμησης βάση 1. αντικειμενικών κριτηρίων για την απόδειξη της ξηρότητας των βλεννογόνων, 2. ιστολογικής διάγνωσης και 3. θετικών anti-Ro/SSA αντισωμάτων, έτσι ώστε αν συγκεντρώνουν ένα τελικό σκορ ≥ 4 , να θεωρείται ότι

πάσχουν από SS. Από την παραπάνω ταξινόμηση, αποκλείονται ασθενείς με ιστορικό προηγηθείσας ακτινοβολίας κεφαλής και τραχήλου, ενεργό ηπατίτιδα C, Human Immunodeficiency Virus (HIV) λοίμωξη, σαρκοείδωση, αμυλοείδωση, νόσο μοσχεύματος έναντι ξενιστή (graft versus host disease / GVHD) ή και νόσο IgG4.

Άλλωστε, **η διαφορική διάγνωση** του συνδρόμου είναι εκτενής και περιλαμβάνει ιογενείς λοιμώξεις, καθώς και άλλα συστηματικά και διηθητικά νοσήματα που αφορούν κυρίως τους σιελογόνους αδένες και προσομοιάζουν αρκετά με την εικόνα του SS (111) (**Πίνακας 6**). Στις ΗΠΑ, ως πιο συχνή αιτία sicca συμπτωματολογίας αναφέρεται η χρήση φαρμάκων με αντιχολινεργικές ιδιότητες και με εύκολη διαθεσιμότητα στον πληθυσμό (over the counter – OTC drugs) (112). Επιπλέον, άτομα σε θεραπευτική αγωγή με αντιϋπερτασικά, αντικαταθλιπτικά, μυοχαλαρωτικά φάρμακα, οπιούχα αναλγητικά, υπναγωγά, αντιϊσταμινικά και αποσυμφορητικά, μπορούν να εμφανίζουν συμπτώματα ξηρότητας, ειδικά σε συνδυαστική λήψη των παραπάνω σκευασμάτων (113). Αναφέρεται, ακόμη, πως σοβαρή έλλειψη βιταμίνης A και διαταραχές υποθρεψίας, μπορεί να συσχετίζονται με σοβαρή και ανεξήγητη ξηρότητα οφθαλμών. Νέα δεδομένα, καταδεικνύουν, επίσης, πως οι πρόσφατα χορηγούμενοι βιολογικοί παράγοντες στην ανοσοθεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου, οι λεγόμενοι αναστολείς σημείων ελέγχου της ανοσολογικής διέγερσης (checkpoint inhibitors), οδηγούν στην εμφάνιση έντονης ξηρότητας βλενογόνων, ειδικά κατά το πρώτο χρονικό διάστημα της χορήγησής τους (114).

Από τις ιογενείς λοιμώξεις, σπουδαίοι μιμιτές της νόσου αποτελούν η ενεργός ηπατίτιδα C και η λοίμωξη από HIV, οι οποίες πρέπει να αποκλείονται στη διαφορική διάγνωση, ειδικά σε υψηλού κινδύνου πληθυσμιακές ομάδες. Ομοίως, από τα νεοπλασματικά νοσήματα, το λέμφωμα προσομοιάζει πολύ την εικόνα της συστηματικής προσβολής του SS, ενώ σε επιμένουσα διόγκωση σιελογόνων και δακρυϊκών αδένων με εκτενείς λεμφοκυτταρικές διηθήσεις, σκόπιμη είναι η αναζήτηση IgG4 πλασματοκυττάρων, με σκοπό τον αποκλεισμό της νόσου IgG4 (115). Τέλος, το σύνδρομο - sialadenitis, osteoarthritis, xerostomia - (SOX), αποτελεί μια πιθανή διάγνωση για την ομάδα εκείνων των ασθενών, οι οποίοι παρουσιάζουν σοβαρή sicca συμπτωματολογία και οστεοαρθρίτιδα και δεν πληρούν τα κριτήρια του SS (116).

Πίνακας 3. Sjogren's Syndrome / 2002 American - European Consensus Group (AECG)**I. Συμπτώματα από τους οφθαλμούς:** Θετική απάντηση σε τουλάχιστον μία από τις κάτωθι ερωτήσεις

1. Έχετε επίμονη ξηροφθαλμία με διάρκεια 3 ή και περισσότερους μήνες;
2. Έχετε επίμονη αίσθηση ξένου σώματος στα μάτια;
3. Χρησιμοποιείτε υποκατάστατα δακρύων περισσότερο από 3 φορές ημερησίως;

II. Συμπτώματα από το στόμα: Θετική απάντηση σε τουλάχιστον μία από τις κάτωθι ερωτήσεις

1. Έχετε συμπτώματα ξηροστομίας με διάρκεια 3 ή και περισσότερους μήνες;
2. Είχατε επίμονη ή υποτροπιάζουσα διόγκωση σιελογόνων αδένων στην ενήλικη ζωή;
3. Πίνετε συχνά νερό για την κατάποση ξηράς τροφής;

III. Οφθαλμολογικά σημεία – αντικειμενικά ευρήματα σε τουλάχιστον ένα από τα επόμενα διαγνωστικά τεστ

1. Schirmer's test (χωρίς αναισθησία) (≤ 5 mm σε 5 λεπτά).
2. Rose Bengal ή άλλο διαγνωστικό τεστ (≥ 4 mm βάση του συστήματος βαθμονόμησης van Bijsterveld).

IV. Ιστοπαθολογικά ευρήματα: Βιοψία ελάσσωνων σιελογόνων αδένων (από φαινομενικά φυσιολογικό βλεννογόνο), με εικόνα εστιακής λεμφοκυτταρικής διήθησης, εκτιμώμενη από ειδικό παθολογολογικό, με ένα focus score ≥ 1 . Αυτό ορίζεται ως αριθμός λεμφοκυτταρικών εστιών (αθροίσεις τουλάχιστον 50 λεμφοκυττάρων γύρω από φαινομενικά φυσιολογικά αδενικά λοβία) ανά 4 mm² αδενικού ιστού.**V. Συμμετοχή σιελογόνων αδένων:** Ως αντικειμενικό εύρημα συμμετοχής σιελογόνων αδένων, ορίζεται η θετική απάντηση σε ένα τουλάχιστον από τα κάτωθι διαγνωστικά τεστ:

1. Ροή σιέλου (μη διεγερόμενη) (≤ 1.5 ml σε 15λεπτά).
2. Σε σιελογραφία παρωτίδων, παρουσία γενικευμένης σιλεκτασίας (στικτό, κοιλοτικό ή καταστροφικό πρότυπο), χωρίς στοιχεία απόφραξης μείζονος εκφορητικού πόρου.
3. Σε σπινθηρογράφημα σιελογόνων αδένων, ευρήματα καθυστερημένης πρόσληψης / αποβολής και μειωμένης συγκέντρωσης ραδιοφαρμάκου.

VI. Αυτοαντισώματα: παρουσία των ακόλουθων αυτοαντισωμάτων στον ορό:

1. Αντισώματα έναντι του Ro(SSA) ή/και La(SSB) αντιγόνων.

Πρωτοπαθές SS

Μετά τον αποκλεισμό άλλων πιθανών νοσημάτων, ασθενείς θεωρούνται να πάσχουν από πρωτοπαθές SS όταν πληρείται:

- a. η παρουσία 4 από τα 6 κριτήρια, δεδομένου ότι το IV ή το VI κριτήριο είναι θετικό.
- b. η παρουσία 3 από τα 4 αντικειμενικά κριτήρια (III, IV, V, VI).

Δευτεροπαθές SS

Σε ασθενείς με διάγνωση έτερης, καλώς τεκμηριωμένης νόσου του συνδετικού ιστού, η παρουσία των κριτηρίων I ή II, μαζί με την παρουσία 2 εκ των III, IV ή V κριτηρίων, είναι ενδεικτική για την διάγνωση δευτεροπαθούς SS.

Κριτήρια αποκλεισμού

Ιστορικό παρελθούσας θεραπευτικής ακτινοβολίας κεφαλής και τραχήλου

Λοίμωξη από ηπατίτιδα C

Λοίμωξη από HIV (AIDS)

Ιστορικό λεμφώματος

Σαρκοείδωση

GVHD

Αντιχολινεργικά φάρμακα (σε χρονικό διάστημα μικρότερο από 4 φορές το χρόνο ημίσειας ζωής του φαρμάκου)

Πίνακας 4. 2012 ACR-Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (ACR-SICCA)

Σε άτομα με σημεία και συμπτώματα ενδεικτικά του συνδρόμου Sjögren, η διάγνωση είναι συμβατή, όταν πληρούνται τουλάχιστον 2 από τα 3 ακόλουθα αντικειμενικά ευρήματα:

1. Θετικά anti-Ro(SSA) ή και anti-La(SSB) αντισώματα ή [RF(+) και ANA \geq 1/320]
2. Βιοψία χείλους ενδεικτική εστιακής λεμφοκυτταρικής σιελαδενίτιδας με focus score \geq 1 /4 mm²
3. Ξηρά κερατοεπιπεφυκίτιδα με δείκτη χρώσης οφθαλμού (ocular staining score) \geq 3 (με την προϋπόθεση πως ο ασθενής δεν κάνει καθημερινή χρήση οφθαλμικών σταγόνων για γλαύκωμα, δεν έχει προσφάτως υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση κερατοειδούς ή βλεφαροπλαστική την τελευταία 5ετία

Προηγηθείσα διάγνωση μιας από τις ακόλουθες κλινικές καταστάσεις, αποκλείει τη συμμετοχή ασθενών σε μελέτες του συνδρόμου Sjögren ή θεραπευτικές δοκιμασίες, δεδομένου των αλληλεπικαλυπτόμενων κλινικών εκδηλώσεων και την παρέμβαση στην αξιοπιστία των διαγνωστικών κριτηρίων:

- Ιστορικό παρελθούσας θεραπευτικής ακτινοβολίας κεφαλής και τραχήλου
- Λοίμωξη από ηπατίτιδα C
- Λοίμωξη από HIV (AIDS)
- Σαρκοείδωση
- Αμυλοείδωση
- GVHD
- Νόσος IgG4

Πίνακας 5. 2016 ACR–EULAR Classification Criteria for Sjogren's Syndrome

Κριτήρια ένταξης: Συμπτώματα ξηροστομίας ή ξηροφθαλμίας ή 1 εξωαδενική εκδήλωση του SS

Κριτήριο	Βαρύτητα
Βιοψία (+) (FS > 1 / 4mm ²)	3
Anti-Ro (SSA) (+)	3
OSS > 5 (or van Bijsterveld score > 4). 1 οφθαλμός	1
Schirmer's (χωρίς αναισθησία) < 5mm/5 min. 1 οφθαλμός	1
Μη διεγερθείσα ροή σιέλου < 0.1 ml/min	1

Ολικό σκορ: τουλάχιστον 4 για να θεωρηθεί ασθενής με πρωτοπαθές SS

Κριτήρια αποκλεισμού: Ιστορικό παρελθούσας θεραπευτικής ακτινοβολίας κεφαλής και τραχήλου, ενεργός ηπατίτιδα C (+PCR), λοίμωξη από HIV, σαρκοείδωση, αμυλοείδωση, GVHD, νόσος IgG4

OSS: Ocular staining score, **PCR:** Polymerase chain reaction

Πίνακας 6.**Σύνδρομο Sjögren – Διαφορική διάγνωση**

Νοσήματα σχετιζόμενα με SS	Νοσήματα μιμούμενα το SS
Συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος Συστηματικό Σκληρόδερμα Ρευματοειδής Αρθρίτιδα Νόσος Still Φλεγμονώδεις Μυοπάθειες	Διηθητικά νοσήματα σιελογόνων αδένων Κοκκιοματώδη νοσήματα (σαρκοείδωση /φυματίωση) Αμυλοείδωση Νεοπλασίες (λέμφωμα) Νόσος IgG4 Υπερλιπιδαιμία τύπου V
Οργανοειδικά αυτοάνοσα νοσήματα Πρωτοπαθής χολική κίρρωση Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Πολλαπλή Σκλήρυνση Σακχαρώδης διαβήτης	Άλλες παθήσεις GVHD Σύνδρομο ηωσινοφιλίας – μυαλγίας Ακτινοθεραπεία Φάρμακα
Χρόνιες ιογενείς λοιμώξεις Χρόνια ηπατίτιδα C Λοίμωξη από HTLV-1 Λοίμωξη από HIV	Άλλες καταστάσεις Άγχος – κατάθλιψη Αναπνοή με ανοιχτό στόμα Υποθρεψία – Έλλειψη βιταμίνης A



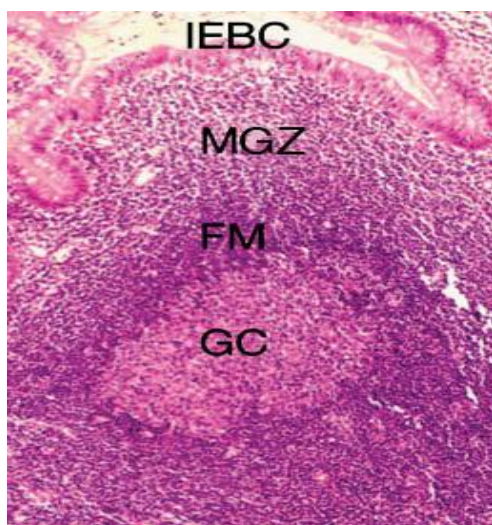
6. Σύνδρομο Sjögren – Λεμφωματογένεση

Παρά το γεγονός πως το SS είναι μια ήπια νόσος με χαμηλό φορτίο νοσηρότητας και θνητότητας, εντούτοις επιπλέκεται από την εκδήλωση B-NHL, με το 65% των ασθενών να εμφανίζουν χαμηλής κακοήθειας, οριακής ζώνης B-κυτταρικό λέμφωμα (MZL) (69). Κυρίως εντοπίζεται εξωαδενικά (extranodal), στο λεμφικό ιστό που αναπτύσσεται στους βλενογόνους (mucosa-associated lymphoid tissue / MALT), με ήπια πορεία, χαμηλό καρκινικό φορτίο, φυσιολογικά επίπεδα lactate dehydrogenase (LDH) και β₂-μικροσφαιρίνης, χωρίς την εκδήλωση B-συμπτωματολογίας και διήθηση του μυελού των οστών. Παρολ'αυτά, σε ένα ποσοστό 10%, έχει σημειωθεί ανάπτυξη διάχυτου B-κυτταρικής αρχής λεμφώματος (DLBCL), προερχόμενο από τον ίδιο κλωνικό πληθυσμό B-κυττάρων από το αρχικό, χαμηλής κακοήθειας λέμφωμα (117).

Η ιστολογική εικόνα του λεμφώματος MALT είναι σχετικά ομοιογενής. Συνήθως παρατηρούνται διάχυτες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις, οι οποίες αποτελούνται από μικρά λεμφοκύτταρα με στρογγυλό πυρήνα, ή από πλασματοκυτταρικής διαφοροποίησης λεμφοκύτταρα, ή από κεντροκύτταρα. Αυτά εξέρχονται μέσω της περιφερειακής ζώνης (marginal zone) των λεμφοζιδίων και διηθούν την επιθηλιακή στιβάδα, καταστρέφοντας την αρχιτεκτονική των σιελογόνων αδένων και οδηγώντας στην κλασική εικόνα των αλλοιώσεων MALT (*Εικόνα 4*). Οι λεμφοεπιθηλιακές αυτές βλάβες θα πρέπει να διαχωρίζονται από τη λεγόμενη μυοεπιθηλιακή (MESA) ή λεμφοεπιθηλιακή σιελαδενίτιδα (LESA), η οποία χαρακτηρίζεται από συρρέουσες λεμφοκυτταρικές εστίες με πολυκλωνικό ή ολιγοκλωνικό B κυτταρικό πληθυσμό. Αντίθετα, στην περίπτωση του λεμφώματος, με μεθόδους μοριακής ανίχνευσης παρατηρείται μονοκλωνικότητα τόσο των βαριών όσο και των ελαφρών αλύσων των ανοσοσφαιρινών που παράγονται (118).

Εκτός των παραπάνω, στη βιβλιογραφία σημειώνονται και άλλοι ιστολογικοί τύποι που απαντώνται στο SS, όπως το αδενικό οριακής ζώνης B-κυτταρικό λέμφωμα (nodal marginal zone B-cell lymphoma) (10%), το θυλακιώδες (follicle center lymphoma) και το λεμφοπλασματοκυτταροειδές (lymphoplasmacytoid), με το MALT να είναι η συνηθέστερη μορφή κακοήθειας που προσβάλλει τους σιελογόνους αδένες. Παράλληλα, η ανάπτυξή του έχει παρατηρηθεί και σε άλλες εξωαδενικές εντοπίσεις, όπως στο στόμαχο (GALT), στους πνεύμονες (BALT), στο δέρμα, στο ρινοφάρυγγα

και το ήπαρ. Στη φάση της αρχικής διάγνωσης, υπολογίζεται πως το 20% των ασθενών παρουσιάζει ταυτόχρονη προσβολή σε περισσότερες από μία θέσεις, γεγονός που δείχνει πως το MALT προτιμά να μεθίσταται και σε άλλους βλενογόνους, με σχετικά συχνή προσβολή και των περιοχικών λεμφαδένων (65). Κοινή συνισταμένη των περιοχών αυτών είναι ότι φείδονται λεμφικού ιστού, ο οποίος αναπτύσσεται στο πλαίσιο συνεχούς και χρόνιου αντιγονικού ερεθισμού, που προηγείται της εκδήλωσης του λεμφώματος (119).

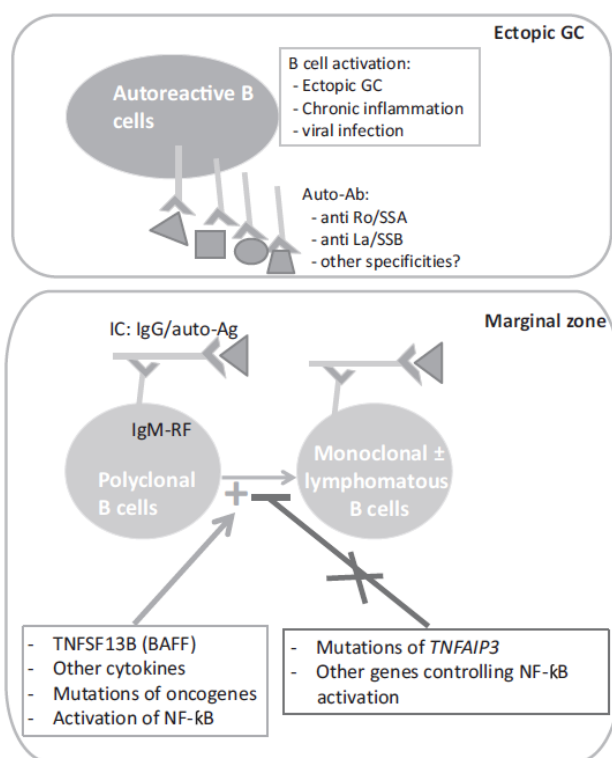


Εικόνα 4. (Πηγή: Isaacson et al. (2004). *Nature Review Cancer*, 4, 644-653)

MALT λεμφοεπιθηλιακή αλλοίωση γαστρεντερικού σωλήνα. Διακρίνεται κεντρικά η παρουσία του έκτοπου βλαστικού κέντρου (*EGC*) - αραιοχρωματική περιοχή -, περιβαλλόμενο από την καλυπτήρια ζώνη (*follicular mantle zone - FM*), και την οριακή ζώνη (*marginal zone - MGZ*). Εξωτερικά, διακρίνεται η ενδοεπιθηλιακή οριακή ζώνη (*intraepithelial B cells - IEBC*) με την διήθηση του εντερικού επιθηλίου από κλωνικό πληθυσμό *B* κυττάρων και την ανάπτυξη λεμφώματος *MALT*.

Η λεμφωματογένεση, λοιπόν, φαίνεται να είναι μια σταδιακή και πολυεπίπεδη διαδικασία, η οποία πιθανώς πυροδοτείται στο πλαίσιο μιας χρόνιας φλεγμονώδους απόκρισης (Εικόνα 5). Η συσχέτιση μεταξύ φλεγμονής και ογκογένεσης, περιγράφηκε πρώτη φορά τον 19^ο αιώνα από τον γερμανό παθολόγο Rudolf Virchow, ο οποίος παρατήρησε την παρουσία λευκοκυττάρων σε ιστολογικά παρασκευάσματα όγκων (120). Πλέον, ολοένα και περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν τη διαμόρφωση ενός φλεγμονώδους μικροπεριβάλλοντος να αποτελεί το εναρκτήριο λάκτισμα στην ογκογενετική διαδικασία (121–125). Ο συνεχής αντιγονικός ερεθισμός, λόγω λοίμωξης ή αυτοανοσίας φαίνεται να οδηγεί στην συγκέντρωση πολυκλωνικών *B*-κυττάρων καθώς και άλλων κυτταρικών πληθυσμών - *T* κύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα - στις θέσεις της φλεγμονής, όπου με τη συμμετοχή των λοιπών στοιχείων του μικροπεριβάλλοντος - επιθηλιακά κύτταρα - , να επιτείνουν περαιτέρω τη φλεγμονώδη απόκριση (119,126).

Ειδικά, η εκσεσημασμένη κινητοποίηση των B κυττάρων φαίνεται να πυροδοτείται από συγκεκριμένο αντιγονικό στόχο. Δεδομένου ότι τα anti-Ro/SSA και anti-La/SSB αυτοαντισώματα ανιχνεύονται στα 2/3 των ασθενών με SS, οι πρώτοι στόχοι που πιθανολογούνται είναι οι Ro και La ριβονουκλεοπρωτεΐνες. Παράλληλα ιογενή αντιγόνα, όπως στην περίπτωση λοίμωξης από Epstein-Barr (EBV), έχουν ενοχοποιηθεί, επίσης, στην κινητοποίηση αυτοδραστικών B λεμφοκυττάρων (127). Έτσι, οδηγούμαστε στο σχηματισμό ανοσοσυμπλεγμάτων (ICs), των οποίων η σύνθεση επιτελείται εντός των έκτοπων βλαστικών κέντρων (EGCs) (128). Πρόκειται για δομές που φυσιολογικά εντοπίζονται στα δευτερογενή λεμφικά όργανα και στις οποίες πραγματοποιείται σωματική υπερμετάλλαξη των γονιδίων που αφορούν την μεταβλητή περιοχή των βαριών και ελαφρών αλυσών των ανοσοσφαιρινών (Igs). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή κλωνικού B κυτταρικού πληθυσμού με μεγάλη συγγένεια δέσμευσης προς συγκεκριμένο αντιγονικό στόχο.



Εικόνα 5. (Πηγή: Gaetane Nocturne and Xavier Mariette, *Br J Haematol.* 2015 Feb;168(3):317-27)

Σενάριο Λεμφωματογένεσης

Στα έκτοπα βλαστικά κέντρα, αναπτύσσεται πληθυσμός αυτοδραστικών B κυττάρων έναντι συγκεκριμένων αντιγονικών στόχων, ως αποτέλεσμα χρόνιας φλεγμονώδους απόκρισης. Υπό την επίδραση ογκογενετικών μεταλλάξεων και γονιδιακών παραγόντων που ρυθμίζουν κυρίως την ανοσολογική απάντηση, επιτελείται εκτροπή των πολυκλωνικών B κυττάρων σε μονοκλωνικό πληθυσμό, οδηγώντας στην εμφάνιση λεμφώματος MALT

Τα EGCs δημιουργούνται σε θέσεις χρόνιου φλεγμονώδους ερεθισμού, με τον σχηματισμό λεμφοζιδίων να αποτελούνται από B κύτταρα, περιβαλλόμενα από περιοχές πλούσιες σε T λεμφοκύτταρα και αναπτυσσόμενα δίκτυα θυλακιωδών δενδριτικών κυττάρων (FDCs) (126). Στο SS, ανευρίσκονται σε συχνότητα περίπου

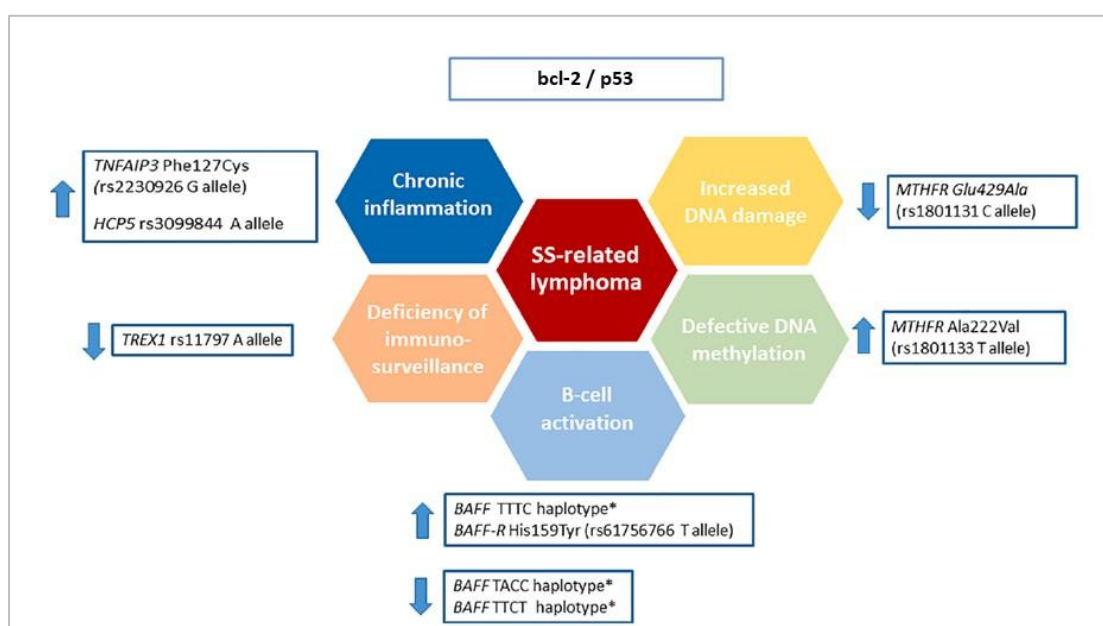
30-40% (129), και εκτός των μορφολογικών χαρακτηριστικών, έχουν και ρόλο λειτουργικών λεμφοζιδίων. Συγκεκριμένα, σε ασθενείς με παρουσία EGCs φάνηκε να επιτελείται παραγωγή B κυττάρων με συγγένεια δέσμευσης προς συγκεκριμένο αντιγονικό στόχο (130). Βρέθηκε, μάλιστα, να διαθέτουν και το ενζυμικό εργαλείο - activation induced deaminase (AID) - το οποίο είναι υπεύθυνο, τόσο για την αλλαγή τάξης (class switch recombination), όσο και για την σωματική υπερμετάλλαξη των γονιδίων που κωδικοποιούν την μεταβλητή περιοχή των βαριών και ελαφρών αλύσων των Igs (131). Η έκφραση του ενζύμου AID πραγματοποιείται στα δίκτυα των FDCs, γεγονός το οποίο αποτελεί σταθερό εύρημα μόνο μεταξύ των ασθενών, που ιστολογικά αναπτύσσουν δομές ανάλογες των EGCs (132).

Στα έκτοπα λεμφοζίδια, τα B κύτταρα φέρουν υποδοχείς ανάλογους με τα φυσιολογικά marginal B cells, B-cell receptor (BCR) και Toll-like receptor (TLR), χωρίς να επιτελείται όμως η φυσιολογική ενεργοποίηση αυτών, μέσω θυμοανεξάρτητων αντιγόνων τύπου I, που καταλήγει σε παραγωγή ανοσοσφαιρινών με χαμηλή συγγένεια δέσμευσης (133). Ειδικά, ο BCR φαίνεται να έχει χαρακτηριστικά RF, καθώς η περιοχή Complementarity-determining region 3 (CDR3) της μεταβλητής βαριάς αλυσίδας (VH-CDR3) βρέθηκε να εμφανίζει υψηλή ομολογία με τους V1-69 / V3-7 RFs και με ικανότητα σύνδεσης IgG ανοσοσφαιρίνης in vitro, σε συχνότητα 40% μεταξύ των SS ασθενών με λέμφωμα MALT (134,135).

Έτσι, η διαδικασία της λεμφωματογένεσης, φαίνεται να ξεκινά από πολυκλωνικό πληθυσμό RF+ B κυττάρων, ο οποίος συντηρείται και επεκτείνεται από τη δράση του παράγοντα BAFF, αλλά και άλλων κυτταροκινών, που εκκρίνονται από τα επιθηλιακά, τα T κύτταρα, αλλά και από τον ίδιο τον B κυτταρικό πληθυσμό. Το γεγονός ότι επιτελείται ένας συνεχής αντιγονικός ερεθισμός υπό την παρουσία συγκεκριμένων ανοσοσυμπλεγμάτων, καθιστά επιβεβλημένη την ανοσοεπιτήρηση των αυτοδραστικών RF+ B κυττάρων. Αυτή, όμως, είναι ελλιπής, καθώς στον αναπτυσσόμενο έκτοπο λεμφικό ιστό (MALT), σε αντίθεση με το σπλήνα, τους λεμφαδένες και το μυελό των οστών, οι μηχανισμοί ελέγχου της B κυτταρικής διέγερσης δεν είναι αποτελεσματικοί (117).

Το περιβάλλον αυτό, συνδυαστικά με μεταλλάξεις ογκογονιδίων [B-cell lymphoma 2 (*Bcl-2*), Tumor protein p53 (*p53*)], αλλά και γονιδίων που σχετίζονται με **α. ανεξέλεγκτη φλεγμονώδη απόκριση** [TNF Alpha Induced Protein 3 (*TNFAIP3*),

HLA Complex P5 (*HCP5*), **β. διαταραχή της ανοσοεπιτήρησης** (Three prime repair exonuclease 1 (*TREX1 rs 11797 allele*), **γ. υπερβολική κινητοποίηση των Β κυττάρων** [μεταλλάξεις των γονιδίων που αφορούν τον παράγοντα BAFF (*BAFF TTTC/TACC/TTCT haplotypes*), και τον υποδοχέα του BAFF-R (*BAFF-R His159Tyr*)], **δ. ελαττωματική μεθυλίωση του DNA** [methylenetetrahydrofolate reductase (*MTHFR rs1801133, 677T allele*)] και **ε. αυξημένη αστάθεια του γενετικού υλικού** [*MTHFR rs1801131, 1298C allele*] (136) (*Εικόνα 6*), οδηγεί τελικά σε επικράτηση μονοκλωνικού Β-κυτταρικού πληθυσμού και την εκτροπή σε λέμφωμα.



Εικόνα 6. (Πηγή: *Nezos A. et al, J Autoimmun. 2019 Nov;104:102317*)

Σύνολο γενετικών παραγόντων που συμβάλλουν στη διαδικασία της λεμφωματογένεσης στο πλαίσιο του συνδρόμου Sjögren.



Βιβλιογραφία (1)

1. Parke AL, Buchanan WW. Sjögren's syndrome: History, clinical and pathological features. *InflammoPharmacology*. 1998 Dec 1;6(4):271–87.
2. The Principles and Practice of Medicine by Osler, William: Very Good Hardcover (1978) | Frabjous Books [Internet]. [cited 2020 Jul 8]. Available from: <https://www.abebooks.co.uk/Principles-Practice-Medicine-Osler-William-Classics/30610637308/bd>
3. Ihrler S, Harrison JD. Mikulicz's disease and Mikulicz's syndrome: Analysis of the original case report of 1892 in the light of current knowledge identifies a MALT lymphoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005 Sep 1;100(3):334–9.
4. Gougerot H. Insuffisance progressive et atrophie des glandes salivaires et muqueuses de la bouche, des conjonctives (et parfois des muqueuses nasale, laryngée, vulvaire). Secheresse de la bouche, des conjonctives, etc. *Bull Med (Paris)*. 1926;40:360-8.
5. Murube J. Henrik Sjögren, 1899–1986. *Ocul Surf*. 2010 Jan 1;8(1):2–7.
6. Talal N. Historical overview of Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1994 Dec;12 Suppl 11:S3-4.
7. Harley JB. Autoantibodies in Sjögren's Syndrome. In: Talal N, Moutsopoulos HM, Kassan SS, editors. *Sjögren's Syndrome: Clinical and Immunological Aspects* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 1987 [cited 2020 Jul 13]. p. 218–34. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-642-50118-0_21
8. Strand V, Talal N. Advances in the diagnosis and concept of Sjögren's syndrome (autoimmune exocrinopathy). *Bull Rheum Dis*. 1979 1980;30(9):1046–52.
9. Moutsopoulos HM. Sjögren's syndrome: autoimmune epithelitis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994 Aug;72(2):162–5.
10. Pillemer SR, Matteson EL, Jacobsson LT, Martens PB, Melton LJ, O'Fallon WM, et al. Incidence of physician-diagnosed primary Sjögren syndrome in residents of Olmsted County, Minnesota. *Mayo Clin Proc*. 2001 Jun;76(6):593–9.
11. Plesivcnik Novljan M, Rozman B, Hocevar A, Grmek M, Kveder T, Tomsic M. Incidence of primary Sjögren's syndrome in Slovenia. *Ann Rheum Dis*. 2004 Jul;63(7):874–6.
12. Alamanos Y, Tsifetaki N, Voulgari PV, Venetsanopoulou AI, Siozos C, Drosos AA. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome in north-west Greece, 1982-2003. *Rheumatol Oxf Engl*. 2006 Feb;45(2):187–91.
13. Vivino FB, Bunya VY, Massaro-Giordano G, Johr CR, Giattino SL, Schorpion A, et al. Sjögren's syndrome: An update on disease pathogenesis, clinical manifestations and treatment. *Clin Immunol Orlando Fla*. 2019;203:81–121.
14. Patel R, Shahane A. The epidemiology of Sjögren's syndrome. *Clin Epidemiol*. 2014;6:247–55.

15. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*. 2002 Jun;61(6):554–8.
16. Dafni UG, Tzioufas AG, Staikos P, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Prevalence of Sjögren's syndrome in a closed rural community. *Ann Rheum Dis*. 1997 Sep;56(9):521–5.
17. Anagnostopoulos I, Zinzaras E, Alexiou I, Papathanasiou AA, Davas E, Koutroumpas A, et al. The prevalence of rheumatic diseases in central Greece: a population survey. *BMC Musculoskelet Disord*. 2010 May 26;11:98.
18. Haugen AJ, Peen E, Hultén B, Johannessen AC, Brun JG, Halse AK, et al. Estimation of the prevalence of primary Sjögren's syndrome in two age-different community-based populations using two sets of classification criteria: the Hordaland Health Study. *Scand J Rheumatol*. 2008 Feb;37(1):30–4.
19. Trontzas PI, Andrianakos AA. Sjogren's syndrome: a population based study of prevalence in Greece. The ESORDIG study. *Ann Rheum Dis*. 2005 Aug;64(8):1240–1.
20. Thomas E, Hay EM, Hajeer A, Silman AJ. Sjögren's syndrome: a community-based study of prevalence and impact. *Br J Rheumatol*. 1998 Oct;37(10):1069–76.
21. Botsios C, Furlan A, Ostuni P, Sfriso P, Andretta M, Ometto F, et al. Elderly onset of primary Sjögren's syndrome: clinical manifestations, serological features and oral/ocular diagnostic tests. Comparison with adult and young onset of the disease in a cohort of 336 Italian patients. *Joint Bone Spine*. 2011 Mar;78(2):171–4.
22. Goules AV, Argyropoulou OD, Pezoulas VC, Chatzis L, Critselis E, Gandolfo S, et al. Primary Sjögren's Syndrome of Early and Late Onset: Distinct Clinical Phenotypes and Lymphoma Development. *Front Immunol*. 2020;11:594096.
23. Virdee S, Greenan-Barrett J, Ciurtin C. A systematic review of primary Sjögren's syndrome in male and paediatric populations. *Clin Rheumatol*. 2017 Oct;36(10):2225–36.
24. Kassan SS, Moutsopoulos HM. Clinical manifestations and early diagnosis of Sjögren syndrome. *Arch Intern Med*. 2004 Jun 28;164(12):1275–84.
25. de Souza TR, Silva IHM, Carvalho AT, Gomes VB, Duarte AP, Leão JC, et al. Juvenile Sjögren syndrome: distinctive age, unique findings. *Pediatr Dent*. 2012 Oct;34(5):427–30.
26. Ostuni PA, Ianniello A, Sfriso P, Mazzola G, Andretta M, Gambari PF. Juvenile onset of primary Sjögren's syndrome: report of 10 cases. *Clin Exp Rheumatol*. 1996 Dec;14(6):689–93.
27. Ramos-Casals M, Cervera R, Font J, García-Carrasco M, Espinosa G, Reino S, et al. Young onset of primary Sjögren's syndrome: clinical and immunological characteristics. *Lupus*. 1998;7(3):202–6.
28. Cimaz R, Casadei A, Rose C, Bartunkova J, Sediva A, Falcini F, et al. Primary Sjögren syndrome in the paediatric age: a multicentre survey. *Eur J Pediatr*. 2003 Oct;162(10):661–5.

29. Gondran G, Fauchais A, Lambert M, Ly K, Launay D, Queyrel V, et al. Primary Sjogren's syndrome in men. *Scand J Rheumatol*. 2008 Aug;37(4):300–5.
30. Nossent JC, Swaak AJ. Systemic lupus erythematosus VII: frequency and impact of secondary Sjogren's syndrome. *Lupus*. 1998;7(4):231–4.
31. Andonopoulos AP, Skopouli FN, Dimou GS, Drosos AA, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 1990 Feb;17(2):201–4.
32. Massardo L, Aguirre V, García ME, Cervila V, Nicovani S, González A, et al. Clinical expression of rheumatoid arthritis in Chilean patients. *Semin Arthritis Rheum*. 1995 Dec;25(3):203–13.
33. Gilboe IM, Kvien TK, Uhlig T, Husby G. Sicca symptoms and secondary Sjogren's syndrome in systemic lupus erythematosus: comparison with rheumatoid arthritis and correlation with disease variables. *Ann Rheum Dis*. 2001 Dec;60(12):1103–9.
34. Pan HF, Ye DQ, Wang Q, Li WX, Zhang N, Li XP, et al. Clinical and laboratory profiles of systemic lupus erythematosus associated with Sjogren syndrome in China: a study of 542 patients. *Clin Rheumatol*. 2008 Mar;27(3):339–43.
35. Manoussakis MN, Georgopoulou C, Zintzaras E, Spyropoulou M, Stavropoulou A, Skopouli FN, et al. Sjogren's syndrome associated with systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory profiles and comparison with primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2004 Mar;50(3):882–91.
36. Ioannidis JPA, Tarassi K, Papadopoulos IA, Voulgari PV, Boki KA, Papasteriades CA, et al. Shared epitopes and rheumatoid arthritis: disease associations in Greece and meta-analysis of Mediterranean European populations. *Semin Arthritis Rheum*. 2002 Jun;31(6):361–70.
37. Drosos AA, Lanchbury JS, Panayi GS, Moutsopoulos HM. Rheumatoid arthritis in Greek and British patients. A comparative clinical, radiologic, and serologic study. *Arthritis Rheum*. 1992 Jul;35(7):745–8.
38. Andonopoulos AP, Drosos AA, Skopouli FN, Acritidis NC, Moutsopoulos HM. Secondary Sjogren's syndrome in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1987 Dec;14(6):1098–103.
39. Avouac J, Sordet C, Depinay C, Ardizzone M, Vacher-Lavenu MC, Sibilia J, et al. Systemic sclerosis-associated Sjogren's syndrome and relationship to the limited cutaneous subtype: results of a prospective study of sicca syndrome in 133 consecutive patients. *Arthritis Rheum*. 2006 Jul;54(7):2243–9.
40. Andonopoulos AP, Drosos AA, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome in rheumatoid arthritis and progressive systemic sclerosis. A comparative study. *Clin Exp Rheumatol*. 1989 Apr;7(2):203–5.
41. Drosos AA, Andonopoulos AP, Costopoulos JS, Stavropoulos ED, Papadimitriou CS, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome in progressive systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1988 Jun;15(6):965–8.
42. Alarcon-Segovia D. Symptomatic Sjogren's syndrome in mixed connective tissue disease. *J Rheumatol*. 1976 Jun;3(2):191–5.

43. Wielosz E, Majdan M, Zychowska I, Jeleniewicz R. Coexistence of five autoimmune diseases: diagnostic and therapeutic difficulties. *Rheumatol Int.* 2008 Jul;28(9):919–23.
44. Lazarus MN, Isenberg DA. Development of additional autoimmune diseases in a population of patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2005 Jul;64(7):1062–4.
45. Lindgren S, Manthorpe R, Eriksson S. Autoimmune liver disease in patients with primary Sjögren's syndrome. *J Hepatol.* 1994 Mar;20(3):354–8.
46. Montaña-Loza AJ, Crispín-Acuña JC, Remes-Troche JM, Uribe M. Abnormal hepatic biochemistries and clinical liver disease in patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Hepatol.* 2007 Sep;6(3):150–5.
47. Matsumoto T, Morizane T, Aoki Y, Yamasaki S, Nakajima M, Enomoto N, et al. Autoimmune hepatitis in primary Sjogren's syndrome: pathological study of the livers and labial salivary glands in 17 patients with primary Sjogren's syndrome. *Pathol Int.* 2005 Feb;55(2):70–6.
48. Biró E, Szekanez Z, Czirják L, Dankó K, Kiss E, Szabó NA, et al. Association of systemic and thyroid autoimmune diseases. *Clin Rheumatol.* 2006 Mar;25(2):240–5.
49. Scofield RH, Bruner GR, Harley JB, Namjou B. Autoimmune thyroid disease is associated with a diagnosis of secondary Sjögren's syndrome in familial systemic lupus. *Ann Rheum Dis.* 2007 Mar;66(3):410–3.
50. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Font J. The overlap of Sjögren's syndrome with other systemic autoimmune diseases. *Semin Arthritis Rheum.* 2007 Feb;36(4):246–55.
51. Lindvall B, Bengtsson A, Ernerudh J, Eriksson P. Subclinical myositis is common in primary Sjögren's syndrome and is not related to muscle pain. *J Rheumatol.* 2002 Apr;29(4):717–25.
52. Alani H, Henty JR, Thompson NL, Jury E, Ciurtin C. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of polyautoimmunity in Sjögren's syndrome (secondary Sjögren's syndrome) focusing on autoimmune rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol.* 2018 Mar;47(2):141–54.
53. Kassan SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR, et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med.* 1978 Dec;89(6):888–92.
54. Hernández JA, Olivé A, Ribera JM, Tena X, Cuxart A, Feliu E. Probability of the development of non-Hodgkin's lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Scand J Rheumatol.* 1996;25(6):396–7.
55. Kruize AA, Hené RJ, van der Heide A, Bodeutsch C, de Wilde PC, van Bijsterveld OP, et al. Long-term followup of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 1996 Feb;39(2):297–303.
56. Lazarus MN, Robinson D, Mak V, Møller H, Isenberg DA. Incidence of cancer in a cohort of patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatol Oxf Engl.* 2006 Aug;45(8):1012–5.

57. Martens PB, Pillemer SR, Jacobsson LT, O'Fallon WM, Matteson EL. Survivorship in a population based cohort of patients with Sjögren's syndrome, 1976-1992. *J Rheumatol.* 1999 Jun;26(6):1296–300.
58. Pavlidis NA, Drosos AA, Papadimitriou C, Talal N, Moutsopoulos HM. Lymphoma in Sjogren's syndrome. *Med Pediatr Oncol.* 1992;20(4):279–83.
59. Sutcliffe N, Inanc M, Speight P, Isenberg D. Predictors of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 1998 Oct;28(2):80–7.
60. Valesini G, Priori R, Bavoillot D, Osborn J, Danieli MG, Del Papa N, et al. Differential risk of non-Hodgkin's lymphoma in Italian patients with primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol.* 1997 Dec;24(12):2376–80.
61. Voulgarelis M, Dafni UG, Isenberg DA, Moutsopoulos HM. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a multicenter, retrospective, clinical study by the European Concerted Action on Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum.* 1999 Aug;42(8):1765–72.
62. Zufferey P, Meyer OC, Grossin M, Kahn MF. Primary Sjögren's syndrome (SS) and malignant lymphoma. A retrospective cohort study of 55 patients with SS. *Scand J Rheumatol.* 1995;24(6):342–5.
63. Zintzaras E, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2005 Nov 14;165(20):2337–44.
64. Solans-Laqué R, López-Hernandez A, Bosch-Gil JA, Palacios A, Campillo M, Vilardell-Tarres M. Risk, predictors, and clinical characteristics of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2011 Dec;41(3):415–23.
65. Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in Sjögren's syndrome: risks, management, and prognosis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2008 Nov;34(4):921–33, viii.
66. Ioannidis JPA, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long-term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2002 Mar;46(3):741–7.
67. Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum.* 2000 Apr;29(5):296–304.
68. Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and outcome of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjögren syndrome. *Medicine (Baltimore).* 2012 Jan;91(1):1–9.
69. Goules AV, Tzioufas AG. Lymphomagenesis in Sjögren's syndrome: Predictive biomarkers towards precision medicine. *Autoimmun Rev.* 2019 Feb;18(2):137–43.
70. Theander E, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Mortality and causes of death in primary Sjögren's syndrome: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 2004 Apr;50(4):1262–9.

71. Retamozo S, Brito-Zerón P, Ramos-Casals M. Prognostic markers of lymphoma development in primary Sjögren syndrome. *Lupus*. 2019 Jul;28(8):923–36.
72. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 2014 Oct 21;186(15):E579-586.
73. Skopouli FN, Papanikolaou S, Malamou-Mitsi V, Papanikolaou N, Moutsopoulos HM. Obstetric and gynaecological profile in patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 1994 Sep;53(9):569–73.
74. Ng W-F, Bowman SJ. Primary Sjogren's syndrome: too dry and too tired. *Rheumatol Oxf Engl*. 2010 May;49(5):844–53.
75. Drosos AA, Angelopoulos NV, Liakos A, Moutsopoulos HM. Personality structure disturbances and psychiatric manifestations in primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmun*. 1989 Aug;2(4):489–93.
76. Theander L, Strömbeck B, Mandl T, Theander E. Sleepiness or fatigue? Can we detect treatable causes of tiredness in primary Sjögren's syndrome? *Rheumatol Oxf Engl*. 2010 Jun;49(6):1177–83.
77. Skopouli FN, Talal A, Galanopoulou V, Tsampoulas CG, Drosos AA, Moutsopoulos HM. Raynaud's phenomenon in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 1990 May;17(5):618–20.
78. Skopouli FN, Barbatis C, Moutsopoulos HM. Liver involvement in primary Sjögren's syndrome. *Br J Rheumatol*. 1994 Aug;33(8):745–8.
79. Goules A, Masouridi S, Tzioufas AG, Ioannidis JP, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Clinically significant and biopsy-documented renal involvement in primary Sjögren syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 2000 Jul;79(4):241–9.
80. Bournia V-K, Vlachoyiannopoulos PG. Subgroups of Sjögren syndrome patients according to serological profiles. *J Autoimmun*. 2012 Aug;39(1–2):15–26.
81. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, 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.
82. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren's syndrome. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:273–85.
83. Daniels TE, Aufdemorte ThB, Greenspan JS. Histopathology of Sjögren's Syndrome. In: Talal N, Moutsopoulos HM, Kassan SS, editors. *Sjögren's Syndrome: Clinical and Immunological Aspects* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 1987 [cited 2020 Oct 17]. p. 41–52. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-642-50118-0_6
84. Tarpley TM, Anderson LG, White CL. Minor salivary gland involvement in Sjögren's syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1974 Jan;37(1):64–74.
85. 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.
86. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. The geoepidemiology of Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010 Mar;9(5):A305-310.

87. Gliozzi M, Greenwell-Wild T, Jin W, Moutsopoulos NM, Kapsogeorgou E, Moutsopoulos HM, et al. A link between interferon and augmented plasmin generation in exocrine gland damage in Sjögren's syndrome. *J Autoimmun.* 2013 Feb;40:122–33.
88. Katsifis GE, Rekka S, Moutsopoulos NM, Pillemer S, Wahl SM. Systemic and local interleukin-17 and linked cytokines associated with Sjögren's syndrome immunopathogenesis. *Am J Pathol.* 2009 Sep;175(3):1167–77.
89. An H, Chandra V, Piraino B, Borges L, Geczy C, McNeil HP, et al. Soluble LILRA3, a potential natural antiinflammatory protein, is increased in patients with rheumatoid arthritis and is tightly regulated by interleukin 10, tumor necrosis factor-alpha, and interferon-gamma. *J Rheumatol.* 2010 Aug 1;37(8):1596–606.
90. Kang KY, Kim H-O, Kwok S-K, Ju JH, Park K-S, Sun D-I, et al. Impact of interleukin-21 in the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome: increased serum levels of interleukin-21 and its expression in the labial salivary glands. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(5):R179.
91. Scofield RH. IL-21 and Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(6):137.
92. Christodoulou MI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Foxp3+ T-regulatory cells in Sjogren's syndrome: correlation with the grade of the autoimmune lesion and certain adverse prognostic factors. *Am J Pathol.* 2008 Nov;173(5):1389–96.
93. Manoussakis MN, Boiu S, Korkolopoulou P, Kapsogeorgou EK, Kavantzias N, Ziakas P, et al. Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjögren's syndrome: correlation with certain features of immune hyperactivity and factors associated with high risk of lymphoma development. *Arthritis Rheum.* 2007 Dec;56(12):3977–88.
94. Triantafyllopoulou A, Moutsopoulos H. Persistent viral infection in primary Sjogren's syndrome: review and perspectives. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007 Jun;32(3):210–4.
95. Båve U, Nordmark G, Lövgren T, Rönnelid J, Cajander S, Eloranta M-L, et al. Activation of the type I interferon system in primary Sjögren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism. *Arthritis Rheum.* 2005 Apr;52(4):1185–95.
96. Ittah M, Miceli-Richard C, Eric Gottenberg J-, Lavie F, Lazure T, Ba N, et al. B cell-activating factor of the tumor necrosis factor family (BAFF) is expressed under stimulation by interferon in salivary gland epithelial cells in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(2):R51.
97. Szodoray P, Jonsson R. The BAFF/APRIL system in systemic autoimmune diseases with a special emphasis on Sjögren's syndrome. *Scand J Immunol.* 2005 Nov;62(5):421–8.
98. Manoussakis MN, Kapsogeorgou EK. The role of intrinsic epithelial activation in the pathogenesis of Sjögren's syndrome. *J Autoimmun.* 2010 Nov;35(3):219–24.
99. Tzioufas AG, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Pathogenesis of Sjögren's syndrome: what we know and what we should learn. *J Autoimmun.* 2012 Aug;39(1–2):4–8.
100. Spachidou MP, Bourazopoulou E, Maratheftis CI, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG, et al. Expression of functional Toll-like receptors by salivary gland

- epithelial cells: increased mRNA expression in cells derived from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2007 Mar;147(3):497–503.
101. Kawakami A, Nakashima K, Tamai M, Nakamura H, Iwanaga N, Fujikawa K, et al. Toll-like receptor in salivary glands from patients with Sjögren's syndrome: functional analysis by human salivary gland cell line. *J Rheumatol*. 2007 May;34(5):1019–26.
 102. Varin M-M, Guerrier T, Devauchelle-Pensec V, Jamin C, Youinou P, Pers J-O. In Sjögren's syndrome, B lymphocytes induce epithelial cells of salivary glands into apoptosis through protein kinase C delta activation. *Autoimmun Rev*. 2012 Feb;11(4):252–8.
 103. Kapsogeorgou EK, Abu-Helu RF, Moutsopoulos HM, Manoussakis MN. Salivary gland epithelial cell exosomes: A source of autoantigenic ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum*. 2005 May;52(5):1517–21.
 104. Nezos A, Mavragani CP. Contribution of Genetic Factors to Sjögren's Syndrome and Sjögren's Syndrome Related Lymphomagenesis. *J Immunol Res*. 2015;2015:754825.
 105. Pauley KM, Stewart CM, Gauna AE, Dupre LC, Kuklani R, Chan AL, et al. Altered miR-146a expression in Sjögren's syndrome and its functional role in innate immunity. *Eur J Immunol*. 2011 Jul;41(7):2029–39.
 106. Kapsogeorgou EK, Gourzi VC, Manoussakis MN, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG. Cellular microRNAs (miRNAs) and Sjögren's syndrome: candidate regulators of autoimmune response and autoantigen expression. *J Autoimmun*. 2011 Sep;37(2):129–35.
 107. Alevizos I, Alexander S, Turner RJ, Illei GG. MicroRNA expression profiles as biomarkers of minor salivary gland inflammation and dysfunction in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2011 Feb;63(2):535–44.
 108. Mavragani CP, Crow MK. Activation of the type I interferon pathway in primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmun*. 2010 Nov;35(3):225–31.
 109. Vivino FB. Sjogren's syndrome: Clinical aspects. *Clin Immunol Orlando Fla*. 2017;182:48–54.
 110. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, Baer AN, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res*. 2012 Apr;64(4):475–87.
 111. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Font J. Lessons from diseases mimicking Sjögren's syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007 Jun;32(3):275–83.
 112. Sreebny LM, Schwartz SS. A reference guide to drugs and dry mouth--2nd edition. *Gerodontology*. 1997 Jul;14(1):33–47.
 113. Niderfors T. Xerostomia: prevalence and pharmacotherapy. With special reference to beta-adrenoceptor antagonists. *Swed Dent J Suppl*. 1996;116:1–70.
 114. Warner BM, Baer AN, Lipson EJ, Allen C, Hinrichs C, Rajan A, et al. Sicca Syndrome Associated with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *The Oncologist*. 2019 Sep;24(9):1259–69.

115. Stone JH, Zen Y, Deshpande V. IgG4-related disease. *N Engl J Med*. 2012 Feb 9;366(6):539–51.
116. Kassimos DG, Shirlaw PJ, Choy EH, Hockey K, Morgan PR, Challacombe SJ, et al. Chronic sialadenitis in patients with nodal osteoarthritis. *Br J Rheumatol*. 1997 Dec;36(12):1312–7.
117. Nocturne G, Mariette X. Sjögren Syndrome-associated lymphomas: an update on pathogenesis and management. *Br J Haematol*. 2015 Feb;168(3):317–27.
118. Ferreri AJM, Zucca E. Marginal-zone lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2007 Sep;63(3):245–56.
119. Thieblemont C, Bertoni F, Copie-Bergman C, Ferreri AJM, Ponzoni M. Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type. *Semin Cancer Biol*. 2014 Feb;24:33–42.
120. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet Lond Engl*. 2001 Feb 17;357(9255):539–45.
121. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):436–44.
122. Del Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A. Molecular pathways in cancer-related inflammation. *Biochem Medica*. 2011;21(3):264–75.
123. Marcelis L, Tousseyn T, Sagaert X. MALT Lymphoma as a Model of Chronic Inflammation-Induced Gastric Tumor Development. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2019;421:77–106.
124. Sakai Y, Kobayashi M. Lymphocyte “homing” and chronic inflammation. *Pathol Int*. 2015 Jul;65(7):344–54.
125. Dong L, Chen Y, Masaki Y, Okazaki T, Umehara H. Possible Mechanisms of Lymphoma Development in Sjögren’s Syndrome. *Curr Immunol Rev*. 2013 Feb;9(1):13–22.
126. Stergiou IE, Poulaki A, Voulgarelis M. Pathogenetic Mechanisms Implicated in Sjögren’s Syndrome Lymphomagenesis: A Review of the Literature. *J Clin Med*. 2020 Nov 24;9(12).
127. Croia C, Astorri E, Murray-Brown W, Willis A, Brokstad KA, Sutcliffe N, et al. Implication of Epstein-Barr virus infection in disease-specific autoreactive B cell activation in ectopic lymphoid structures of Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2014 Sep;66(9):2545–57.
128. Bombardieri M, Barone F, Lucchesi D, Nayar S, van den Berg WB, Proctor G, et al. Inducible tertiary lymphoid structures, autoimmunity and exocrine dysfunction in a novel model of salivary gland inflammation in C57BL/6 mice. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2012 Oct 1;189(7):3767–76.
129. Bombardieri M, Lewis M, Pitzalis C. Ectopic lymphoid neogenesis in rheumatic autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2017 Mar;13(3):141–54.
130. Stott DI, Hiepe F, Hummel M, Steinhauser G, Berek C. Antigen-driven clonal proliferation of B cells within the target tissue of an autoimmune disease. The salivary glands of patients with Sjögren’s syndrome. *J Clin Invest*. 1998 Sep 1;102(5):938–46.

131. Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell*. 2000 Sep 1;102(5):553–63.
132. Bombardieri M, Barone F, Humby F, Kelly S, McGurk M, Morgan P, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjögren's syndrome. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2007 Oct 1;179(7):4929–38.
133. Cerutti A, Cols M, Puga I. Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes. *Nat Rev Immunol*. 2013 Feb;13(2):118–32.
134. Bende RJ, Aarts WM, Riedl RG, de Jong D, Pals ST, van Noesel CJM. Among B cell non-Hodgkin's lymphomas, MALT lymphomas express a unique antibody repertoire with frequent rheumatoid factor reactivity. *J Exp Med*. 2005 Apr 18;201(8):1229–41.
135. Bende RJ, Janssen J, Beentjes A, Wormhoudt TAM, Wagner K, Haacke EA, et al. Salivary Gland Mucosa-Associated Lymphoid Tissue-Type Lymphoma From Sjögren's Syndrome Patients in the Majority Express Rheumatoid Factors Affinity-Selected for IgG. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2020 Aug;72(8):1330–40.
136. Nezos A, Evangelopoulos M-E, Mavragani CP. Genetic contributors and soluble mediators in prediction of autoimmune comorbidity. *J Autoimmun*. 2019 Nov;104:102317.



A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (2)

1. Παράγοντες Λεμφωματογένεσης

1.1 Εισαγωγή

Το σύνδρομο Sjögren, αν και είναι μια ήπια νόσος στην πλειοψηφία των ασθενών, παραμένει ενδιαφέρουσα η πιθανότητα εκδήλωσης NHL. Ολοένα και νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η εξέλιξη προς κακοήθη λεμφοϋπερπλαστική εξεργασία, αφορά κυρίως άτομα νεαρής ηλικίας, με συγκεκριμένα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά, που οδηγούν σε επιθετική νόσο με πολυσυστηματικές εκδηλώσεις, ως αποτέλεσμα εκσεσημασμένης Β κυτταρικής δραστηριότητας και χρόνιας φλεγμονώδους διέγερσης (1,2). Τα ευρήματα αυτά, υποδηλώνουν πως γενετικοί παράγοντες έχουν ρόλο-κλειδί στη διαδικασία της λεμφωματογένεσης, πυροδοτώντας την παγκόσμια ερευνητική προσπάθεια για αναγνώριση γονιδιακών μεταλλάξεων που εμπλέκονται σε μηχανισμούς χρόνιας φλεγμονής και δραστηριότητας Β κυττάρων. Παρακάτω συνοψίζονται οι κύριοι επιδημιολογικοί, κλινικοί, εργαστηριακοί, ιστολογικοί και γενετικοί βιοδείκτες, οι οποίοι έχουν προταθεί ως πιθανοί παράγοντες για την ανάπτυξη λεμφώματος στο πλαίσιο του SS (*Εικόνα 1*) (3).

1.2 Επιδημιολογικοί Παράγοντες

Ολοένα και περισσότερα δεδομένα υποστηρίζουν τη συσχέτιση μεταξύ νεότερης ηλικίας εκδήλωσης του SS (<35 ετών) με συστηματικές εκδηλώσεις και την παρουσία αυτοαντισωμάτων (2,4–6), τα οποία φαίνεται ότι αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες λεμφωματογένεσης (6–8). Παρ' αυτά, άμεσα δεδομένα συσχέτισης της ηλικίας εκδήλωσης του SS και της λεμφωματογένεσης δεν έχουν ακόμη κατοχυρωθεί (9–12). Το ανδρικό φύλο, επίσης, έχει φανεί να αποτελεί ισχυρό προγνωστικό παράγοντα για την ανάπτυξη λεμφώματος (13–19), παρατήρηση η οποία επιβεβαιώθηκε σε μία πρόσφατη σειρά 1300 ασθενών, οι οποίοι πληρούσαν τα 2002 κριτήρια του Αμερικανικού και Ευρωπαϊκού Συμβουλίου (AECG) για το SS, όπου ο κίνδυνος (SIR) για NHL ήταν υψηλότερος στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες (18 vs 5). Η παρατήρηση αυτή ίσχυε επίσης και για τις λοιπές αιματολογικές καοήθειες (πολλαπλούν μυέλωμα: 43 vs 36 και λέμφωμα Hodgkin: 59 vs 16) (20).

1.3 Κλινικοί παράγοντες

Η διόγκωση των σιελογόνων αδένων και ειδικά των παρωτίδων (7,13,19,21–26), αποτελεί σταθερή βιβλιογραφική αναφορά ως παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη λεμφώματος, με την πρώτη καταγραφή να γίνεται το 1978 από την ομάδα του Kassan (27). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει όμως, πως σε μία πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη

φάνηκε ότι η μεμονωμένη διόγκωση των παρωτίδων χωρίς την παρουσία συγκεκριμένων ορολογικών βιοδεικτών (κρυσφαιριναιμία, λευκοπενία, θετικά anti-La/SSB αντισώματα), δεν σχετίζεται με κίνδυνο για NHL (28). Η διάχυτη διόγκωση των λεμφαδένων, συνδυαστικά με σπληνομεγαλία είναι επίσης γνωστές συστηματικές εκδηλώσεις που συνδέονται με την ανάπτυξη μη οριακής ζώνης [non-marginal zone (non-MZ)] λεμφωμάτων, ενώ αντίθετα η περιοχική λεμφαδενοπάθεια συνδέεται με λεμφώματα τύπου MALT(29).

Η ψηλαφητή πορφύρα, η πιο κοινή μορφή αγγείτιδας στο SS (30), η οποία εκδηλώνεται συνήθως με την εμφάνιση πορφυρικού εξανθήματος που δε σβήνει με την πίεση, αποτελεί έναν από τους πιο βασικούς παράγοντες αυξημένης νοσηρότητας (7,8,22,31) και θνητότητας λόγω ανάπτυξης λεμφώματος στο πλαίσιο του SS (32). Τόσο η αισθητικοκινητική όσο και η αισθητική αξονική νευροπάθεια φαίνεται να σχετίζονται με δείκτες αυξημένης πολυκλωνικής B κυτταρικής δραστηριότητας, όπως η παρουσία αυτοαντισωμάτων και υπεργαμμασφαιριναιμίας (33,34). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει πως η πλειοψηφία των αισθητικοκινητικών νευροπαθειών ειδικά, σχετίζονται με δείκτες μονοκλωνικής δράσης B κυττάρων, όπως μεικτή κρυσφαιριναιμία, μονοκλωνική γαμμαπάθεια και παθολογικός λόγος κ/λ ελαφρών αλύσων, συνδυαστικά με εξωαδενικές εκδηλώσεις (25,33,34). Επίσης, το φαινόμενο Raynaud καθώς και η ατροφία της γλώσσας με ρωγμώδη εμφάνιση, πρόσφατα αναγνωρίστηκαν ως ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου λεμφωματογένεσης (7,35–37).

Τέλος, η δραστηριότητα της νόσου, όπως αυτή εκτιμάται από την ανάπτυξη ενός εργαλείου ενεργότητας του SS από την ομάδα της EULAR (EULAR SS disease activity index – ESSDAI / ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ) (38), έχει αναγνωριστεί σαν καθοριστικός παράγοντας θνητότητας για τον SS πληθυσμό (39,40). Παρολ'αυτά, για την διευκόλυνση της καθημερινής κλινικής πρακτικής, αναπτύχθηκε ένας αλγόριθμος βασισμένος σε 7 ανεξάρτητες κλινικές και εργαστηριακές μεταβλητές που αναγνωρίζονται στη φάση διάγνωσης του νοσήματος και περιλαμβάνει την διόγκωση των σιελογόνων αδένων, τη λεμφαδενοπάθεια, το φαινόμενο Raynaud, την παρουσία των anti-Ro/SSA και anti-La/SSB αντισωμάτων, τον θετικό RF, τη μονοκλωνική γαμμαπάθεια και τα χαμηλά επίπεδα C4. Έτσι οι ασθενείς που εμφανίζουν λιγότερους από 2 από τους παραπάνω προγνωστικούς παράγοντες έχουν πιθανότητα 3.8% για την ανάπτυξη NHL, εκείνοι με 3-6 παράγοντες 39.9%, ενώ εκείνοι που πληρούν και τους 7, ο κίνδυνος φτάνει στο 100% (7).

1.4 Ιστοπαθολογικοί δείκτες

Το βασικό ιστοπαθολογικό εύρημα στους ασθενείς με SS είναι η περιπορική συσσώρευση λεμφοκυττάρων στα όργανα στόχους, όπως σιελογόνοι και δακρυϊκοί αδένες. Το Focus Score (FS) (τουλάχιστον 50 λεμφοκύτταρα ανά 4mm²) αποτελεί το κύριο ιστοπαθολογικό κριτήριο που χρησιμοποιείται για τη διάγνωση του SS (41). Πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν πως η έκταση των λεμφοκυτταρικών διηθήσεων στους σιελογόνους αδένες (SGs) αποτελεί ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για λεμφωματογένεση (42–44), όπου με την αύξηση του FS \geq 3, ο κίνδυνος γίνεται περίπου 15 φορές μεγαλύτερος (43).

Άλλο σημαντικό ιστοπαθολογικό εύρημα στο λέμφωμα MALT είναι η παρουσία λεμφοεπιθηλιακών αλλοιώσεων που περιβάλλονται από υπερπλαστικά B κύτταρα, τα οποία φέρουν στην επιφάνειά τους τον ανοσοϋποδοχέα – Fc receptor-like protein 4 (FcRL4 ή IRTA1) (45). Αυξημένος αριθμός ενδοεπιθηλιακών FcRL4+ B κύτταρων - ειδικά στην παρωτίδα - παράλληλα με αυξημένη ανοσοϊστοχημική και mRNA έκφραση του υποδοχέα FcRL4 έχει βρεθεί στους σιελογόνους αδένες SS και SS-MALT ασθενών αντίστοιχα, συγκριτικά με την sicca - ομάδα ελέγχου (46). Δεδομένου ότι η έκφραση του FcRL4 έχει προηγουμένως συσχετισθεί με ανάπτυξη MZL (47) και με RA (48), η παρουσία των FcRL4+ B κύτταρων στους SS - SGs θα μπορούσε να αποτελεί προγνωστικό δείκτη ανάπτυξης MALT, ειδικά στις παρωτίδες.

Στα όργανα στόχους, η λεμφοκυτταρική διήθηση - σχηματισμός δευτερογενών δομών που μοιάζουν με ECGs - έχει συνδεθεί με αυξημένη δραστηριότητα νόσου, παραγωγή αυτοαντισωμάτων και αυξημένη πιθανότητα λεμφωματογένεσης (49–51), με την τελευταία παρατήρηση να είναι αμφιλεγόμενη σε πρόσφατες βιβλιογραφικές αναφορές (52,53). Ιδιαίτερα, οι χημειοκίνες chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (CXCL12), CXCL13 και C-C motif ligand 21 (CCL21) και το ένζυμο AID έχουν βρεθεί να υπερεκφράζονται στους SGs, όπου παρατηρείται σχηματισμός ECGs (54,55) ή ανάπτυξη λεμφώματος (56). Περαιτέρω υποστήριξη στο ρόλο της χρόνιας φλεγμονώδους απόκρισης ως επαγωγικό φαινόμενο της λεμφωματογένεσης, προκύπτει από πρόσφατες μελέτες σε παρασκευάσματα SGs, όπου παρατηρείται υπερέκφραση μορίων φλεγμονής (57–59), καθώς και μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης A20 (αρνητικός ρυθμιστής της φλεγμονώδους απάντησης) στους SS ασθενείς που επιπλέκονται με λέμφωμα, συγκριτικά με εκείνους που πάσχουν μόνο από SS (60). Επιπλέον, ο αριθμός των μακροφάγων που εκφράζουν την IL-18 και τα

μεταγραφικά παράγωγα του ινφλαμασώματος [purinoreceptor 7 (P2X7R), Nod-like receptor family protein 3 (NLRP3), IL-1 β και IL-18] βρέθηκαν να είναι αυξημένα στους SS-NHL ασθενείς, σε συνδυασμό με ευρήματα, τα όποια είναι ήδη γνωστό, ότι συνδέονται με λεμφωματογένεση, όπως η διόγκωση των σιελογόνων αδένων και τα χαμηλά επίπεδα C4 (58,59,61).

Υψηλά επίπεδα IFN- γ στον ιστό των σιελογόνων αδένων (57) και του ενζύμου IFN- γ inducible apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G (APOBEC3G) (56), αλλά χαμηλά επίπεδα μεταγραφικών παραγώγων της IFN- α έχουν, επίσης, βρεθεί σε αυτούς τους ασθενείς, υποδηλώνοντας ότι η ανισορροπία μεταξύ χρόνιας φλεγμονώδους απάντησης επαγόμενης από την IFN- γ και της ανοσοεπιτήρησης που επάγεται από τη δράση της IFN- α , θα μπορούσε να συμβάλλει στην κακοήγη μετάλλαξη σε επίπεδο SGs. Η υπερέκφραση προαποπτωτικών μορίων, p53 και TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), από την IFN- α θα μπορούσε να είναι το υπεύθυνο γεγονός για την ανοσοεπιτήρηση που επιτελείται στους SGs (57). Σε αυτή τη βάση, ο λόγος IFN- γ /IFN- α mRNA στον ιστό από ελάχιστονες σιελογόνους αδένες (MSG) ασθενών με SS θα μπορούσε να λειτουργήσει ως προγνωστικός ιστοπαθολογικός δείκτης λεμφωματογένεσης, με υψηλή διακριτική αξία μεταξύ SS ασθενών με λέμφωμα (SS-lymphoma) και SS ασθενών χωρίς την εκδήλωση λεμφώματος (SS-non lymphoma) (AUC = 0.88, 95%CI: 0.7–1.0, p value: 0.001) (57).

Ένα άλλο αξιοσημείωτο μόριο με ρόλο στη χρόνια φλεγμονή, αυτοανοσία και κακοήθεια είναι η thymic stromal lymphopoietin (TSLP), μια πλειοτρόπος κυτταροκίνη, η οποία εκφράζεται κυρίως από ενεργοποιημένα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα, του εντέρου, αλλά και κυττάρων του ανοσοποιητικού (62). Σε ιστό από MSG - SS ασθενών με λέμφωμα βρέθηκε μειωμένη ανοσοϊστοχημική έκφραση της TSLP, αλλά αντίθετα αυξημένος αριθμός TSLP+ B κυττάρων συγκριτικά με τους SS-non lymphoma ασθενείς και τους υγιείς μάρτυρες (healthy controls - HC), υποδηλώνοντας τον πιθανό ρόλο της TSLP στην SS-λεμφοϋπερπλαστική εξεργασία (63).

Επιγενετικές και μεταγραφικές αλλαγές έχουν επανειλημμένως αναγνωρισθεί ως πιθανοί παράγοντες λεμφωματογένεσης (64). Σε MSG ιστό από SS-lymphoma ασθενείς έχει ανιχνευθεί μειωμένη mRNA έκφραση ενζύμων που συμμετέχουν στη διαδικασία μεθυλίωσης του γενετικού υλικού, όπως η DNA methyltransferase 3B (DNMT3B), η methyl CpG-binding protein 2 (MECP2) και η DNA methyltransferase

1 (DNMT1), σε σύγκριση με τους SS-non lymphoma ασθενείς (64). Τέλος, το miR-200b-5p, ένα microRNA το οποίο έχει προηγουμένως συσχετισθεί με ογκογένεση συμπαγών οργάνων, βρέθηκε να είναι υποεκφρασμένο σε υψηλού κινδύνου ή SS-lymphoma ασθενείς (65,66).

1.5 Βιοδείκτες του περιφερικού αίματος

Μεταξύ των αιματολογικών διαταραχών, η CD4⁺ λεμφοπενία και ο χαμηλός λόγος CD4⁺/ CD8⁺ έχει παρατηρηθεί στους ασθενείς με DLBCL λέμφωμα (31), ενώ ουδετεροπενία και λεμφοπενία έχει συσχετισθεί με Marginal Zone B Cell Lymphoma (MZBCL) λέμφωμα και με non-MZBCL λέμφωμα αντίστοιχα, κατά τη στιγμή της διάγνωσης (67). Μελέτες γονιδιακής έκφρασης σε μονοκύτταρα περιφερικού αίματος αποκάλυψαν υψηλότερα επίπεδα mRNA του παράγοντα BAFF (57), IL-14 (68), του NLRP3 και της πρωτεΐνης apoptosis-associated speck-like (ASC) (59).

1.6 Ορολογικοί δείκτες

Δεδομένου ότι η υπερδραστηριότητα των B κυττάρων έχει φανεί να αποτελεί θεμελιώδες χαρακτηριστικό για την SS-λεμφοματογένεση, αυτοαντισώματα συμπεριλαμβανομένων των anti-Ro/SSA ή/και anti-La/SSB (2,7,24,69), του RF (7,22,28) και των αντικεντρομεριδιακών (70), όλα έχουν συσχετισθεί με την ανάπτυξη λεμφώματος στο πλαίσιο του SS. Η C4 υποσυμπληρωματιναιμία, πιθανό αποτέλεσμα της εξεσημασμένης δημιουργίας ICs και ενεργοποίησης της κλασικής οδού του συμπληρώματος, φαίνεται να επηρεάζει τόσο τον κίνδυνο λεμφοματογένεσης όσο και την θνητότητα στο πλαίσιο του SS (8,24,31,32,40,71). Κυτταροκίνες που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και επιβίωση των B κυττάρων, συμπεριλαμβανομένου του παράγοντα BAFF, της τυροσινικής κινάσης Fms-like tyrosine kinase 3 ligand (Ftl-3 L) και της TSLP, έχει φανεί να αυξάνονται στον ορό των SS-lymphoma ασθενών συγκρινόμενοι είτε με τους SS-non lymphoma ασθενείς ή/και με τους HC (57,72–76), είτε με ασθενείς με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (74). Επιπλέον, τα επίπεδα στον ορό των χημειοκινών, που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως συμβάλλουν στον σχηματισμό των ECGs, όπως η CXCL13 και σε μικρότερο βαθμό η CXCL11, βρέθηκαν επίσης να είναι αυξημένα στους SS-lymphoma ασθενείς συγκριτικά με εκείνους χωρίς λέμφωμα (77). Ενδεικτικά ευρήματα μονοκλωνικού B κυτταρικού πληθυσμού, όπως η μονοκλωνική γαμμαπάθεια στον ορό (7,78,79), η μεικτή κρυσφαιριναιμία (80), τα αυξημένα

επίπεδα β₂ μικροσφαιρίνης (81), παράλληλα ο αυξημένος λόγος ελεύθερων κ/λ ελαφρών αλύσων (78), έχουν βρεθεί να αποτελούν ισχυρούς προγνωστικούς δείκτες της SS-λεμφωματογένεσης.

Δεδομένου ότι η ανεξέλεγκτη φλεγμονώδης αντίδραση έχει συσχετισθεί με την εκδήλωση λεμφώματος στο SS, η αναγνώριση διαλυτών φλεγμονωδών βιοδεικτών αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Έτσι, η δραστηριότητα στον ορό της λιποπρωτεϊνικής φωσφολιπάσης lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) (82), παραγόμενης κυρίως από μακροφάγα – έχει προηγουμένως φανεί να επικρατεί στις σοβαρές SS ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις (58) – βρέθηκε να είναι αυξημένη στους SS ασθενείς που επιπλέκονται από την εμφάνιση λεμφώματος σε σχέση με τους SS-non lymphoma ασθενείς και τους HC. Ομοίως, οι παράγοντες του ινφλαμασώματος, όπως η πρωτεΐνη ASC και η IL-18, βρέθηκαν να είναι σε αυξημένα επίπεδα στον ορό των SS ασθενών με υψηλό κίνδυνο για την ανάπτυξη λεμφώματος, συγκριτικά με εκείνους που διατρέχουν χαμηλό κίνδυνο και τους HC (59).

1.7 Βιοδείκτες σιέλου

Οι σιελογόνοι αδένες αποτελούν τις κύριες θέσεις λεμφωματογένεσης στο πλαίσιο του SS και οι αλλαγές στη σύσταση των πρωτεϊνών της σιέλου θα μπορούσαν να είναι ενδεικτικές της παθογένειας του νοσήματος. Τα προηγούμενα χρόνια έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες με σκοπό την ταυτοποίηση των πρωτεϊνών εκείνων που θα μπορούσαν δυνητικά να έχουν προγνωστικό ρόλο στη λεμφωματογένεση (83,84). Αξιοσημείωτο είναι, πως ένα καινοτόμο πάνελ αυτοαντισωμάτων που ανευρίσκονται στη σιέλο, φάνηκε να είναι ικανό να διαχωρίσει τον SS-MALT υποπληθυσμό από τους SS ασθενείς και τους HC (85). Αυτά τα αυτοαντισώματα στρέφονται έναντι cofilin-1 (πρωτεΐνη με λειτουργικότητα σύνδεσης / action-binding, που αποσυναρμολογεί τα νημάτια ακτίνης), έναντι άλφα-ενολάσης (γλυκολυτικό ένζυμο που εμπλέκεται στην καρκινογένεση), ανεξίνης-A2 (μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με την κυτταρική ανάπτυξη και σηματοδοτικά μονοπάτια) και έναντι Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (RGI2) (ένας αρνητικός ρυθμιστής του πολλαπλασιαστικού ενζύμου Rho GDPase στα αιμοποιητικά κύτταρα). Επιπλέον, η πρωτεομική ανάλυση της μη διεγερθείσας ολικής παραγωγής σιέλου αποκάλυψε ότι τα μόρια της οικογένειας των αλαρμινών - S100A8 (calgranulin A) και S100A9 (calgranulin B) - παρουσίαζαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα στον SS-MALT υποπληθυσμό,

συγκριτικά με τους SS ασθενείς και τους HC, ενισχύοντας έτσι την πιθανή διακριτική τους ικανότητα στην κακοήθη εξαλλαγή (86).

1.8 Γενετικοί δείκτες

Η αναγνώριση SS-επιθετικών φαινοτύπων, οι οποίοι έχουν μεγαλύτερη τάση για λεμφωματογένεση σε πρώιμα στάδια της νόσου, υποδεικνύει ότι εγγενείς παράγοντες, όπως ένα διακριτό γενετικό υπόβαθρο, αποτελούν παράγοντες κλειδιά στην SS-λεμφωματογένεση. Δεδομένου ότι μοριακά μονοπάτια που οδηγούν σε χρόνια φλεγμονή, B κυτταρική δραστηριότητα, ελαττωματική ανοσοεπιτήρηση ή μεθυλίωση του DNA εμπλέκονται γενικά σε μηχανισμούς λεμφωματογένεσης (87), μεταλλάξεις γονιδίων που εμπλέκονται σε αυτές τις παθογενετικές οδούς έχουν τραβήξει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια.

Μεταξύ των πρώτων γονιδίων που μελετήθηκαν ήταν το *tumor necrosis factor-alpha-induced protein 3 (TNFAIP3)*, με πιθανή συμμετοχή τόσο σε αυτοάνοσες (81,88,89) όσο και σε νεπλασματικές παθήσεις (90). Έχει φανεί πως διάφοροι πολυμορφισμοί του συγκεκριμένου γονιδίου καταλήγουν σε διαταραχή της λειτουργίας της A20 πρωτεΐνης (91) - υπό φυσιολογικές συνθήκες αναστέλλει τη δράση του NF-kB μονοπατιού (92) - οδηγώντας σε καταστάσεις ανεξέλεγκτης φλεγμονώδους αντίδρασης. Στο SS, το υπολειπόμενο αλληλίο rs2230926G του *TNFAIP3* παρουσιάζει μια συχνότητα που κυμαίνεται από 12.05% στη Γαλλία, 7.14% στο Ηνωμένο Βασίλειο, έως 8.8% στην ελληνικό πληθυσμό αυξάνοντας την πιθανότητα για ανάπτυξη λεμφώματος στο πλαίσιο του SS κατά 2.23, 3.12 και 2.6 φορές, αντίστοιχα (93,94). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως η επίπτωση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού, στους ελληνικής καταγωγής SS-lymphoma ασθενείς με έναρξη νόσου ≤ 40 ετών, έφτανε στο 18.2% (95), υποστηρίζοντας πόσο σημαντική είναι η επίδραση των γενετικών επιρροών στην πρώιμη εκδήλωση των νοσημάτων.

Πρόσφατα, ο πολυμορφισμός rs3099844 του γονιδίου *HCP5* έχει βρεθεί να αυξάνει την πιθανότητα λεμφωματογένεσης μεταξύ SS Ιταλών ασθενών κατά 7.2 φορές (96). Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί ένα ενδογενές ρετρομεταθετό στοιχείο, το οποίο κατά κύριο λόγο εκφράζεται στον θύμο αδένα, στο σπλήνα και στη λεμφική κυτταρική σειρά, λειτουργώντας σαν ρυθμιστής της ανοσολογικής απάντησης (97). Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου *HCP5* έχουν προηγουμένως συσχετισθεί τόσο με την ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα, όσο και με τον ΣΕΛ συνδυαστικά με την

παρουσία των anti-Ro/SSA αντισωμάτων (98,99). Στους SS ασθενείς, ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός rs3099844 του *HCP5* βρέθηκε σε σημαντικά μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με τους HC, ειδικά στον υποπληθυσμό των ασθενών, που χαρακτηρίζονταν από την παρουσία αυτοαντισωμάτων, υπεργαμμασφαιριναιμίας, λευκοπενίας και αυξημένο focus score (96).

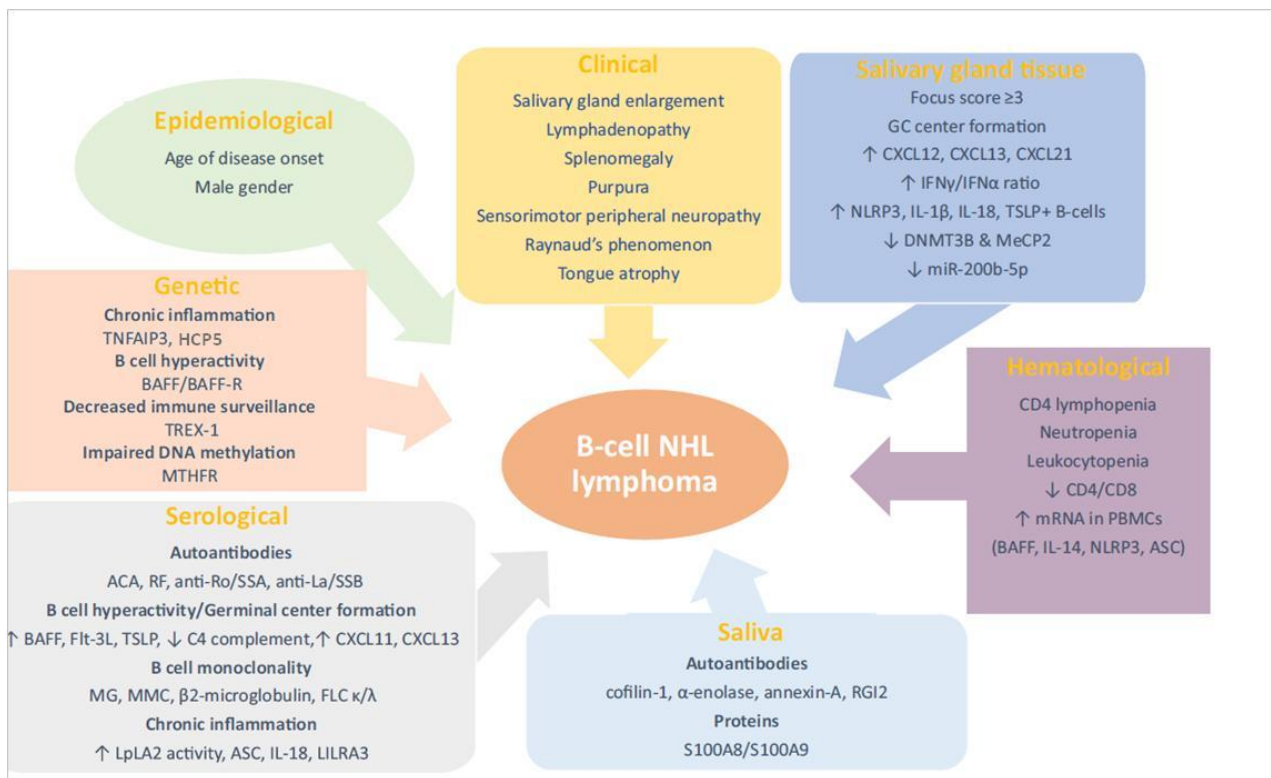
Λαμβάνοντας υπόψιν, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, τον θεμελιώδη ρόλο της B κυτταρικής δραστηριότητας στη SS-λεμφωματογένεση, γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων του παράγοντα BAFF, αλλά και του υποδοχέα του (BAFF-R) στην επιφάνεια των B κυττάρων, έχουν φανεί να αυξάνουν τον κίνδυνο λεμφώματος μεταξύ των SS ασθενών. Προηγηθείσες μελέτες έχουν συνδέσει τους πολυμορφισμούς του γονιδίου *BAFF* - rs9514828 / rs12583006 - με επίταση του κινδύνου για εμφάνιση νεοπλασίας (100–102) και με μεγαλύτερη επιρρέπεια σε αυτοανοσία, ειδικά σε σχέση με τον πολυμορφισμό rs9514828 (103,104). Στο πλαίσιο του SS, η συχνότητα του υπολειπόμενου T αλληλίου του rs9514828 πολυμορφισμού βρέθηκε να είναι αυξημένη στους ασθενείς υψηλού κινδύνου. Αντίθετα το υπολειπόμενο A αλληλίο του rs12583006 πολυμορφισμού ήταν συχνό μεταξύ των ασθενών με χαμηλό κίνδυνο κακοήθους εξαλλαγής (105). Έτσι σε επίπεδο απλότυπων, οι υψηλού κινδύνου SS ασθενείς παρουσίαζαν μικρότερη συχνότητα των TACAC και TACC απλότυπων και πιο συχνά τον TTTC απλότυπο συγκριτικά με τους SS ασθενείς χαμηλού κινδύνου, αλλά όχι με τους HC.

Σε μεταγενέστερη δημοσίευση, βρέθηκε αυξημένη συχνότητα της His159Tyr μετάλλαξης του BAFF-R στους ασθενείς που εκδήλωσαν MALT λέμφωμα, συγκριτικά με τους SS-non lymphoma ασθενείς και τους HC (106), με την συχνότητα της συγκεκριμένης μετάλλαξης να αγγίζει το 70% στον υποπληθυσμό των SS-MALT ασθενών με ηλικία έναρξης της νόσου μεταξύ 31-40 ετών. Φάνηκε, επίσης η μετάλλαξη αυτή να συσχετίζεται και με αυξημένη κινητοποίηση της εναλλακτικής οδού του NF-kB μονοπατιού στα B κύτταρα SS ασθενών με λέμφωμα, υποδηλώνοντας πως αυτή η αυξημένη κινητοποίηση του B κυτταρικού πληθυσμού, πιθανώς, να συμβάλλει σημαντικά στη διαδικασία της SS-λεμφωματογένεσης (106).

Πρόσφατη δημοσίευση αποκάλυψε την χαμηλή επίπτωση της σημειακής μετάλλαξης rs11797 του A υπολειπόμενου αλληλίου του γονιδίου *TREX1*, που παρατηρήθηκε μεταξύ SS ασθενών που είχαν εμφανίσει λέμφωμα, αλλά όχι τύπου MALT, συγκριτικά με τους HC (107). Η πρωτεΐνη TREX1 είναι μια εξωνουκλεάση,

η οποία συμμετέχει τόσο στην κάθαρση ενδογενών νουκλεϊνικών οξέων (108,109), όσο και στην διαφύλαξη της σταθερότητας του γενετικού υλικού (110,111). Ο πιθανός προστατευτικός ρόλος του πολυμορφισμού rs11797 στο A υπολειπόμενο αλληλίο θα μπορούσε να αποδοθεί στη μειωμένη παραγωγή IFN-I και τους ελαττωματικούς μηχανισμούς ανοσοεπιτήρησης, όπως έχει ήδη προταθεί (56). Οι SS ασθενείς που φέρουν την προαναφερθείσα σημειακή μετάλλαξη, φάνηκε να έχουν υψηλά επίπεδα mRNA έκφρασης των γονιδίων που επάγονται από τη δράση της IFN-I στον ιστό των σιελογόνων αδένων. Σημειωτέον, πολυμορφισμοί του *TREX1* γονιδίου έχουν επίσης συσχετισθεί με τον σύνδρομο Aicardi-Goutieres (112,113), με ΣΕΛ (114,115), Συστηματικό Σκληρόδερμα(116) και νοσήματα που χαρακτηρίζονται από αυξημένη δραστηριότητα του μονοπατιού της IFN-I, ενώ πρόσφατες μελέτες συνδέουν τη λειτουργία της πρωτεΐνης TREX1 με ρύθμιση της αντικαρκινικής ανοσιακής απάντησης (117).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, επιγενετικοί μηχανισμοί, στους οποίους περιλαμβάνονται κυρίως μονοπάτια που αφορούν τη μεθυλίωση του γενετικού υλικού, έχουν προταθεί ως οι πλέον βασικοί παράγοντες που συμβάλλουν στη εκδήλωση λεμφώματος. Πρόσφατα, στο πλαίσιο του SS, αυξημένη συχνότητα της μετάλλαξης του MTHFR c. 677C>T (rs1801133), σχετιζόμενης με διαταραχή της μεθυλίωσης του DNA, και μειωμένη συχνότητα της μετάλλαξης MTHFR c. 1298A>C (rs1801131), που οδηγεί σε αύξηση των θραυσμάτων της διπλής έλικας του DNA, παρατηρήθηκαν στους SS ασθενείς με εμφάνιση non-MALT λεμφώματος συγκριτικά με τους SS-non lymphoma ασθενείς και τους HC (118), υποδεικνύοντας ότι η μη αποτελεσματική καταστολή των ογκογονιδίων (119) και η αυξημένη αστάθεια του γενετικού υλικού αποτελούν πιθανούς ογκογενετικούς μηχανισμούς στην κατηγορία αυτών των ασθενών.



Εικόνα 1. Συνολική επισκόπηση των κλινικών και μοριακών παραγόντων που συμβάλλουν στην λεμφωματογένεση στο πλαίσιο του συνδρόμου Sjögren. ↑: increased; ↓: reduced; rheumatoid factor: RF; tumor necrosis factor- α induced protein 3: TNFAIP3; B cell activating factor: BAFF; B cell activating factor receptor: BAFF-R; Interferon α/γ : IFN α/γ ; three prime repair exonuclease 1: TREG-1; leukocyte immunoglobulin like receptor subfamily A member 3: LILRA3; Major histocompatibility complex P5 gene: HCP5; methylene tetrahydrofolatereductase: MTHFR; DNA methyltransferase 3B: DNMT3B; methyl CpG binding protein 2: MeCP2; peripheral blood mononuclear cells: PBMCs; Rho GDP-dissociation inhibitor 2: RGI2; Extracellular lipoprotein-associated phospholipase A2: Lp-PLA2; free light chains κ/λ : FLC κ/λ ; Fms-like tyrosine kinase 3 ligand: Flt-3 L; chemokine (C-X-C motif) ligand 11/12/13/21: CXCL11/12/13/21 NOD-likereceptors containing pyrin domain 3: NLRP3; apoptosis-associated speck-like protein containing C-terminal caspase recruitment domain [CARD]: ASC; Thymic stromal lymphopoietin: TSLP; monoclonal gammopathy: MG; mixed monoclonal cryoglobulinemia: MMC; anti-centromere antibodies: ACA

2. Θεραπευτική Αντιμετώπιση Λεμφώματος

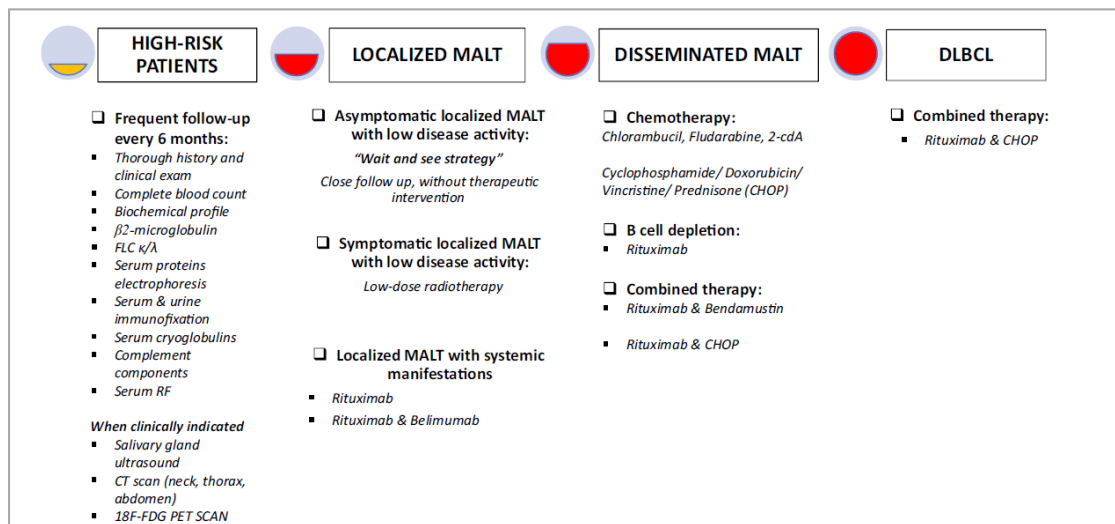
Παρά την αναγνώριση διάφορων μοριακών μηχανισμών λεμφωματογένεσης και διακριτών κλινικών φαινοτύπων στο σύνδρομο Sjögren, οι θεραπευτικές επιλογές και οι προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης στη θεραπεία παραμένουν περιορισμένες. Σε μια διεθνή πολυκεντρική μελέτη 242 ασθενών με λέμφωμα MALT στους σιελογόνους αδένες, η αρχική θεραπεία περιελάμβανε είτε τοπική χειρουργική αντιμετώπιση, είτε ακτινοθεραπεία ή και τα δύο σε ποσοστό 60%, ενώ οι υπόλοιποι αντιμετωπίστηκαν με συστηματική αγωγή, στους οποίους συγκαταλέγονταν ασθενείς τόσο με εντοπισμένη (54%), όσο και με μεταστατική νόσο - σταδίου IV- (46%). Ενώ οι θεραπευτικές επιλογές που εφαρμόστηκαν ήταν ποικίλλες, η χορήγηση αλκυλιωτικού παράγοντα ως μονοθεραπεία ή συνδυαστικά με rituximab αποτελούσε την πιο συχνή επιλογή.

Σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες της EULAR και της ειδικής ομάδας εργασίας (task force) του συνδρόμου Sjögren, μετά τη διάγνωση λεμφώματος, προτείνεται μια πιο εξατομικευμένη θεραπευτική προσέγγιση, λαμβάνοντας υπόψιν τον ιστολογικό τύπο και το στάδιο του λεμφώματος, καθώς και τη δραστηριότητα του SS (120). Δεδομένου ότι η παρουσία του νοσήματος έχει βρεθεί να είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας μεγαλύτερης επιβίωσης, συνδυαστικά με την παρατήρηση ότι ασθενείς σταδίου I ή II δεν ωφελούνται από τοπική ή συστηματική θεραπεία (121), η προσέγγιση ‘‘βλέποντας και κάνοντας’’ είναι προτιμότερη για SS ασθενείς με εντοπισμένο MALT στους σιελογόνους αδένες και με χαμηλή ενεργότητα νόσου (29,122). Παρ’αυτά για εκείνους που παρουσιάζουν συμπτωματική, δυσίατη διόγκωση παρωτίδων, στοχευμένη ακτινοθεραπεία χαμηλής δόσης θα ήταν ικανοποιητική θεραπευτική προσέγγιση (122).

Για τους SS ασθενείς με εντοπισμένο λέμφωμα MALT και εξωαδενικές εκδηλώσεις, η χορήγηση rituximab (anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα) θα μπορούσε να αποτελεί μια επιλογή. Λαμβάνοντας όμως υπόψιν το ρόλο κλειδί του παράγοντα BAFF στην B κλωνική επέκταση και στην ανάπτυξη λεμφώματος (72), προτάθηκε πως συνδυαστική θεραπεία έναντι BAFF και CD20, με την χορήγηση belimumab/rituximab αντίστοιχα, θα ήταν μια ακόμη εξέχουσα θεραπευτική επιλογή για την αντιμετώπιση της νόσου στην προαναφερθείσα ομάδα ασθενών (123). Για τους ασθενείς με μεταστατική εικόνα MALT (χαρακτηριζόμενο από προσβολή πολλαπλών και όχι μόνο περιοχικών λεμφαδένων, σπληνομεγαλία, με ή χωρίς

διήθηση μυελού των οστών και πολλαπλές εξωαδενικές εντοπίσεις), η εξατομικευμένη θεραπεία (βασισμένη στα κλινικά χαρακτηριστικά και τη σταδιοποίηση του εκάστοτε ασθενούς) θα ήταν μια πιθανή προσέγγιση, εφαρμόζοντας στοχευμένη αγωγή έναντι του Β κυτταρικού πληθυσμού σε συνδυασμό με ή χωρίς χημειοθεραπεία (29,123). Αυτή περιλαμβάνει αλκυλιωτικούς παράγοντες, όπως κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη μαζί με πρεδνιζολόνη (R-CHOP) (29), χλωραμβουκίλη (124), το πουρινικό ανάλογο κλαδριβίνη (2-cdA) (125), ή τον αντιμεταβολίτη φλουνταραμπίνη (126,127). Πρόσφατα, λόγω των ευεργετικών αποτελεσμάτων από τη συνδυαστική χορήγηση rituximab με τον αλκυλιωτικό παράγοντα μπενδαμουςτίνη (R-Benda) σε ανιάτες περιπτώσεις ασθενών με λέμφωμα καλυπτήριας ζώνης (mantle cell lymphoma) (128) και MALT (129), η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του σχήματος R-Benda μελετήθηκε σε μια αναδρομική μελέτη 13 SS-MALT ασθενών κυρίως με μεταστατική νόσο, οι οποίοι οδηγήθηκαν σε πλήρη ύφεση του λεμφώματος και βελτίωση του δείκτη ESSDAI (130). Τέλος για τους SS ασθενείς με DLBC λέμφωμα, ο συνδυασμός rituximab και πολυχημειοθεραπευτικών σχημάτων, όπως CHOP, είναι προτιμότερος σε σχέση με τη μονοθεραπεία με rituximab, γεγονός το οποίο φαίνεται από τα καλύτερα ποσοστά επιβίωσης που επιτυγχάνονται (29,131) *(Εικόνα 2)*.

Η διαθεσιμότητα προγνωστικών δεικτών ανταπόκρισης στη φαρμακευτική αγωγή είναι επίσης περιορισμένη, υπογραμμίζοντας περισσότερο την ανάγκη για την ταυτοποίηση τέτοιου είδους δεικτών. Υψηλότερα επίπεδα στον ορό και υπερέκφραση στους σιελογόνους αδένες του παράγοντα BAFF κατά τη διάγνωση του λεμφώματος, έχει συσχετισθεί με μικρότερη διάρκεια εξάλειψης Β κυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος (132), φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία (133) και επίμονη παρουσία εστιακής λεμφοκυτταρικής σιελαδενίτιδας (134) στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με rituximab. Επιπλέον, SS-lymphoma ασθενείς με υψηλότερο δείκτη ESSDAI, φάνηκε να μην απαντούν καλά στη φαρμακευτική αγωγή σε σχέση με εκείνους με χαμηλή δραστηριότητα νόσου (39,122). Αυξημένα επίπεδα NK κυττάρων στο αίμα και τους σιελογόνους αδένες, καθώς και αυξημένη δραστηριότητα τύπου IFN-I στη φάση της διάγνωσης συσχετίστηκαν με ανταπόκριση στο belimumab, με τον πρώτο παράγοντα να οδηγεί σε φτωχό θεραπευτικό αποτέλεσμα (135) και το δεύτερο σε μειωμένα επίπεδα RF, IgG και IgM ανοσοσφαιρινών (136,137).



Εικόνα 2. Συνοπτική εικόνα των διαγνωστικών και θεραπευτικών επιλογών για τους υψηλού κινδύνου SS-ασθενείς και εκείνους που επιπλέκονται με την εμφάνιση λεμφώματος. Free light chains κ/λ: FLCκ/λ; Diffuse large B cell lymphoma: DLBCL; Cyclophosphamide/ Doxorubicin/ Vincristine/ Prednisone: CHOP; cladribine: 2-cdA



3. Πρακτικές συμβουλές για τους SS-ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο (high risk) για την ανάπτυξη λεμφώματος

Η αναγνώριση διάφορων κλινικών και μοριακών παραγόντων κινδύνου για την λεμφωματογένεση στο πλαίσιο του SS επέτρεψε την σταδιοποίηση των ασθενών σε ομάδες χαμηλού και υψηλού κινδύνου. Παρολ'αυτά, ο ακριβής προσδιορισμός της εκδήλωσης του λεμφώματος παραμένει αδιευκρίνιστος. Σύμφωνα με την γνώμη των ειδικών, οι SS ασθενείς που κατηγοριοποιούνται ως ομάδα υψηλού κινδύνου για κακοήγη εξαλλαγή, προτείνεται να παρακολουθούνται κάθε 6 μήνες με έλεγχο που περιλαμβάνει γενική αίματος, βιοχημικές εξετάσεις, επίπεδα β₂ μικροσφαιρίνης (81), λόγο ελεύθερων αλύσων κ/λ (FLC κ/λ) στον ορό (78), ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων, ανοσοκαθίλωση ορού και ούρων, κρυσφαιρίνες, επίπεδα συμπληρώματος και RF (138).

Δεδομένου ότι η δραστηριότητα της νόσου φαίνεται να συσχετίζεται ισχυρά με την πιθανότητα λεμφωματογένεσης (22) και τη συνολική επιβίωση των ασθενών (39), είναι επιβεβλημένος ο εξονυχιστικός έλεγχος για συστηματική συμμετοχή των ζωτικών οργάνων. Υπερηχογραφικός έλεγχος (Doppler) των σιελογόνων αδένων (139) και δυναμικά παρακολούθηση των ασθενών με νέα βιοψία (140), θα μπορούσε να εφαρμοστεί, λαμβάνοντας υπόψιν τον πολύτιμο ρόλο στην πρόγνωση (139) και ανίχνευση λεμφώματος *in situ* (140), αντίστοιχα. Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (18F-FDG positron emission tomography / PET) φαίνεται, επίσης, να έχει έναν πιθανό ρόλο στην ανίχνευση των SS-lymphoma ασθενών, ειδικά όταν η απορρόφηση του ραδιοφαρμάκου, μέσω της ένδειξης *standardized uptake value* (SUVmax), στις παρωτίδες είναι ≥ 4.7 ή /και διαπιστώνεται παρουσία εντοπισμένων πνευμονικών αλλοιώσεων. Παρολ'αυτά, καμία διαφορά δεν ανιχνεύθηκε στον αριθμό των εστιών, στο πρότυπο πρόσληψης του ραδιοφαρμάκου ή στη μέση τιμή της SUVmax στους λεμφαδένες, μεταξύ των SS-lymphoma και των SS-non lymphoma ασθενών (141) *(Εικόνα 2)*.

Συμπερασματικά, η πρόγνωση με ακρίβεια της πιθανότητας λεμφωματογένεσης τη στιγμή της διάγνωσης του SS αποτελεί μία μείζων πρόκληση τις τελευταίες δεκαετίες. Σημαντικές κλινικές μελέτες έχουν οδηγήσει στην αναγνώριση διάφορων κλινικών, αιματολογικών, ορολογικών και ιστοπαθολογικών παραγόντων που αυξάνουν τον κίνδυνο λεμφοϋπερπλαστικών αλλοιώσεων. Επιπλέον, η ταυτοποίηση

καινοτόμων γενετικών και επιγενετικών αλληλεπιδράσεων μέσω διεθνών επιστημονικών συνεργασιών θα ενισχύσει την ικανότητά μας για καλύτερη κατανόηση των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών και ουσιαστικά θα οδηγήσει στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων για αυτούς τους ασθενείς.



Domain [Weight]	Activity level	Description
Constitutional [3] Exclusion of fever of infectious origin and voluntary weight loss	No = 0	Absence of the following symptoms
	Low = 1	Mild or intermittent fever (37.5°-38.5°C) / night sweats and/or involuntary weight loss of 5 to 10% of body weight
	Moderate = 2	Severe fever (>38.5°C) / night sweats and/or involuntary weight loss of >10% of body weight
Lymphadenopathy [4] Exclusion of infection	No = 0	Absence of the following features
	Low = 1	Lymphadenopathy ≥ 1 cm in any nodal region or ≥ 2 cm in inguinal region
	Moderate = 2	Lymphadenopathy ≥ 2 cm in any nodal region or ≥ 3 cm in inguinal region, and/or splenomegaly (clinically palpable or assessed by imaging)
Glandular [2] Exclusion of stone or infection	High = 3	Current malignant B-cell proliferative disorder
	No = 0	Absence of glandular swelling
	Low = 1	Small glandular swelling with enlarged parotid (< 3 cm), or limited submandibular or lacrimal swelling
Articular [2] Exclusion of osteoarthritis	Moderate = 2	Major glandular swelling with enlarged parotid (> 3 cm), or important submandibular or lacrimal swelling
	No = 0	Absence of currently active articular involvement
	Low = 1	Arthralgias in hands, wrists, ankles and feet accompanied by morning stiffness (>30 min)
Cutaneous [3] Rate as "No activity" stable long-lasting/features related to damage	Moderate = 2	1 to 5 (of 28 total count) synovitis
	High = 3	≥ 6 (of 28 total count) synovitis
	No = 0	Absence of currently active cutaneous involvement
Pulmonary [5] Rate as "No activity" stable long-lasting/features related to damage, or respiratory involvement not related to the disease (tobacco use etc.)	Low = 1	Erythema multiforma
	Moderate = 2	Limited cutaneous vasculitis, including urticarial vasculitis, or purpura limited to feet and ankle, or subacute cutaneous lupus
	High = 3	Diffuse cutaneous vasculitis, including urticarial vasculitis, or diffuse purpura, or ulcers related to vasculitis
Renal [5] Rate as "No activity" stable long-lasting/features related to damage, and renal involvement not related to the disease. If biopsy has been performed, please rate activity based on histological features first	No = 0	Absence of currently active pulmonary involvement
	Low = 1	Persistent cough or bronchial involvement with no radiographic abnormalities on radiography
	Moderate = 2	Or radiological or HRCT evidence of interstitial lung disease with: No breathlessness and normal lung function test
Renal [5] Rate as "No activity" stable long-lasting/features related to damage, and renal involvement not related to the disease. If biopsy has been performed, please rate activity based on histological features first	High = 3	Moderately active pulmonary involvement, such as interstitial lung disease shown by HRCT with shortness of breath on exercise (NHYA II) or abnormal lung function tests restricted to: 70% >DLCO< 40% or 80% >FVC< 60%
	High = 3	Highly active pulmonary involvement, such as interstitial lung disease shown by HRCT with shortness of breath at rest (NHYA III, IV) or with abnormal lung function tests: DLCO < 40% or FVC < 60%
	No = 0	Absence of currently active renal involvement with proteinuria < 0.5 g/d, no hematuria, no leucocyturia, no acidosis, or long-lasting stable proteinuria due to damage
Renal [5] Rate as "No activity" stable long-lasting/features related to damage, and renal involvement not related to the disease. If biopsy has been performed, please rate activity based on histological features first	Low = 1	Evidence of mild active renal involvement, limited to tubular acidosis without renal failure or glomerular involvement with proteinuria (between 0.5 and 1 g/d) and without hematuria or renal failure (GFR ≥ 60 ml/min)
	Moderate = 2	Moderately active renal involvement, such as tubular acidosis with renal failure (GFR < 60 ml/min) or glomerular involvement with proteinuria between 1 and 1.5 g/d and without hematuria or renal failure (GFR ≥ 60 ml/min) or histological evidence of extra-membranous glomerulonephritis or important interstitial lymphoid infiltrate
	High = 3	Highly active renal involvement, such as glomerular involvement with proteinuria > 1.5 g/d or hematuria or renal failure (GFR < 60 ml/min), or histological evidence of proliferative glomerulonephritis or cryoglobulinemia related renal involvement

Muscular [6] Exclusion of weakness due to corticosteroids	No = 0	Absence of currently active muscular involvement
	Low = 1	Mild active myositis shown by abnormal EMG or biopsy with no weakness and creatine kinase (N < CK ≤ 2N)
	Moderate = 2	Moderately active myositis proven by abnormal EMG or biopsy with weakness (maximal deficit of 4/5), or elevated creatine kinase (2N < CK ≤ 4N),
PNS [5] Rate as "No activity" stable long-lasting features related to damage or PNS involvement not related to the disease	High = 3	Highly active myositis shown by abnormal EMG or biopsy with weakness (deficit ≤ 3/5) or elevated creatine kinase (>4N)
	No = 0	Absence of currently active PNS involvement
	Low = 1	Mild active peripheral nervous system involvement, such as pure sensory axonal polyneuropathy shown by NCS or trigeminal (V) neuralgia
	Moderate = 2	Moderately active peripheral nervous system involvement shown by NCS, such as axonal sensory-motor neuropathy with maximal motor deficit of 4/5, pure sensory neuropathy with presence of cryoglobulinemic vasculitis, ganglionopathy with symptoms restricted to mild/moderate ataxia, inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) with mild functional impairment (maximal motor deficit of 4/5 or mild ataxia),
	High = 3	Or cranial nerve involvement of peripheral origin (except trigeminal (V) neuralgia)
	High = 3	Highly active PNS involvement shown by NCS, such as axonal sensory-motor neuropathy with motor deficit ≤ 3/5, peripheral nerve involvement due to vasculitis (mononeuritis multiplex etc.), severe ataxia due to ganglionopathy, inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) with severe functional impairment: motor deficit ≤ 3/5 or severe ataxia
CNS [5] Rate as "No activity" stable long-lasting features related to damage or CNS involvement not related to the disease	No = 0	Absence of currently active CNS involvement
	Low = 1	Moderately active CNS features, such as cranial nerve involvement of central origin, optic neuritis or multiple sclerosis-like syndrome with symptoms restricted to pure sensory impairment or proven cognitive impairment
	High = 3	Highly active CNS features, such as cerebral vasculitis with cerebrovascular accident or transient ischemic attack, seizures, transverse myelitis, lymphocytic meningitis, multiple sclerosis-like syndrome with motor deficit.
Hematological [2] For anemia, neutropenia, and thrombopenia, only auto-immune cytopenia must be considered	No = 0	Absence of auto-immune cytopenia
	Low = 1	Cytopenia of auto-immune origin with neutropenia (1000 < neutrophils < 1500/mm ³), and/or anemia (10 < hemoglobin < 12 g/dl), and/or thrombocytopenia (100,000 < platelets < 150,000/mm ³)
	Moderate = 2	Or lymphopenia (500 < lymphocytes < 1000/mm ³) Cytopenia of auto-immune origin with neutropenia (500 ≤ neutrophils ≤ 1000/mm ³), and/or anemia (8 ≤ hemoglobin ≤ 10 g/dl), and/or thrombocytopenia (50,000 ≤ platelets ≤ 100,000/mm ³)
Exclusion of vitamin or iron deficiency, drug-induced cytopenia	High = 3	Or lymphopenia (≤ 500/mm ³) Cytopenia of auto-immune origin with neutropenia (neutrophils < 500/mm ³), and/or or anemia (hemoglobin < 8 g/dl) and/or thrombocytopenia (platelets < 50,000/mm ³)
	No = 0	Absence of any of the following biological feature
Biological [1]	Low = 1	Clonal component and/or hypocomplementemia (low C4 or C3 or CH50) and/or hypergammaglobulinemia or high IgG level between 16

Βιβλιογραφία (2)

1. Anquetil C, Hachulla E, Machuron F, Mariette X, Le Guern V, Vittecoq O, et al. Is early-onset primary Sjögren's syndrome a worse prognosis form of the disease? *Rheumatol Oxf Engl*. 2019 Jul 1;58(7):1163–7.
2. Ramos-Casals M, Cervera R, Font J, García-Carrasco M, Espinosa G, Reino S, et al. Young onset of primary Sjögren's syndrome: clinical and immunological characteristics. *Lupus*. 1998;7(3):202–6.
3. Retamozo S, Brito-Zerón P, Ramos-Casals M. Prognostic markers of lymphoma development in primary Sjögren syndrome. *Lupus*. 2019 Jul;28(8):923–36.
4. How immunological profile drives clinical phenotype of primary Sjögren's syndrome at diagnosis: analysis of 10,500 patients (Sjögren Big Data Project). - Abstract - Europe PMC [Internet]. [cited 2021 Jan 29]. Available from: <https://europepmc.org/article/med/30156539>
5. How Does a Younger Age at the Onset of Sjögren's Syndrome (pSS) Influence the Clinical Presentation and the Clinical Course of the Disease? [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [cited 2021 Jan 29]. Available from: <https://acrabstracts.org/abstract/how-does-a-younger-age-at-the-onset-of-sjogrens-syndrome-pss-influence-the-clinical-presentation-and-the-clinical-course-of-the-disease/>
6. Goules AV, Argyropoulou OD, Pezoulas VC, Chatzis L, Critselis E, Gandolfo S, et al. Primary Sjögren's Syndrome of Early and Late Onset: Distinct Clinical Phenotypes and Lymphoma Development. *Front Immunol*. 2020;11:594096.
7. Fragkioudaki S, Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Predicting the risk for lymphoma development in Sjogren syndrome: An easy tool for clinical use. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Jun;95(25):e3766.
8. Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2000 Apr;29(5):296–304.
9. Theander E, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Mortality and causes of death in primary Sjögren's syndrome: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum*. 2004 Apr;50(4):1262–9.
10. Solans-Laqué R, López-Hernandez A, Bosch-Gil JA, Palacios A, Campillo M, Vilardell-Tarres M. Risk, predictors, and clinical characteristics of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2011 Dec;41(3):415–23.
11. Johnsen SJ, Brun JG, Gøransson LG, Småstuen MC, Johannesen TB, Haldorsen K, et al. Risk of non-Hodgkin's lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a population-based study. *Arthritis Care Res*. 2013 May;65(5):816–21.
12. Brito-Zerón P, Ramos-Casals M, Bove A, Sentis J, Font J. Predicting adverse outcomes in primary Sjogren's syndrome: identification of prognostic factors. *Rheumatol Oxf Engl*. 2007 Aug;46(8):1359–62.

13. Sène D, Ismael S, Forien M, Charlotte F, Kaci R, Cacoub P, et al. Ectopic Germinal Center–Like Structures in Minor Salivary Gland Biopsy Tissue Predict Lymphoma Occurrence in Patients With Primary Sjögren’s Syndrome. *Arthritis Rheumatol*. 2018;70(9):1481–8.
14. Ansell P, Simpson J, Lightfoot T, Smith A, Kane E, Howell D, et al. Non-Hodgkin lymphoma and autoimmunity: does gender matter? *Int J Cancer*. 2011 Jul 15;129(2):460–6.
15. Fallah M, Liu X, Ji J, Försti A, Sundquist K, Hemminki K. Autoimmune diseases associated with non-Hodgkin lymphoma: a nationwide cohort study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2014 Oct;25(10):2025–30.
16. Gondran G, Fauchais A, Lambert M, Ly K, Launay D, Queyrel V, et al. Primary Sjögren’s syndrome in men. *Scand J Rheumatol*. 2008 Aug;37(4):300–5.
17. Ramírez Sepúlveda JI, Kvarnström M, Eriksson P, Mandl T, Norheim KB, Johnsen SJ, et al. Long-term follow-up in primary Sjögren’s syndrome reveals differences in clinical presentation between female and male patients. *Biol Sex Differ*. 2017 Aug 8;8(1):25.
18. Anaya JM, Liu GT, D’Souza E, Ogawa N, Luan X, Talal N. Primary Sjögren’s syndrome in men. *Ann Rheum Dis*. 1995 Sep;54(9):748–51.
19. Baldini C, Pepe P, Luciano N, Ferro F, Talarico R, Grossi S, et al. A clinical prediction rule for lymphoma development in primary Sjögren’s syndrome. *J Rheumatol*. 2012 Apr;39(4):804–8.
20. Brito-Zerón P, Kostov B, Fraile G, Caravia-Durán D, Maure B, Rascón F-J, et al. Characterization and risk estimate of cancer in patients with primary Sjögren syndrome. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol*. 2017 Apr 17;10(1):90.
21. Voulgarelis M, Dafni UG, Isenberg DA, Moutsopoulos HM. Malignant lymphoma in primary Sjögren’s syndrome: a multicenter, retrospective, clinical study by the European Concerted Action on Sjögren’s Syndrome. *Arthritis Rheum*. 1999 Aug;42(8):1765–72.
22. Nocturne G, Virone A, Ng W-F, Le Guern V, Hachulla E, Cornec D, et al. Rheumatoid Factor and Disease Activity Are Independent Predictors of Lymphoma in Primary Sjögren’s Syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2016 Apr;68(4):977–85.
23. Sutcliffe N, Inanc M, Speight P, Isenberg D. Predictors of lymphoma development in primary Sjögren’s syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 1998 Oct;28(2):80–7.
24. Ioannidis JPA, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long-term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjögren’s syndrome. *Arthritis Rheum*. 2002 Mar;46(3):741–7.
25. Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JWJ. Clinical features distinguishing lymphoma development in primary Sjögren’s Syndrome--a retrospective cohort study. *Semin Arthritis Rheum*. 2013 Oct;43(2):171–7.
26. De Vita S, Gandolfo S, Zandonella Callegher S, Zabotti A, Quartuccio L. The evaluation of disease activity in Sjögren’s syndrome based on the degree of MALT involvement: glandular swelling and cryoglobulinaemia compared to ESSDAI in a cohort study. *Clin Exp Rheumatol*. 2018 Jun;36 Suppl 112(3):150–6.

27. Kassan SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR, et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med.* 1978 Dec;89(6):888–92.
28. Quartuccio L, Isola M, Baldini C, Priori R, Bartoloni Bocci E, Carubbi F, et al. Biomarkers of lymphoma in Sjögren’s syndrome and evaluation of the lymphoma risk in prelymphomatous conditions: results of a multicenter study. *J Autoimmun.* 2014 Jun;51:75–80.
29. Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and outcome of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjögren syndrome. *Medicine (Baltimore).* 2012 Jan;91(1):1–9.
30. Ramos-Casals M, Anaya J-M, García-Carrasco M, Rosas J, Bové A, Claver G, et al. Cutaneous vasculitis in primary Sjögren syndrome: classification and clinical significance of 52 patients. *Medicine (Baltimore).* 2004 Mar;83(2):96–106.
31. Theander E, Henriksson G, Ljungberg O, Mandl T, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Lymphoma and other malignancies in primary Sjögren’s syndrome: a cohort study on cancer incidence and lymphoma predictors. *Ann Rheum Dis.* 2006 Jun;65(6):796–803.
32. Retamozo S, Gheitasi H, Quartuccio L, Kostov B, Corazza L, Bové A, et al. Cryoglobulinaemic vasculitis at diagnosis predicts mortality in primary Sjögren syndrome: analysis of 515 patients. *Rheumatol Oxf Engl.* 2016 Aug;55(8):1443–51.
33. Sène D, Jallouli M, Lefaucheur J-P, Saadoun D, Costedoat-Chalumeau N, Maisonobe T, et al. Peripheral neuropathies associated with primary Sjögren syndrome: immunologic profiles of nonataxic sensory neuropathy and sensorimotor neuropathy. *Medicine (Baltimore).* 2011 Mar;90(2):133–8.
34. Pavlakis PP, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Stamboulis E, Routsias JG, Tzartos SJ, et al. Peripheral neuropathies in Sjogren syndrome: a new reappraisal. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011 Jul;82(7):798–802.
35. García-Carrasco M, Sisó A, Ramos-Casals M, Rosas J, de la Red G, Gil V, et al. Raynaud’s phenomenon in primary Sjögren’s syndrome. Prevalence and clinical characteristics in a series of 320 patients. *J Rheumatol.* 2002 Apr;29(4):726–30.
36. Raynaud’s Phenomenon and African American Race Are Independently Associated With Non-Hodgkin’s Lymphoma In Sjogrens Syndrome Patients: Findings From a United States National Study [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [cited 2021 Jan 29]. Available from: <https://acrabstracts.org/abstract/raynauds-phenomenon-and-african-american-race-are-independently-associated-with-non-hodgkins-lymphoma-in-sjogrens-syndrome-patients-findings-from-a-united-states-national-study/>
37. Zampeli E, Kalogirou E-M, Piperi E, Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Tongue Atrophy in Sjögren Syndrome Patients with Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma: Autoimmune Epithelitis beyond the Epithelial Cells of Salivary Glands? *J Rheumatol.* 2018 Nov;45(11):1565–71.
38. Seror R, Ravaud P, Bowman S, Baron G, Tzioufas A, Theander E, et al. EULAR Sjögren’s syndrome disease activity index: Development of a consensus systemic disease activity index for primary Sjögren’s syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2010 Jun 1;69.

39. Papageorgiou A, Ziogas DC, Mavragani CP, Zintzaras E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM, et al. Predicting the outcome of Sjogren's syndrome-associated non-hodgkin's lymphoma patients. *PLoS One*. 2015;10(2):e0116189.
40. Brito-Zerón P, Kostov B, Solans R, Fraile G, Suárez-Cuervo C, Casanovas A, et al. Systemic activity and mortality in primary Sjögren syndrome: predicting survival using the EULAR-SS Disease Activity Index (ESSDAI) in 1045 patients. *Ann Rheum Dis*. 2016 Feb;75(2):348–55.
41. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *J Clin Pathol*. 1968 Sep;21(5):656–60.
42. Carubbi F, Alunno A, Cipriani P, Bartoloni E, Baldini C, Quartuccio L, et al. A retrospective, multicenter study evaluating the prognostic value of minor salivary gland histology in a large cohort of patients with primary Sjögren's syndrome. *Lupus*. 2015 Mar;24(3):315–20.
43. Risselada AP, Hair M de, Kruize AA, Bijlsma JWJ, van Roon JAG. Lymphocytic focus score as a prognostic tool. *Ann Rheum Dis*. 2015 Apr;74(4):e31.
44. Risselada AP, Kruize AA, Goldschmeding R, Lafeber FPJG, Bijlsma JWJ, van Roon JAG. The prognostic value of routinely performed minor salivary gland assessments in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2014 Aug;73(8):1537–40.
45. Falini B, Agostinelli C, Bigerna B, Pucciarini A, Pacini R, Tabarrini A, et al. IRTA1 is selectively expressed in nodal and extranodal marginal zone lymphomas. *Histopathology*. 2012 Nov;61(5):930–41.
46. Haacke EA, Bootsma H, Spijkervet FKL, Visser A, Vissink A, Kluin PM, et al. FcRL4+ B-cells in salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients. *J Autoimmun*. 2017 Jul;81:90–8.
47. Hatzivassiliou G, Miller I, Takizawa J, Palanisamy N, Rao PH, Iida S, et al. IRTA1 and IRTA2, novel immunoglobulin superfamily receptors expressed in B cells and involved in chromosome 1q21 abnormalities in B cell malignancy. *Immunity*. 2001 Mar;14(3):277–89.
48. Amara K, Clay E, Yeo L, Ramsköld D, Spengler J, Sippl N, et al. B cells expressing the IgA receptor FcRL4 participate in the autoimmune response in patients with rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2017 Jul;81:34–43.
49. Salomonsson S, Jonsson MV, Skarstein K, Brokstad KA, Hjelmström P, Wahren-Herlenius M, 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 Nov;48(11):3187–201.
50. Brito-Zerón P, Retamozo S, Ramos-Casals M. Phenotyping Sjögren's syndrome: towards a personalised management of the disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2018 Jun;36 Suppl 112(3):198–209.
51. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011 Aug;70(8):1363–8.

52. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of germinal center-like structures and B cell clonality in patients with primary Sjögren syndrome with and without lymphoma. *J Rheumatol*. 2014 Nov;41(11):2214–22.
53. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centres in diagnostic labial gland biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome are not predictive for parotid MALT lymphoma development. *Ann Rheum Dis*. 2017 Oct;76(10):1781–4.
54. Barone F, Bombardieri M, Rosado MM, Morgan PR, Challacombe SJ, De Vita S, et al. CXCL13, CCL21, and CXCL12 expression in salivary glands of patients with Sjogren's syndrome and MALT lymphoma: association with reactive and malignant areas of lymphoid organization. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2008 Apr 1;180(7):5130–40.
55. Bombardieri M, Barone F, Humby F, Kelly S, McGurk M, Morgan P, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjögren's syndrome. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2007 Oct 1;179(7):4929–38.
56. Mavragani C, Kirou K, Nezos A, Seshan S, Wild T, Wahl S, et al. THU0228 EXPRESSION OF APOBEC FAMILY MEMBERS AS REGULATORS OF ENDOGENOUS RETROELEMENTS AND MALIGNANCY IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS AND SJÖGREN'S SYNDROME. Vol. 78, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019. 392.1.
57. Nezos A, Gravani F, Tassidou A, Kapsogeorgou EK, Voulgarelis M, Koutsilieris M, et al. Type I and II interferon signatures in Sjogren's syndrome pathogenesis: Contributions in distinct clinical phenotypes and Sjogren's related lymphomagenesis. *J Autoimmun*. 2015 Sep;63:47–58.
58. Manoussakis MN, Boiu S, Korkolopoulou P, Kapsogeorgou EK, Kavantzias N, Ziakas P, et al. Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjögren's syndrome: correlation with certain features of immune hyperactivity and factors associated with high risk of lymphoma development. *Arthritis Rheum*. 2007 Dec;56(12):3977–88.
59. Vakrakou AG, Boiu S, Ziakas PD, Xingi E, Boleti H, Manoussakis MN. Systemic activation of NLRP3 inflammasome in patients with severe primary Sjögren's syndrome fueled by inflammagenic DNA accumulations. *J Autoimmun*. 2018;91:23–33.
60. Johnsen SJ, Gudlaugsson E, Skaland I, Janssen E a. M, Jonsson MV, Helgeland L, et al. Low Protein A20 in Minor Salivary Glands is Associated with Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Scand J Immunol*. 2016 Mar;83(3):181–7.
61. Baldini C, Santini E, Rossi C, Donati V, Solini A. The P2X7 receptor-NLRP3 inflammasome complex predicts the development of non-Hodgkin's lymphoma in Sjogren's syndrome: a prospective, observational, single-centre study. *J Intern Med*. 2017;282(2):175–86.
62. Varricchi G, Pecoraro A, Marone G, Criscuolo G, Spadaro G, Genovese A, et al. Thymic Stromal Lymphopoietin Isoforms, Inflammatory Disorders, and Cancer. *Front Immunol*. 2018;9:1595.

63. Thymic Stromal Lymphopoietin (TSLP) Expression Is Associated with Lymphoproliferation and Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [cited 2021 Jan 30]. Available from: <https://acrabstracts.org/abstract/thymic-stromal-lymphopoietin-tslp-expression-is-associated-with-lymphoproliferation-and-lymphoma-in-primary-sjogrens-syndrome/>
64. Mavragani CP, Nezos A, Sagalovskiy I, Seshan S, Kirou KA, Crow MK. Defective regulation of L1 endogenous retroelements in primary Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus: Role of methylating enzymes. *J Autoimmun.* 2018 Mar 1;88:75–82.
65. Chen MF, Zeng F, Qi L, Zu XB, Wang J, Liu LF, et al. Transforming growth factor- β 1 induces epithelial-mesenchymal transition and increased expression of matrix metalloproteinase-16 via miR-200b downregulation in bladder cancer cells. *Mol Med Rep.* 2014 Sep;10(3):1549–54.
66. Cheng Y-X, Chen G-T, Chen C, Zhang Q-F, Pan F, Hu M, et al. MicroRNA-200b inhibits epithelial-mesenchymal transition and migration of cervical cancer cells by directly targeting RhoE. *Mol Med Rep.* 2016 Apr;13(4):3139–46.
67. Baimpa E, Dahabreh IJ, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. Hematologic manifestations and predictors of lymphoma development in primary Sjögren syndrome: clinical and pathophysiologic aspects. *Medicine (Baltimore).* 2009 Sep;88(5):284–93.
68. Shen L, Suresh L, Li H, Zhang C, Kumar V, Pankewycz O, et al. IL-14 alpha, the nexus for primary Sjögren's disease in mice and humans. *Clin Immunol Orlando Fla.* 2009 Mar;130(3):304–12.
69. Quartuccio L, Baldini C, Bartoloni E, Priori R, Carubbi F, Corazza L, et al. Anti-SSA/SSB-negative Sjögren's syndrome shows a lower prevalence of lymphoproliferative manifestations, and a lower risk of lymphoma evolution. *Autoimmun Rev.* 2015 Nov;14(11):1019–22.
70. Baldini C, Mosca M, Della Rossa A, Pepe P, Notarstefano C, Ferro F, et al. Overlap of ACA-positive systemic sclerosis and Sjögren's syndrome: a distinct clinical entity with mild organ involvement but at high risk of lymphoma. *Clin Exp Rheumatol.* 2013 Apr;31(2):272–80.
71. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Yagüe J, Akasbi M, Bautista R, Ruano M, et al. Hypocomplementaemia as an immunological marker of morbidity and mortality in patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatol Oxf Engl.* 2005 Jan;44(1):89–94.
72. Quartuccio L, Salvin S, Fabris M, Maset M, Pontarini E, Isola M, et al. BLyS upregulation in Sjogren's syndrome associated with lymphoproliferative disorders, higher ESSDAI score and B-cell clonal expansion in the salivary glands. *Rheumatol Oxf Engl.* 2013 Feb;52(2):276–81.
73. Gandolfo S, Fabro C, Bulfoni M, Breatta ED, Cesselli D, Loreto CD, et al. Thu0217 Serum Thymic Stromal Lymphopoietin (tslp) as a Biomarker of B-Cell Lymphoproliferation in Sjögren's Syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2019 Jun 1;78(Suppl 2):387–387.
74. Tobón GJ, Saraux A, Gottenberg J-E, Quartuccio L, Fabris M, Seror R, et al. Role of Fms-like tyrosine kinase 3 ligand as a potential biologic marker of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2013 Dec;65(12):3218–27.

75. Ray RJ, Furlonger C, Williams DE, Paige CJ. Characterization of thymic stromal-derived lymphopoietin (TSLP) in murine B cell development in vitro. *Eur J Immunol*. 1996 Jan;26(1):10–6.
76. Tobón GJ, Renaudineau Y, Hillion S, Cornec D, Devauchelle-Pensec V, Youinou P, et al. The Fms-like tyrosine kinase 3 ligand, a mediator of B cell survival, is also a marker of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2010 Nov;62(11):3447–56.
77. Nocturne G, Seror R, Fogel O, Belkhir R, Boudaoud S, Saraux A, et al. CXCL13 and CCL11 Serum Levels and Lymphoma and Disease Activity in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2015 Dec;67(12):3226–33.
78. Brito-Zerón P, Retamozo S, Gandía M, Akasbi M, Pérez-De-Lis M, Diaz-Lagares C, et al. Monoclonal gammopathy related to Sjögren syndrome: a key marker of disease prognosis and outcomes. *J Autoimmun*. 2012 Aug;39(1–2):43–8.
79. Tomi A-L, Belkhir R, Nocturne G, Desmoulins F, Berge E, Pavy S, et al. Brief Report: Monoclonal Gammopathy and Risk of Lymphoma and Multiple Myeloma in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2016 May;68(5):1245–50.
80. Kimman J, Bossuyt X, Blockmans D. Prognostic value of cryoglobulins, protein electrophoresis, and serum immunoglobulins for lymphoma development in patients with Sjögren's syndrome. A retrospective cohort study. *Acta Clin Belg*. 2018 Jun;73(3):169–81.
81. Gottenberg J-E, Seror R, Miceli-Richard C, Benessiano J, Devauchelle-Pensec V, Dieude P, et al. Serum levels of beta2-microglobulin and free light chains of immunoglobulins are associated with systemic disease activity in primary Sjögren's syndrome. Data at enrollment in the prospective ASSESS cohort. *PLoS One*. 2013;8(5):e59868.
82. Kotsifaki E, Nezos A, Psarrou A, Garantziotis P, Koutsilieris M, Mavragani C. Ab0183 the Role of the Phospholipase Lp-Pla2 Activity in Sjogren's Syndrome Related Lymphomagenesis: A New Serum Biomarker? *Ann Rheum Dis*. 2019 Jun 1;78(Suppl 2):1549–1549.
83. Baldini C, Gallo A, Perez P, Mosca M, Alevizos I, Bombardieri S. Saliva as an ideal milieu for emerging diagnostic approaches in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2012 Oct;30(5):785–90.
84. Cecchetti A, Finamore F, Ucciferri N, Donati V, Mattii L, Polizzi E, et al. Phenotyping multiple subsets in Sjögren's syndrome: a salivary proteomic SWATH-MS approach towards precision medicine. *Clin Proteomics*. 2019;16:26.
85. Cui L, Elzakra N, Xu S, Xiao GG, Yang Y, Hu S. Investigation of three potential autoantibodies in Sjogren's syndrome and associated MALT lymphoma. *Oncotarget*. 2017 May 2;8(18):30039–49.
86. Jazzar AA, Shirlaw PJ, Carpenter GH, Challacombe SJ, Proctor GB. Salivary S100A8/A9 in Sjögren's syndrome accompanied by lymphoma. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol*. 2018 Oct;47(9):900–6.

87. Ryan RJH, Wilcox RA. Ontogeny, Genetics, Molecular Biology, and Classification of B- and T-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2019 Aug;33(4):553–74.
88. Adrianto I, Wen F, Templeton A, Wiley G, King JB, Lessard CJ, et al. Association of a functional variant downstream of TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2011 Mar;43(3):253–8.
89. Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet.* 2009 Feb;41(2):199–204.
90. Novak U, Rinaldi A, Kwee I, Nandula SV, Rancoita PMV, Compagno M, et al. The NF- κ B negative regulator TNFAIP3 (A20) is inactivated by somatic mutations and genomic deletions in marginal zone lymphomas. *Blood.* 2009 May 14;113(20):4918–21.
91. Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, et al. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature.* 2009 Jun 4;459(7247):712–6.
92. Shembade N, Ma A, Harhaj EW. Inhibition of NF-kappaB signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science.* 2010 Feb 26;327(5969):1135–9.
93. Nocturne G, Boudaoud S, Miceli-Richard C, Viengchareun S, Lazure T, Nititham J, et al. Germline and somatic genetic variations of TNFAIP3 in lymphoma complicating primary Sjögren's syndrome. *Blood.* 2013 Dec 12;122(25):4068–76.
94. Nocturne G, Tarn J, Boudaoud S, Locke J, Miceli-Richard C, Hachulla E, et al. Germline variation of TNFAIP3 in primary Sjögren's syndrome-associated lymphoma. *Ann Rheum Dis.* 2016 Apr 1;75(4):780–3.
95. Nezos A, Gkioka E, Koutsilieris M, Voulgarelis M, Tzioufas AG, Mavragani CP. TNFAIP3 F127C Coding Variation in Greek Primary Sjogren's Syndrome Patients. *J Immunol Res.* 2018;2018:6923213.
96. Colafrancesco S, Ciccacci C, Priori R, Latini A, Picarelli G, Arienzo F, et al. STAT4, TRAF3IP2, IL10, and HCP5 Polymorphisms in Sjögren's Syndrome: Association with Disease Susceptibility and Clinical Aspects [Internet]. *Journal of Immunology Research.* 2019 [cited 2019 Dec 15]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2019/7682827/abs/>
97. Vernet C, Ribouchon MT, Chimini G, Jouanolle AM, Sidibé I, Pontarotti P. A novel coding sequence belonging to a new multicopy gene family mapping within the human MHC class I region. *Immunogenetics.* 1993;38(1):47–53.
98. Ciccacci C, Perricone C, Ceccarelli F, Rufini S, Di Fusco D, Alessandri C, et al. A multilocus genetic study in a cohort of Italian SLE patients confirms the association with STAT4 gene and describes a new association with HCP5 gene. *PloS One.* 2014;9(11):e111991.
99. Liu Y, Helms C, Liao W, Zaba LC, Duan S, Gardner J, et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet.* 2008 Mar 28;4(3):e1000041.

100. Zhai K, Tian X, Wu C, Lu N, Chang J, Huang L, et al. Cytokine BAFF gene variation is associated with survival of patients with T-cell lymphomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2012 Apr 15;18(8):2250–6.
101. Novak AJ, Grote DM, Ziesmer SC, Kline MP, Manske MK, Slager S, et al. Elevated serum B-lymphocyte stimulator levels in patients with familial lymphoproliferative disorders. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2006 Feb 20;24(6):983–7.
102. Novak AJ, Slager SL, Fredericksen ZS, Wang AH, Manske MM, Ziesmer S, et al. Genetic variation in B-cell-activating factor is associated with an increased risk of developing B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Res.* 2009 May 15;69(10):4217–24.
103. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K. Analysis on the association of human BLYS (BAFF, TNFSF13B) polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 2002 Nov;3(7):424–9.
104. Gottenberg J-E, Sellam J, Ittah M, Lavie F, Proust A, Zouali H, et al. No evidence for an association between the -871 T/C promoter polymorphism in the B-cell-activating factor gene and primary Sjögren’s syndrome. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(1):R30.
105. Nezos A, Papageorgiou A, Fragoulis G, Ioakeimidis D, Koutsilieris M, Tzioufas AG, et al. B-cell activating factor genetic variants in lymphomagenesis associated with primary Sjogren’s syndrome. *J Autoimmun.* 2014 Jun 1;51:89–98.
106. Papageorgiou A, Mavragani CP, Nezos A, Zintzaras E, Quartuccio L, De Vita S, et al. A BAFF Receptor His159Tyr Mutation in Sjögren’s Syndrome–Related Lymphoproliferation. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Oct 1;67(10):2732–41.
107. Nezos A, Makri P, Gandolfo S, De Vita S, Voulgarelis M, Crow MK, et al. TREX1 variants in Sjogren’s syndrome related lymphomagenesis. *Cytokine.* 2019 Jul 18;154781.
108. Mazur DJ, Perrino FW. Identification and expression of the TREX1 and TREX2 cDNA sequences encoding mammalian 3’-->5’ exonucleases. *J Biol Chem.* 1999 Jul 9;274(28):19655–60.
109. Höss M, Robins P, Naven TJ, Pappin DJ, Sgouros J, Lindahl T. A human DNA editing enzyme homologous to the Escherichia coli DnaQ/MutD protein. *EMBO J.* 1999 Jul 1;18(13):3868–75.
110. Lindahl T, Barnes DE, Yang Y-G, Robins P. Biochemical properties of mammalian TREX1 and its association with DNA replication and inherited inflammatory disease. *Biochem Soc Trans.* 2009 Jun;37(Pt 3):535–8.
111. Kavanagh D, Spitzer D, Kothari PH, Shaikh A, Liszewski MK, Richards A, et al. New roles for the major human 3’-5’ exonuclease TREX1 in human disease. *Cell Cycle Georget Tex.* 2008 Jun 15;7(12):1718–25.
112. Cuadrado E, Michailidou I, van Bodegraven EJ, Jansen MH, Sluijs JA, Geerts D, et al. Phenotypic variation in Aicardi-Goutières syndrome explained by cell-specific IFN-stimulated gene response and cytokine release. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2015 Apr 15;194(8):3623–33.
113. Abe J, Nakamura K, Nishikomori R, Kato M, Mitsuiki N, Izawa K, et al. A nationwide survey of Aicardi-Goutières syndrome patients identifies a strong association between

- dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2014 Mar;53(3):448–58.
114. Namjou B, Kothari PH, Kelly JA, Glenn SB, Ojwang JO, Adler A, et al. Evaluation of the TREX1 gene in a large multi-ancestral lupus cohort. *Genes Immun*. 2011 Jun;12(4):270–9.
 115. Ellyard JI, Jerjen R, Martin JL, Lee AYS, Field MA, Jiang SH, et al. Identification of a pathogenic variant in TREX1 in early-onset cerebral systemic lupus erythematosus by Whole-exome sequencing. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2014 Dec;66(12):3382–6.
 116. Hughes M, Little J, Herrick AL, Pushpakom S, Byers H, Worthington J, et al. A synonymous variant in TREX1 is associated with systemic sclerosis and severe digital ischaemia. *Scand J Rheumatol*. 2017 Jan;46(1):77–8.
 117. Vanpouille-Box C, Alard A, Aryankalayil MJ, Sarfraz Y, Diamond JM, Schneider RJ, et al. DNA exonuclease Trex1 regulates radiotherapy-induced tumour immunogenicity. *Nat Commun*. 2017 Jun 9;8:15618.
 118. Fragkioudaki S, Nezos A, Souliotis VL, Chatziandreou I, Saetta AA, Drakoulis N, et al. MTHFR gene variants and non-MALT lymphoma development in primary Sjogren's syndrome. *Sci Rep*. 2017 Aug 4;7(1):1–8.
 119. Gokul G, Khosla S. DNA methylation and cancer. *Subcell Biochem*. 2013;61:597–625.
 120. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Bombardieri S, Bootsma H, De Vita S, Dörner T, et al. EULAR recommendations for the management of Sjögren's syndrome with topical and systemic therapies. *Ann Rheum Dis*. 2020 Jan;79(1):3–18.
 121. Jackson AE, Mian M, Kalpadakis C, Pangalis GA, Stathis A, Porro E, et al. Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue of the Salivary Glands: A Multicenter, International Experience of 248 Patients (IELSG 41). *The Oncologist*. 2015 Oct;20(10):1149–53.
 122. Pollard RPE, Pijpe J, Bootsma H, Spijkervet FKL, Kluin PM, Roodenburg JLN, et al. Treatment of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in Sjogren's syndrome: a retrospective clinical study. *J Rheumatol*. 2011 Oct;38(10):2198–208.
 123. De Vita S, Quartuccio L, Salvin S, Picco L, Scott CA, Rupolo M, et al. Sequential therapy with belimumab followed by rituximab in Sjögren's syndrome associated with B-cell lymphoproliferation and overexpression of BAFF: evidence for long-term efficacy. *Clin Exp Rheumatol*. 2014 Aug;32(4):490–4.
 124. Zucca E, Conconi A, Laszlo D, López-Guillermo A, Bouabdallah R, Coiffier B, et al. Addition of rituximab to chlorambucil produces superior event-free survival in the treatment of patients with extranodal marginal-zone B-cell lymphoma: 5-year analysis of the IELSG-19 Randomized Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Feb 10;31(5):565–72.
 125. Routsias JG, Goules JD, Charalampakis G, Tzima S, Papageorgiou A, Voulgarelis M. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome: an update on the pathogenesis and treatment. *Semin Arthritis Rheum*. 2013 Oct;43(2):178–86.
 126. Saadoun D, Pineton de Chambrun M, Hermine O, Karras A, Choquet S, Jego P, et al. Using rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide as a treatment for refractory

- mixed cryoglobulinemia associated with lymphoma. *Arthritis Care Res.* 2013 Apr;65(4):643–7.
127. Salar A, Domingo-Domenech E, Estany C, Canales MA, Gallardo F, Servitje O, et al. Combination therapy with rituximab and intravenous or oral fludarabine in the first-line, systemic treatment of patients with extranodal marginal zone B-cell lymphoma of the mucosa-associated lymphoid tissue type. *Cancer.* 2009 Nov 15;115(22):5210–7.
 128. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, Banat GA, von Grünhagen U, Losem C, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Lond Engl.* 2013 Apr 6;381(9873):1203–10.
 129. Salar A, Domingo-Domenech E, Panizo C, Nicolás C, Bargay J, Muntañola A, et al. Long-term results of a phase 2 study of rituximab and bendamustine for mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood.* 2017 Oct 12;130(15):1772–4.
 130. Demaria L, Henry J, Seror R, Frenzel L, Hermine O, Mariette X, et al. Rituximab-Bendamustine (R-Benda) in MALT lymphoma complicating primary Sjögren syndrome (pSS). *Br J Haematol.* 2019 Feb;184(3):472–5.
 131. Voulgarelis M, Giannouli S, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Long term remission of Sjögren's syndrome associated aggressive B cell non-Hodgkin's lymphomas following combined B cell depletion therapy and CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone). *Ann Rheum Dis.* 2006 Aug;65(8):1033–7.
 132. Pers J-O, Devauchelle V, Daridon C, Bendaoud B, Le Berre R, Bordron A, et al. BAFF-modulated repopulation of B lymphocytes in the blood and salivary glands of rituximab-treated patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2007 May;56(5):1464–77.
 133. Cornec D, Costa S, Devauchelle-Pensec V, Jousse-Joulin S, Marcorelles P, Berthelot J-M, et al. Blood and salivary-gland BAFF-driven B-cell hyperactivity is associated to rituximab inefficacy in primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmun.* 2016 Feb;67:102–10.
 134. Carubbi F, Cipriani P, Di Benedetto P, Ruscitti P, Alunno A, Gerli R, et al. Persistence of focal lymphocytic sialadenitis in patients with primary Sjögren's syndrome treated with rituximab: a possible role for glandular BAFF. *Clin Exp Rheumatol.* 2016 Dec;34(6):1123–4.
 135. Seror R, Nocturne G, Lazure T, Hendel-Chavez H, Desmoulins F, Belkhir R, et al. Low numbers of blood and salivary natural killer cells are associated with a better response to belimumab in primary Sjögren's syndrome: results of the BELISS study. *Arthritis Res Ther.* 2015 Sep 4;17:241.
 136. Gandolfo S, De Vita S. Double anti-B cell and anti-BAFF targeting for the treatment of primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2019 Jun;37 Suppl 118(3):199–208.
 137. Quartuccio L, Mavragani CP, Nezos A, Gandolfo S, Tzioufas AG, De Vita S. Type I interferon signature may influence the effect of belimumab on immunoglobulin levels, including rheumatoid factor in Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2017 Aug;35(4):719–20.
 138. Giannouli S, Voulgarelis M. Predicting progression to lymphoma in Sjögren's syndrome patients. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014 Apr;10(4):501–12.

139. Theander E, Mandl T. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic and prognostic value of salivary gland ultrasonography using a simplified scoring system. *Arthritis Care Res.* 2014 Jul;66(7):1102–7.
140. Van Mello NM, Pillemer SR, Tak PP, Sankar V. B cell MALT lymphoma diagnosed by labial minor salivary gland biopsy in patients screened for Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2005 Mar;64(3):471–3.
141. Keraen J, Blanc E, Besson FL, Leguern V, Meyer C, Henry J, et al. Usefulness of 18 F-Labeled Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography for the Diagnosis of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* 2019 Jul;71(7):1147–57.



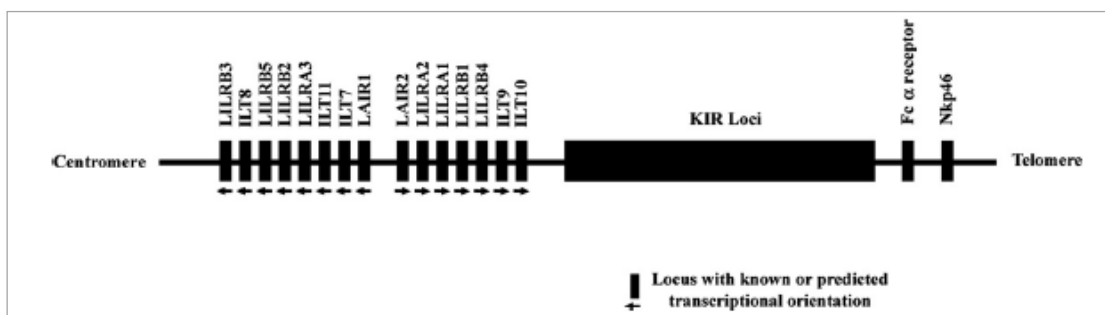
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

**Ανοσοϋποδοχέας - LILRA3 στο Σύνδρομο Sjögren /
Λεμφωματογένεση**

1. Εισαγωγή

Το σύνδρομο Sjögren είναι μια χρόνια αυτοάνοση νόσος και η δεύτερη πιο συχνή μετά τη RA, όπου συγκεντρωτικά το εκτιμώμενο ποσοστό επιπολασμού (pooled prevalence rate) κυμαίνεται στις 60.82 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους (1). Συνήθως προσβάλλονται γυναίκες περιεμμηνοπαυσιακής ηλικίας, με τη sicca συμπτωματολογία να είναι προεξάρχουσα, λόγω της χρόνιας φλεγμονώδους προσβολής των σιελογόνων αδένων. Εκτός αυτών, μπορούν να παρατηρηθούν συστηματικές κλινικές εκδηλώσεις, όπως προσβολή του μυοσκελετικού συστήματος, φαινόμενο Raynaud και εμφάνιση περιφερικής πορφύρας (2–4). Σε ένα μικρό αλλά σημαντικό ποσοστό SS ασθενών, μπορεί να αναπτυχθεί NHL, με τη μέγιστη πιθανότητα που παρατηρείται μεταξύ των αυτοάνοσων νοσημάτων (5). Διάφοροι κλινικοί, ορολογικοί, ιστοπαθολογικοί και γενετικοί δείκτες έχουν μέχρι τώρα αναγνωρισθεί να συμβάλλουν σημαντικά στην εμφάνιση λεμφοϋπερπλαστικών αλλοιώσεων στο πλαίσιο του SS (6,7). Αρρυθμιστη χρόνια φλεγμονώδης απόκριση, υπερδραστηριότητα του B κυτταρικού πληθυσμού, ανεπάρκεια ανοσοεπιτήρησης, αυξημένα επίπεδα βλάβης και ελλατωματική μεθυλίωση του DNA είναι προτεινόμενοι πιθανοί παθογενετικοί μηχανισμοί που συμβάλλουν στη διαδικασία της λεμφωματογένεσης (8).

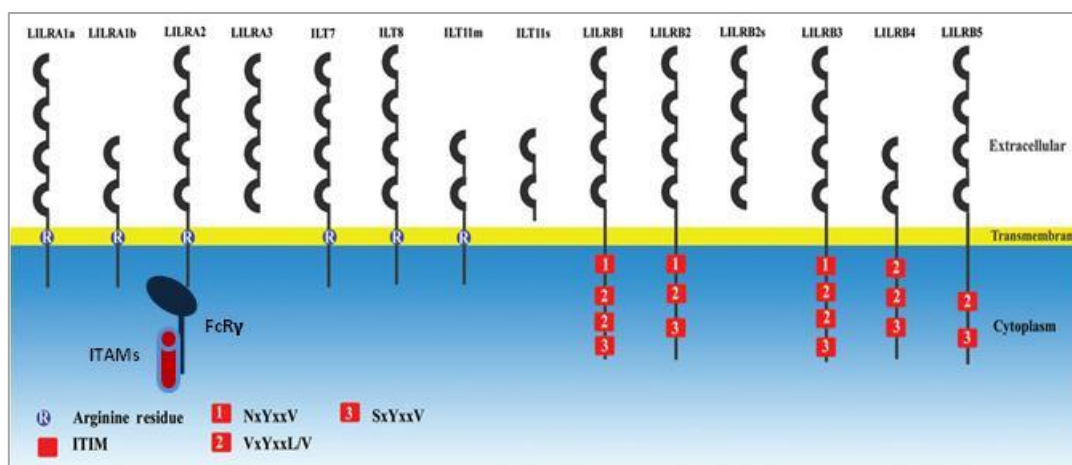
Τα τελευταία χρόνια, ολοένα και περισσότερα βιβλιογραφικά δεδομένα έχουν αναδείξει τον ρόλο των πολυμορφισμών ενός γονιδίου - Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 3 (LILRA3) - στην παθογένεια τόσο του SS όσο και του NHL (9,10). Η οικογένεια των υποδοχέων Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors (LILR) είναι μια ετερογενής ομάδα ανοσοϋποδοχέων, των οποίων ο γενετικός τόπος εδράζεται στο χρωμόσωμα 19 (19q13.4), δίπλα στην υπερικογένεια των υποδοχέων *Killer cell Inhibitory Receptor* (KIR) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. (Πηγή: Brown D, et al. *Tissue Antigens* . 2004 Sep;64(3):215-25)

Γενετικός τόπος υποδοχέων LILR

Περιλαμβάνει διεγερτικές (LILRA1, LILRA2, LILRA3) και ανασταλτικές (LIRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5) ισομορφές (11), γεγονός που εξαρτάται από την ικανότητά τους να επάγουν την έκκριση κυτταροκινών από μονοκύτταρα (12), ή να αναστέλλουν την έκφραση συνδιεγερτικών μορίων στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (13,14), αντίστοιχα (Εικόνα 2). Όλες οι ισομορφές εκφράζονται στα κύτταρα τόσο της μυελομονοκυτταρικής όσο και της λεμφικής σειράς με διαφορετικά πρότυπα έκφρασης και λειτουργικής συμπεριφοράς (Εικόνα 3), ενώ παράλληλα έχουν την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με τα κλασικά και μη κλασικά μόρια MHC-I (15). Ειδικά, ο υποδοχέας LILRA3 κωδικοποιείται μόνο σε διαλυτή ισομορφή, χωρίς την παρουσία διαμεμβρανικής και κυτταροπλασματικής περιοχής λόγω εναλλακτικού ματίσματος του mRNA (16). Εκκρίνεται, κυρίως, από μονοκύτταρα / B κύτταρα (17) και επάγει τον πολλαπλασιασμό των Natural Killer (NK) και CD8⁺T κυττάρων, μέσω αλλογενούς ερεθισμού (10).



Εικόνα 2 (Πηγή: Brown D, et al. *Tissue Antigens* . 2004 Sep;64(3):215-25)

Ανασταλτικές και Διεγερτικές ισομορφές ανοσοϋποδοχέων: Έχουν το ίδιο εξωκυττάριο τμήμα αποτελούμενο από 2 ή 4 Ig-like domains και διαφοροποιούνται ως προς το ενδοκυττάριο τμήμα τους, καθιστώντας τα είτε διεγερτικά είτε ανασταλτικά μόρια. Οι ανασταλτικές ισομορφές διαθέτουν μια μακρά ενδοκυττάρια περιοχή που φέρει αλληλουχίες ITIMs (ανασταλτικούς υποδοχείς τυροσίνης), ενώ τα διεγερτικά μόρια διαθέτουν μια διαμεμβρανική μονάδα αργινίνης συνδεδεμένη με μια μικρή σε μήκος ενδοκυττάρια αλυσίδα που περιλαμβάνει αλληλουχίες ITAMs (διεγερτικές αλληλουχίες τυροσίνης), χρησιμοποιώντας σαν συνδιεγερτικό μόριο ένα υποδοχέα τύπου FcRγ

Το σύμπλεγμα των γονιδίων της οικογένειας *LILR* αποτελείται από δύο απλότυπους, που χαρακτηρίζονται από 13 *LILR* και 12 *LILR* αλληλία αντίστοιχα, μια διαφορά της τάξεως των 6.7 kbp, η οποία αντιστοιχεί στη γενετική διαγραφή του γονιδίου *LILRA3*,

με τον μικρότερο απλότυπο να χαρακτηρίζεται από απώλεια των πρώτων επτά από τα οκτώ εξώνια που διαθέτει (18).

	Activating Receptor						Inhibitory Receptors				
	LILRA1	LILRA2	LILRA3	LILRA4	LILRA5	LILRA6	LILRB1	LILRB2	LILRB3	LILRB4	LILRB5
Macrophage			Secreted								
Monocyte			Secreted		CD14+			CD14+		CD14+	
mDC											
pDC											
moDC											
Basophils											
Eosinophils											
T cell										Activated	
B cell											
NK cell											
Osteoclasts											
Breast carcinoma											
Placental stroma											
Endothelial cells											
Placental											
Vascular smooth muscle										HIV+	
Tissue-like memory B cells											
Mast cell granules											intra-cell
Human hematopoietic stem cells											

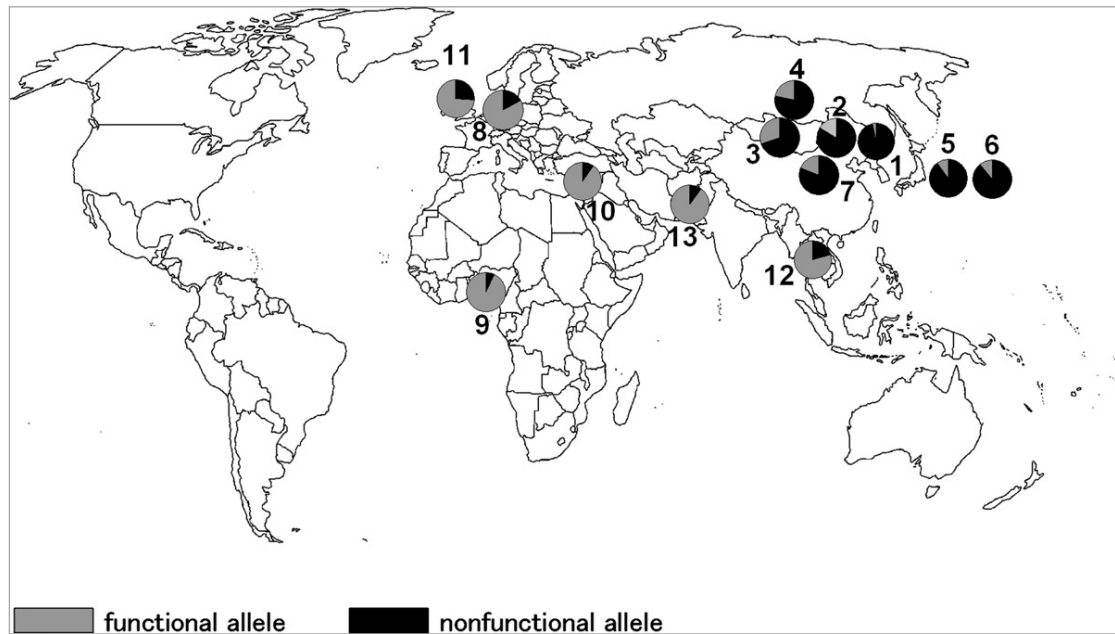
Εικόνα 3 (Πηγή: Hudson LE et al. *Front Immunol* . 2016 Jul 25;7:281)

Πρότυπα έκφρασης ανοσοϋποδοχέων LILR σε διάφορες κυτταρικές σειρές. Οι υποδοχείς σε πράσινο πλαίσιο φαίνεται να συνδέονται σε μόρια MHC-I, ενώ αντίθετα, εκείνοι στο κόκκινο πλαίσιο δεν αλληλεπιδρούν.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει το γεγονός πως οι πολυμορφισμοί του *LILRA3* παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των διαφορετικών φυλών, με τη γενετική διαγραφή (non-functional allele) να επικρατεί στη Βορειοανατολική Ασία (~ 84%), ενώ ο λειτουργικός φαινότυπος (functional allele) - ομόζυγα θετικός (*LILRA3*+/+) να είναι συχνότερος στους Καυκάσιους πληθυσμούς (19) (**Εικόνα 4**). Σε μια Γερμανική κοορτή, η παρουσία της γενετικής διαγραφής συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης SS (9) και NHL (10), ενώ αντίθετα σε Κινέζικο πληθυσμό, η παρουσία του λειτουργικού πολυμορφισμού φάνηκε να αυξάνει την πιθανότητα τόσο για SS όσο και για ΣΕΛ, παράλληλα με παρουσία θετικών anti-Ro(SSA) / anti-La(SSB) αντισωμάτων και λευκοπενία (20,21), παραγόντων, που ως γνωστό, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για SS-λεμφωματογένεση (22,23).

Στην παρούσα μελέτη, σκοπός μας ήταν να διερευνήσουμε αν οι γενετικοί πολυμορφισμοί του *LILRA3* και η αντίστοιχη πρωτεΐνη στον ορό, αυξάνουν την

πιθανότητα για την εκδήλωση λεμφώματος σε πληθυσμό SS ασθενών ελληνικής καταγωγής.



Εικόνα 4 (Πηγή: Hirayasu K. et al, *Am J Hum Genet.* 2008 May;82(5):1075-83)

Γεωγραφική κατανομή της συχνότητας των γενετικών πολυμορφισμών του γονιδίου LILRA3



2. Ασθενείς – Μεθοδολογία

2.1 Πληθυσμιακή Ομάδα – Χαρακτηριστικά

Η παρούσα case - control μελέτη περιελάμβανε 101 SS-Lymphoma (SS-L) περιπτώσεις (92.1% γυναίκες, μέση ηλικία \pm SD: 51.2 \pm 13.3 years) με παρουσία ή ιστορικό λεμφώματος και 301 ασθενείς με πρωτοπαθές SS, που δεν επιπλέκονταν με λέμφωμα ((SS-non-Lymphoma, SS-nL) (92.7% γυναίκες, μέση ηλικία \pm SD: 52.4 \pm 13.8 years). Όλοι οι SS ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια ταξινόμησης 2016 (ACR/EULAR) (24). Επίσης, 381 υγιείς μάρτυρες (HC), παρόμοιας ηλικίας / φύλου / φυλής (89.2% γυναίκες, μέση ηλικία \pm SD: 57.1 \pm 17.3 years) συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Όλοι οι συμμετέχοντες ήταν Καυκάσιας καταγωγής. Κανένας από τους υγιείς μάρτυρες δεν ανέφερε πρόσφατο ή προηγούμενο ιστορικό λεμφώματος. Με βάση την ηλικία εμφάνισης του SS (ορίστηκε η ημερομηνία διάγνωσης του νοσήματος), οι ασθενείς διαχωρίστηκαν σε ομάδες (≤ 40 ετών) και (>40 ετών) και προέκυψαν οι ακόλουθες υποκατηγορίες: SS-nL ασθενείς ≤ 40 ετών ($n = 52$), SS-L ασθενείς ≤ 40 ετών ($n = 23$) και SS-nL ασθενείς >40 years ($n = 249$), SS-L ασθενείς >40 years ($n = 78$). Επιπλέον, ανάλογα με τον αριθμό των κακών προγνωστικών παραγόντων που συγκέντρωναν την στιγμή της διάγνωσης του SS για την εκδήλωση λεμφώματος (διόγκωση σιελογόνων αδένων-SGE, λεμφαδενοπάθεια, φαινόμενο Raynaud, anti-Ro/SSA ή/και anti-La/SSB αντισώματα, θετικός RF, μονοκλωνική γαμμαπάθεια και C4 υποσυμπληρωματιναιμία), οι SS-nL ασθενείς διαχωρίστηκαν επίσης σε ομάδα χαμηλού κινδύνου (≤ 2 κακοί προγνωστικοί παράγοντες) και ενδιάμεσου / υψηλού κινδύνου (3-7 κακοί προγνωστικοί παράγοντες). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα καταγράφηκαν για όλους τους συμμετέχοντες της μελέτης, όπως έχει προηγουμένως περιγραφεί (25). Πραγματοποιήθηκε συλλογή δειγμάτων περιφερικού αίματος του υπό μελέτη πληθυσμού και αποθηκεύτηκαν σε Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) στους -20°C .

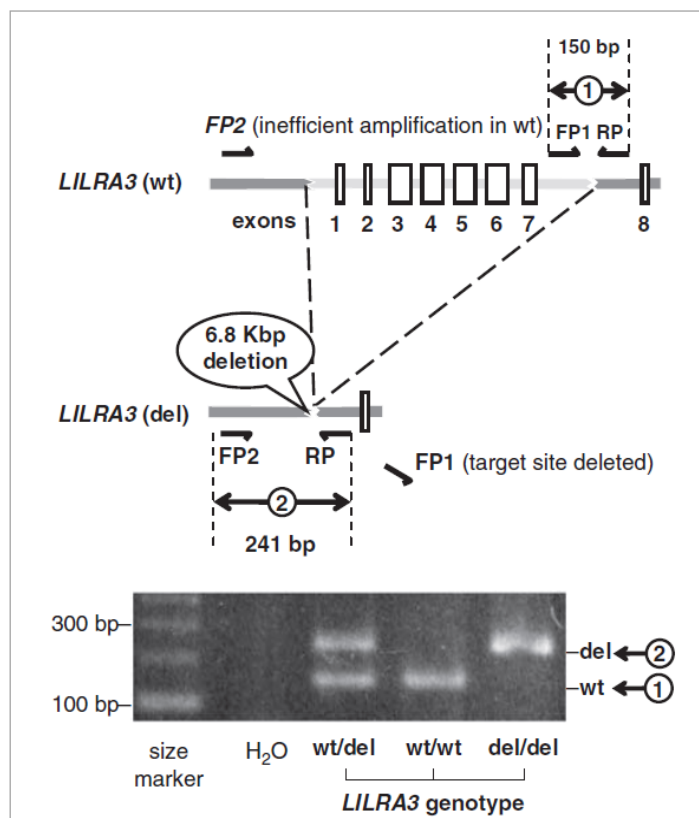
2.2 Απομόνωση DNA

Η απομόνωση του γενετικού υλικού πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αντιδραστηρίου Macherey-Nagel Nucleospin Blood Kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η ποιότητα και η ποσότητα του DNA εκτίμηθηκε με τη βοήθεια φασματομετρίας (Biospec Nano, Japan).

2.3 Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) / Πολυμορφισμοί γονιδίου

LILRA3

Η ανίχνευση των πολυμορφισμών του γονιδίου *LILRA3* πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), σύμφωνα με προηγούμενη περιγραφείσα μέθοδο (26). Στον δοκιμαστικό σωλήνα για κάθε δείγμα DNA χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη τριάδα εκκινήτων: Forward 1 (FW1): 5'-gacttgtaagggttaaaaaagccaa-3'/ Forward 2 (FW2): 5'-catctc gatctg ccactgacac-3'/ REVERSE(R): 5'-gacagcagattctaaaaacagtgg-3'. Το μέγεθος του προϊόντος που προέκυπτε από τον συνδυασμό FW1-R ήταν 150 bp, το οποίο αντιπροσώπευε το πλήρες γονίδιο *LILRA3*. Αντίθετα, ο συνδυασμός των εκκινήτων FW2-R οδηγούσε στην παραγωγή ενός προϊόντος 241 bp, το οποίο δεν περιελάμβανε την περιοχή στόχο του συνδυασμού FW1-R, με αποτέλεσμα να αντιστοιχεί στην γενετική διαγραφή του *LILRA3* (απώλεια των πρώτων 7 από τα 8 εξόνια που διαθέτει) (Εικόνα 5). Αναγνωρίσαμε 3 πολυμορφισμούς του γονιδίου: Ομόζυγα θετικό (λειτουργικό ή wild type, +/+), ετερόζυγη (+/-) και ομόζυγη γενετική διαγραφή (-/-).



Εικόνα 5. (Πηγή: *Ordóñez D et al. Genes Immun. 2009 Sep;10(6): 579-85*)

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) για την ανίχνευση των πολυμορφισμών του γονιδίου *LILRA3*. Τόσο το πλήρες γονίδιο όσο και η γενετική του διαγραφή (ετερόζυγη ή ομόζυγη) ανιχνεύονται στον ίδιο δοκιμαστικό σωλήνα με την τριπλέτα των εκκινήτων FP1 / FP2 / RP.

wt/wt: (+/+)

wt/del: (+/-)

del/del: (-/-)

Τα προϊόντα εκλεκτικής ενίσχυσης της PCR διαχωρίζονται με ηλεκτροφόρηση σε διάλυμα αγαρόζης 2% και αποτυπώνονται με τη βοήθεια βρωμιούχου αιθιδίου.

2.4 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Η ποσοτικοποίηση των επιπέδων της πρωτεΐνης LILRA3 πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του αντιδραστηρίου LILRA3 ELISA kit (Cusabio Technology LLC. Wuhan, China, Catalogue Number, CSB-EL012935HU) σε 85 διαθέσιμα δείγματα ορού από 29 SS-L ασθενείς (16 SS-L \leq 40 ετών, 13 SS-L $>$ 40 ετών), 35 SS-nL ασθενείς (20 SS-nL \leq 40 ετών, 15 SS-nL $>$ 40 ετών) and 21 HC (12 \leq 40 ετών and 9 $>$ 40 ετών). Σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, η ELISA ανιχνεύει διαλυτά επίπεδα της πρωτεΐνης LILRA3, τα οποία κωδικοποιούνται από το λειτουργικό *LILRA3* γονίδιο.

2.5 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των προγραμμάτων SPSSv.25.0 (IBM, Armonk, NY, U.S.) και GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, U.S.), με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας να έχει οριστεί το 0.05. Το Chi square ή Fisher's exact test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση της συχνότητας των διαφόρων πολυμορφισμών του γονιδίου μεταξύ των SS ασθενών και των HC, ενώ για την ανιχνεύση της διαφοράς στα επίπεδα της πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό μεταξύ των διαφόρων πληθυσμιακών ομάδων έγινε χρήση του Mann-Whitney test.



3. Αποτελέσματα

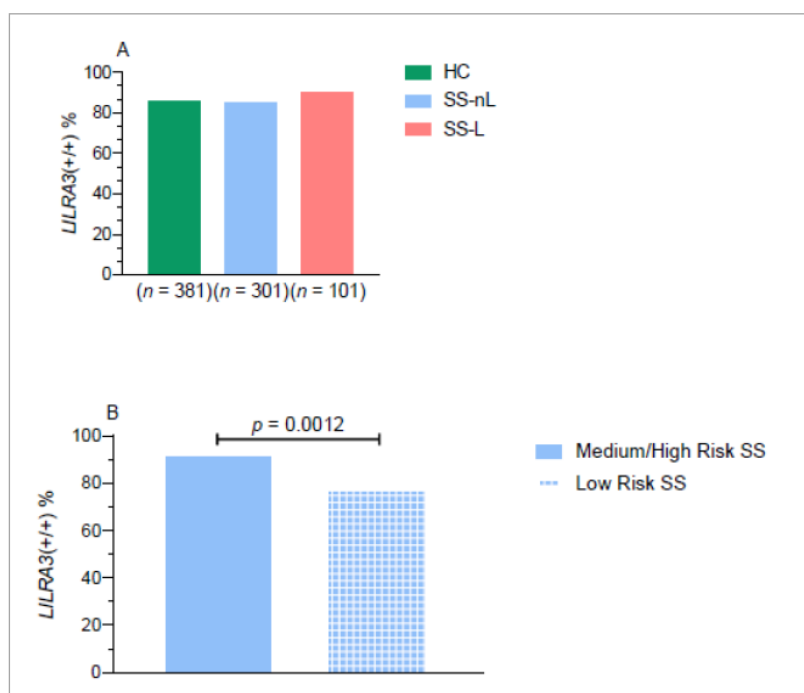
3.1 Συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών του *LILRA3* στους SS ασθενείς και τους HC

Όπως φαίνεται στον **Πίνακα 1.**, δεν βρέθηκε καμία διαφορά στη συχνότητα των γονότυπων του *LILRA3* μεταξύ των HC και των SS υποομάδων (SS-nL/SS-L) (Σχήμα 1A). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον είχε, πως μετά την κατηγοριοποίηση των SS-nL ασθενών σε διάμεσου/υψηλού και χαμηλού κινδύνου υποπληθυσμούς, ο λειτουργικός γονότυπος του *LILRA3* ανιχνεύθηκε σε συχνότητα 91.3% στους διάμεσου/υψηλού κινδύνου SS-nL ασθενείς συγκριτικά με το 78.3% στη χαμηλού κινδύνου SS-nL υποομάδα ($p = 0.0012$, **Σχήμα 1B**).

Πίνακας 1. Συχνότητα των γονότυπων του *LILRA3* μεταξύ των SS υποπληθυσμών και των HC

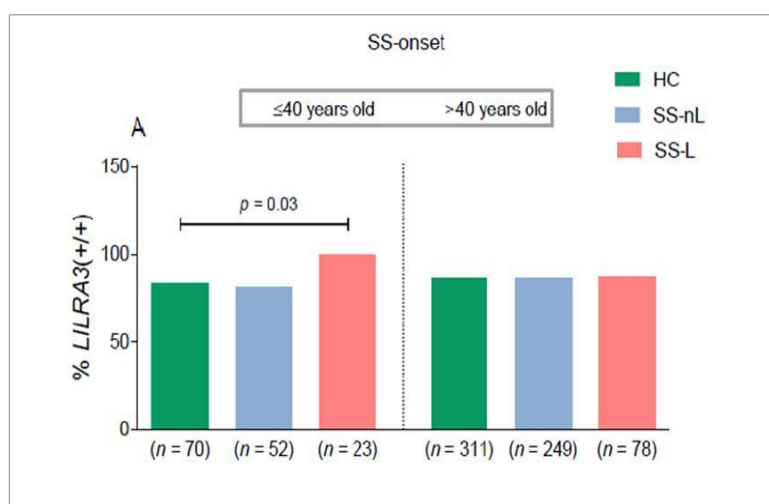
<i>LILRA3</i> Genotype (n, %)	Prevalence of <i>LILRA3</i> Variants		
	HC (n = 381)	SS-nL (n = 301)	SS-L (n = 101)
(+/+)	326 (85.6%)	256 (85.0%)	91 (90.1%)
(+/-)	54 (14.2%)	44 (14.7%)	9 (8.9%)
(-/-)	1 (0.2%)	1 (0.3%)	1 (1%)

LILRA3: leukocyte immunoglobulin-like receptor A3; SS-nL: Sjogren's syndrome non-lymphoma ασθενείς; SS-L: Sjogren's syndrome lymphoma ασθενείς; HC: healthy controls.



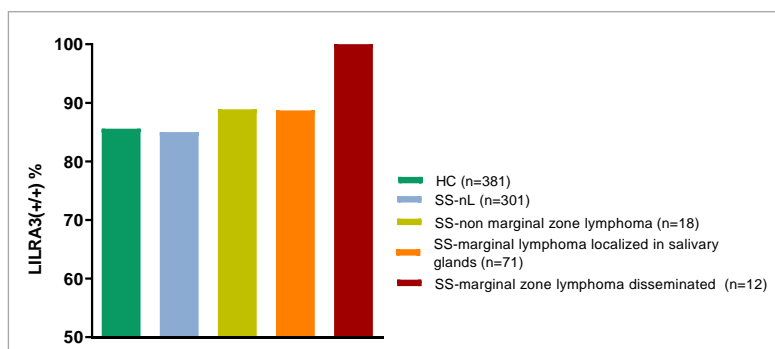
Σχήμα 1. (A) Συχνότητα του λειτουργικού γονότυπου *LILRA3*(+/+) στις SS υποομάδες συγκριτικά με τους HC. (B) Στατιστικά αυξημένη συχνότητα του λειτουργικού γονότυπου *LILRA3*(+/+) στην διάμεσου/υψηλού κινδύνου SS υποομάδα συγκριτικά με την χαμηλού κινδύνου. Κατηγοριοποίηση των SS ασθενών βάσει του αριθμού των κακών προγνωστικών παραγόντων για ανάπτυξη λεμφώματος στη φάση της αρχικής διάγνωσης. (≤ 2 risk factors: low risk, >2 risk factors: medium/high risk.

Λαμβάνοντας υπόψιν προηγούμενες παρατηρήσεις που υποστηρίζουν τη συσσώρευση γενετικών ανωμαλιών σε SS ασθενείς με νεότερη ηλικία έναρξης του νοσήματος και εκδήλωση λεμφώματος (27,28), θέλαμε να ελέγξουμε περαιτέρω, αν η συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών του *LILRA3* είναι αυξημένη και στους SS ασθενείς με ηλικία έναρξης της νόσου ≤ 40 ετών. Πράγματι, μετά την κατηγοριοποίηση αυτή, η SS-L και όχι η SS-nL υποομάδα με ηλικία εμφάνισης της νόσου ≤ 40 ετών παρουσίαζε στατιστικά αυξημένη συχνότητα του wild type γονότυπου συγκριτικά με τους HC παρόμοιας ηλικίας και φύλου (SS-L: 100%, HC: 82.9%, $p = 0.03$). Από την άλλη πλευρά, καμία διαφορά δεν ανιχνεύθηκε στην επίπτωση του *LILRA3* $+/+$ πολυμορφισμού μεταξύ των SS υποπληθυσμών με ηλικία έναρξης της νόσου >40 ετών και τους HC (SS-L: 87.2%, SS-nL: 85.9%, HC: 86.2%, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά, **Σχήμα 2A**).



Σχήμα 2. (A) Επίπτωση του (*LILRA3*+/+) wild type γονότυπου στους HC και τις SS υποομάδες βάση ηλικίας εκδήλωσης του νοσήματος και του ιστορικού λεμφώματος. Στατιστικά αυξημένη συχνότητα του (*LILRA3*+/+) παρατηρείται στους SS-L ασθενείς ≤ 40 ετών συγκριτικά με τους HC. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν ανιχνεύεται στον λειτουργικό γονότυπο μεταξύ των SS υποομάδων και των HC με ηλικία έναρξης του SS >40 ετών.

Βάση κατηγοριοποίησης ανάλογα με τον υπότυπο του λεμφώματος, η συχνότητα του λειτουργικού γονότυπου *LILRA3* $+/+$ ήταν 88.9% σε 18 περιπτώσεις ασθενών με λέμφωμα non-marginal zone (13 περιπτώσεις με DLBCL, 2 με μικρό λεμφοκυτταρικό λέμφωμα, μία με θυλακιώδες-follicular λέμφωμα, μία με οζώδες-nodular λέμφωμα και μία με T-κυτταρικό λέμφωμα), 88.7% με οριακής ζώνης λέμφωμα (MZL) εντοπισμένο στους σιελογόνους αδένες ($n = 71$) και 100% σε SS ασθενείς με μεταστατικό MZL ($n = 12$) (Συμπληρωματικό Σχήμα 1 - **Σχήμα S1**).

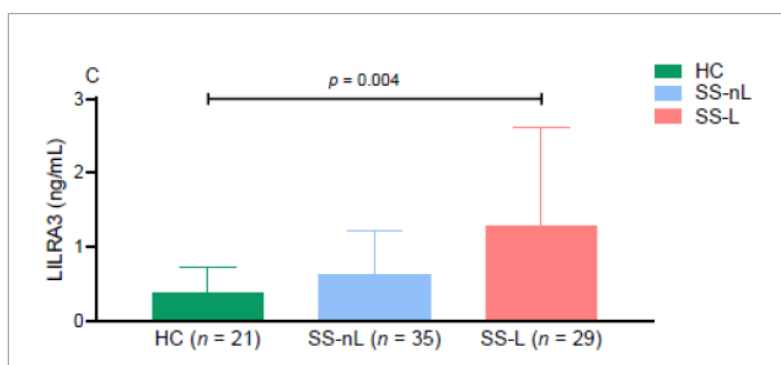


Σχήμα S1.

Αυξημένη συχνότητα του LILRA3+/+ γονότυπου σε ασθενείς με μεταστατικό οριακής ζώνης λέμφωμα, με τη διαφορά που ανιχνεύεται να μην είναι στατιστικά σημαντική

3.2 Επίπεδα πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό

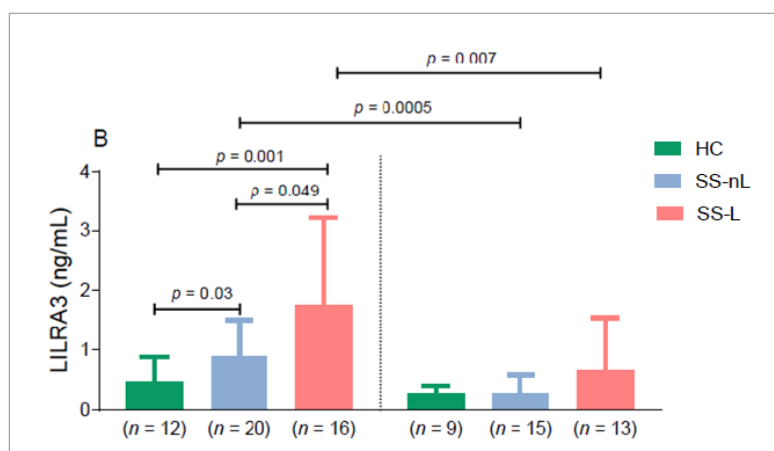
Δεδομένου ότι σε προηγούμενες βιβλιογραφικές αναφορές τα επίπεδα στον ορό της πρωτεΐνης LILRA3 βρέθηκαν να είναι αυξημένα σε ασθενείς με χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις (17,29), θέλαμε και εμείς στη συνέχεια να διερευνήσουμε, αν είναι αυξημένα και στον ορό των SS ασθενών. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 1C**, τα επίπεδα στον ορό της πρωτεΐνης LILRA3 ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στον ορό μόνο των SS-L ασθενών συγκριτικά με τους HC (1.27 ± 1.34 ng/mL vs. 0.38 ± 0.34 ng/mL, p-value: 0.004), χωρίς να ανιχνεύεται στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των SS-nL ασθενών συγκρινόμενοι με τις SS-L και HC υποομάδες (0.63 ± 0.59 ng/mL vs. 1.27 ± 1.34 ng/mL και 0.38 ± 0.34 ng/mL, p-values 0.06 and 0.16, αντίστοιχα).



Σχήμα 1C. Επίπεδα στον ορό της πρωτεΐνης LILRA3 στις υποομάδες των SS ασθενών και τους HC. Παρατηρούνται στατιστικά αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης στους SS-L ασθενείς συγκριτικά με τους HC.

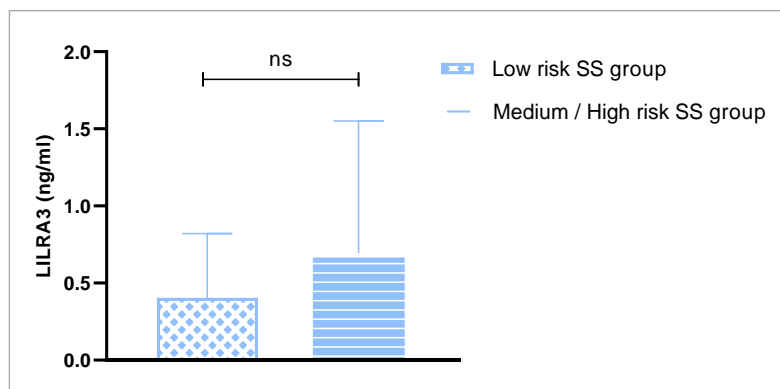
Μετά την κατηγοριοποίηση των SS ασθενών βάση ηλικίας έναρξης της νόσου και το ιστορικό λεμφώματος (**Σχήμα 2B**), οι SS-L και οι SS-nL ασθενείς ≤ 40 ετών, παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό συγκριτικά με τους HC (1.77 ± 1.45 ng/mL και 0.89 ± 0.61 ng/mL vs. 0.46 ± 0.43 ng/mL, p-values 0.001 και 0.03, αντίστοιχα). Τα επίπεδα της πρωτεΐνης ήταν επίσης

αυξημένα στους SS-L ασθενείς συγκριτικά με τους SS-nL, στις υποομάδες ≤ 40 ετών (p-value 0.049). Παρολ' αυτά στους SS υποπληθυσμούς με ηλικία έναρξης της νόσου > 40 ετών, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν ανιχνεύθηκε συγκριτικά με τους HC (SS-L: 0.66 ± 0.89 ng/mL, SS-nL: 0.28 ± 0.30 ng/mL, HC: 0.27 ± 0.14 ng/mL). Σημειωτέον, τα επίπεδα της πρωτεΐνης ήταν αυξημένα με στατιστικά σημαντική διαφορά στους SS-L και στους SS-nL ≤ 40 ετών, συγκριτικά με τις αντίστοιχες υποομάδες > 40 ετών (p-values 0.007 and 0.0005, αντίστοιχα). Καμία διαφορά επίσης δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των HC, ακολουθώντας την ηλικιακή κατηγοριοποίηση.



Σχήμα 2B. Επίπεδα LILRA3 πρωτεΐνης στον ορό των SS ασθενών και των HC, μετά την κατηγοριοποίηση βάση ηλικίας έναρξης της νόσου και το ιστορικό λεμφώματος. Στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα ανιχνεύονται κυρίως στους SS-L ασθενείς ≤ 40 ετών συγκριτικά με τους HC.

Τέλος, παρατηρήθηκε μια τάση για αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό στους διάμεσου/υψηλού κινδύνου SS ασθενείς συγκριτικά με τους χαμηλού κινδύνου, αν και η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική (χαμηλού κινδύνου: 0.40 ± 0.42 ng/mL, διάμεσου/υψηλού κινδύνου: 0.70 ± 0.85 ng/mL) (Σχήμα S2)



Σχήμα S2. Αυξημένα επίπεδα LILRA3 πρωτεΐνης στον ορό των SS ασθενών διάμεσου/υψηλού κινδύνου συγκριτικά με εκείνους χαμηλού κινδύνου. Η διαφορά που προκύπτει δεν είναι στατιστικώς σημαντική

3.3 Λειτουργικός γονότυπος LILRA3 – Κλινικές και εργαστηριακές συσχετίσεις

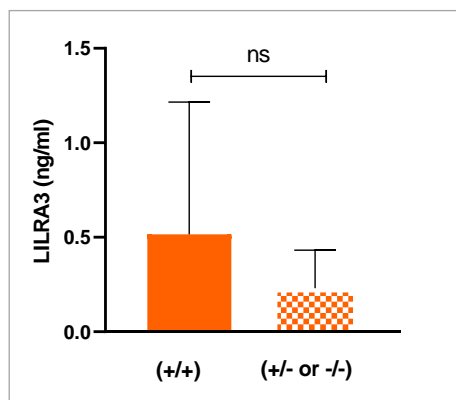
Όπως φαίνεται στον **Πίνακα S1** που ακολουθεί, μεταξύ των SS-L ασθενών, εκείνοι που έφεραν τον λειτουργικό πολυμορφισμό *LILRA3*+/+, παρουσίαζαν αυξημένη συχνότητα anti-Ro/SSA ή/και anti-La/SSB αντισωμάτων, συγκριτικά με εκείνους που είχαν την ομόζυγη ή ετερόζυγη γενετική διαγραφή (89% vs. 60%, $p = 0.03$, αντίστοιχα). Σημειωτέον, αυξημένα επίπεδα στον ορό της πρωτεΐνης LILRA3 βρέθηκαν στο σύνολο των SS ασθενών που είχαν τον wild type γονότυπο, συγκριτικά με εκείνους που είχαν τον μη λειτουργικό πολυμορφισμό, με τη διαφορά όμως να μην είναι στατιστικά σημαντική (**Σχήμα S3**). Τέλος, καμία άλλη σημαντική διαφορά δεν ανιχνεύθηκε μεταξύ των γενετικών πολυμορφισμών του γονιδίου LILRA3 και των λοιπών δημογραφικών, κλινικών ή εργαστηριακών χαρακτηριστικών των SS-L ή SS-nL υποομάδων (**Πίνακας S1**).

Πίνακας S1. Συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών του γονιδίου *LILRA3* στους SS υποπληθυσμούς βάση κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων

LILRA3: Leukocyte immunoglobulin-like receptor A3, SS-nL: Sjogren's Syndrome non-Lymphoma patients, SS-L: Sjogren's Syndrome Lymphoma patients, SGE: Salivary gland enlargement, RF: Rheumatoid factor, WBC: White blood cells

LILRA3 genetic variants n (%)	SS-nL (n= 301)		p-value	SS-L (n= 101)		p-value
	LILRA3 +/+ 256 (85.0)	LILRA3 +/- or LILRA3 -/- 45 (15)		LILRA3 +/+ 91 (90)	LILRA3 +/- or LILRA3 -/- 10 (10)	
Demographics						
Age of sample (years, mean±SD)	58.3 ±13.6	57.6 ±14.2	NS	59.0 ±12.6	63.3 ±11.3	NS
Sex (% female)	93	91.1	NS	93.4	80	NS
Glandular manifestations						
Drymouth subjective (%)	91.7	3.3	NS	98.9	100	NS
Dryeyes subjective (%)	88.2	86.7	NS	93.4	100	NS
SGE (%)	22.1	15.6	NS	65.6	80	NS
Positive Schirmer's test (%)	75.8	70.4	NS	92	100	NS
No of lymphocytic infiltrations per 4mm ² ≥1 (%)	59.6	54.1	NS	78.4	77.8	NS
Systemic manifestations						
Arthritis (%)	21.6	22.2	NS	17.6	40	NS
Raynaud's phenomenon (%)	26.7	22.2	NS	30.8	10	NS
Purpura	11.4	8.9	NS	34.1	30	NS
Laboratory features						
WBC <3000 /mm ³	2.8	0	NS	3.4	0	NS
Anti- Ro/SSA and/or La/SSB (%)	70.8	65.9	NS	89	60	0.03
Positive RF titers (>20IU/ml)	52	54.8	NS	83.7	80	NS
C4 ≤20 mg/dl	49.4	44.2	NS	79.3	66.7	NS
Monoclonal gammopathy	5.7	5	NS	19.8	20	NS
Cryoglobulins	5.5	9.3	NS	41.8	22.2	NS

Σχήμα S3. Αυξημένα επίπεδα στον ορό της πρωτεΐνης LILRA3 σε ασθενείς με τον λειτουργικό γονότυπο (+/+), συγκριτικά με τους (+/- ή -/-) γονότυπους. Η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική



4. Συζήτηση

Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα υπάρχοντα δεδομένα, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που αναδεικνύει την συσχέτιση των γενετικών πολυμορφισμών του γονιδίου *LILRA3* και της αντίστοιχης πρωτεΐνης στον ορό με τον κίνδυνο λεμφοϋπερπλαστικής νόσου στους SS ασθενείς με πρώιμη εκδήλωση νόσου. Πράγματι, η συχνότητα του λειτουργικού γονότυπου *LILRA3*(+/+) φάνηκε να είναι στατιστικά σημαντικά αυξημένη στους SS-L ασθενείς με διάγνωση νόσου σε ηλικία ≤ 40 ετών συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες παρόμοιας ηλικίας και φύλου. Επιπλέον, τα επίπεδα της πρωτεΐνης *LILRA3* στον ορό ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στους SS-L ασθενείς με ηλικία έναρξης νόσου ≤ 40 ετών, συγκριτικά με τους SS ασθενείς χωρίς λέμφωμα ή με τους HC αντίστοιχης ηλικιακής ταξινόμησης. Σημειωτέον, οι διάμεσου/υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη λεμφώματος SS ασθενείς βρέθηκαν, επίσης, να εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα του λειτουργικού *LILRA3*(+/+) πολυμορφισμού, συγκριτικά με την υποομάδα χαμηλού κινδύνου. Τέλος, τα επίπεδα της πρωτεΐνης *LILRA3* στον ορό ήταν στατιστικώς σημαντικά αυξημένα τόσο στους SS-L, όσο και στους SS-nL ασθενείς με πρώιμη διάγνωση νόσου (≤ 40 ετών) σε σχέση με εκείνους που εκδήλωσαν το SS αργότερα στην πορεία της ζωής (>40 ετών).

Η συσχέτιση του λειτουργικού γονότυπου του *LILRA3* με την ανάπτυξη λεμφώματος στο πλαίσιο του SS μεταξύ των ασθενών με πρώιμη διάγνωση της νόσου, ταυτόχρονα με τα αυξημένα επίπεδα της αντίστοιχης πρωτεΐνης στον ορό των SS ασθενών αντίστοιχης ηλικιακής ομάδας (≤ 40 ετών), ενισχύει προηγούμενες παρατηρήσεις μας τόσο σε κλινικό όσο και σε γενετικό επίπεδο. Έτσι, ολόένα και περισσότερα δεδομένα υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός πιο επιθετικού φαινότυπου του SS μεταξύ ασθενών με πρώιμη διάγνωση, υποδεικνύοντας έντονη ανοσολογική δραστηριότητα και ισχυρό φλεγμονώδες υπόβαθρο (30–34). Επιπλέον, η σημειακή μετάλλαξη rs2230926 exonic variant του γονιδίου *TNFAIP3* που κωδικοποιεί την ελαττωματική A20 πρωτεΐνη, παράλληλα με την BAFF-R His159Tyr μετάλλαξη, έχουν ανιχνευθεί σε αυξημένη συχνότητα μεταξύ των νέων SS ασθενών (≤ 40 ετών) που επιλέκονται με την εμφάνιση λεμφώματος (27,28). Έχει φανεί πως και οι δύο παραπάνω μεταλλάξεις συνδέονται με υπερδραστηριότητα του NF-κB μονοπατιού, πυροδοτώντας μια συνεχή ανοσολογική αντίδραση (35), η οποία, όπως έχει ήδη αναφερθεί, αποτελεί κεντρικό παθογενετικό γεγονός της SS-λεμφωματογένεσης.

Δεδομένου ότι τα επίπεδα της LILRA3 πρωτεΐνης έχουν προηγουμένως βρεθεί να είναι αυξημένα στον ορό ασθενών με RA, ΣΕΛ και σκλήρυνση κατά πλάκας (MS) σε σχέση με αυξημένη δραστηριότητα νόσου (17,21) ή σοβαρότητα (29), φαίνεται πως το μόριο LILRA3 μπορεί να συμβάλλει τόσο στην εκδήλωση του SS, όσο και στην ανάπτυξη λεμφώματος στον πληθυσμό των ασθενών με πρόωμη διάγνωση της νόσου, μέσω απορρύθμισης της χρόνιας φλεγμονώδους απόκρισης. Υποστηρικτικά στοιχεία της προηγηθείσας υπόθεσης προκύπτουν από το γεγονός πως η πρωτεΐνη LILRA3 έχει αποδειχθεί να πυροδοτεί την κυτταρική ανοσιακή απάντηση, μέσω πολλαπλασιασμού των κυτταροτοξικών CD8⁺T και NK κυττάρων (10), που έχουν φανεί να σχετίζονται με την παθογένεια του SS (36). Επιπλέον το LILRA3 μόριο έχει ευεργετική επίδραση στην κάθαρση του HIV ιού, πιθανώς μέσω επαγωγής των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (37), αν και υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα που υποστηρίζουν την αντιφλεγμονώδη δράση του συγκεκριμένου υποδοχέα (17,29,38).

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Συγκεκριμένα, αν και η επίπτωση των πολυμορφισμών του *LILRA3* γονιδίου στον ελληνικό πληθυσμό ακολουθεί το Καυκάσιο πρότυπο, φαίνεται τελικά πως η συμβολή του wild type και όχι η γενετική διαγραφή να αυξάνει την επιρρέπεια στην αυτοανοσία. Έτσι ανάλογα με τα δικά μας ευρήματα, ο λειτουργικός γονότυπος και όχι η γενετική διαγραφή έχει συσχετιστεί με διάφορες αυτοάνοσες παθήσεις στον Ασιατικό πληθυσμό, όπως RA (39), αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα (AS) (40), ΣΕΛ και SS (20). Επιπλέον στους Κινέζους βρέθηκε πως το λειτουργικό αλληλόμορφο αύξανε τον κίνδυνο για οροθετικό SS (20). Λαμβάνοντας υπόψιν πως τα αντισώματα έναντι των Ro/SSA και La/SSB αυτοαντιγόνων έχουν οριστεί σαν παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη λεμφώματος (22), στη δική μας μελέτη η συσχέτιση του γονότυπου *LILRA3*(+/+) με την εμφάνιση λεμφώματος στο πλαίσιο του SS, φαίνεται να είναι συμβατή με τα παραπάνω δεδομένα. Αντίθετα, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο σε αυτή τη φάση, γιατί σε άλλους πληθυσμούς Καυκάσιας καταγωγής, όπως σε Γερμανούς (9,41) ή Ισπανούς (26), η *LILRA3* γενετική διαγραφή έχει βρεθεί να είναι παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη SS και MS.

Παρά το γεγονός πως η μελέτη περιλαμβάνει πλήρη στοιχεία για το κλινικό εργαστηριακό και ανοσολογικό φαινότυπο των SS ασθενών, το μέγεθος των SS υποομάδων είναι περιορισμένο για την εξαγωγή πιο ισχυρών δεδομένων, κυρίως λόγω της σπανιότητας των επιπλοκών, κυρίως μεταξύ SS ασθενών με πρόωμη

εκδήλωση του νοσήματος. Τέλος, ο περαιτέρω λειτουργικός χαρακτηρισμός του LILRA3 υποδοχέα είναι επιβεβλημένος, με σκοπό την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών, μέσω των οποίων η χρόνια φλεγμονώδης απόκριση οδηγεί σε ογκογένεση.

Συμπερασματικά, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν τον πιθανό ρόλο του ανοσοϋποδοχέα LILRA3 στην παθογένεια της SS-λεμφοματογένεσης, διαφωτίζοντας μας περισσότερο για την επιθετική φύση του νοσήματος σε ασθενείς με πρώιμη εκδήλωση του SS, χαρακτηριζόμενη από εκσεσημασμένη B κυτταρική δραστηριότητα. Περισσότερες μελέτες και σε πληθυσμούς μεγαλύτερου μεγέθους είναι αναγκαίες για την επιβεβαίωση των ευρημάτων μας και τη διευκρίνιση του ρόλου του μορίου LILRA3 στην επαγωγή της χρόνιας φλεγμονώδους απάντησης σε έδαφος αυτοανοσίας και λεμφοϋπερπλασίας.

Χρηματοδότηση

Η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την Ελληνική Ρευματολογική εταιρεία και το πρόγραμμα HarmonicSS EU - 731944.

Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε βάσει των οδηγιών της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την επιτροπή Βιοηθικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (αριθμός πρωτοκόλλου: 1516031811 / ημερομηνία έγκρισης: 7 Ιουλίου 2016)



Βιβλιογραφία (Ειδικό μέρος)

1. Qin B, Wang J, Yang Z, Yang M, Ma N, Huang F, et al. Epidemiology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2015 Nov;74(11):1983–9.
2. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *Can Med Assoc J*. 2014 Oct 21;186(15):E579–86.
3. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. The geoepidemiology of Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010 Mar;9(5):A305-310.
4. Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2000 Apr;29(5):296–304.
5. Zintzaras E, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2005 Nov 14;165(20):2337–44.
6. Skarlis C, Argyriou E, Mavragani CP. Lymphoma in Sjögren's Syndrome: Predictors and Therapeutic Options. *Curr Treat Options Rheumatol*. 2020 Mar 1;6(1):1–17.
7. Goules AV, Tzioufas AG. Lymphomagenesis in Sjögren's syndrome: Predictive biomarkers towards precision medicine. *Autoimmun Rev*. 2019 Feb;18(2):137–43.
8. Nezos A, Evangelopoulos M-E, Mavragani CP. Genetic contributors and soluble mediators in prediction of autoimmune comorbidity. *J Autoimmun*. 2019 Nov;104:102317.
9. Kabalak G, Dobberstein SB, Matthias T, Reuter S, The Y-H, Dörner T, et al. Association of immunoglobulin-like transcript 6 deficiency with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2009 Oct;60(10):2923–5.
10. Low HZ, Reuter S, Topperwien M, Dankenbrink N, Peest D, Kabalak G, et al. Association of the LILRA3 Deletion with B-NHL and Functional Characterization of the Immunostimulatory Molecule. *PLOS ONE*. 2013 Dec 9;8(12):e81360.
11. Hudson LE, Allen RL. Leukocyte Ig-Like Receptors - A Model for MHC Class I Disease Associations. *Front Immunol*. 2016;7:281.
12. Mitchell A, Rentero C, Endoh Y, Hsu K, Gaus K, Geczy C, et al. LILRA5 is expressed by synovial tissue macrophages in rheumatoid arthritis, selectively induces pro-inflammatory cytokines and IL-10 and is regulated by TNF-alpha, IL-10 and IFN-gamma. *Eur J Immunol*. 2008 Dec;38(12):3459–73.
13. Brown DP, Jones DC, Anderson KJ, Lapaque N, Buerki RA, Trowsdale J, et al. The inhibitory receptor LILRB4 (ILT3) modulates antigen presenting cell phenotype and, along with LILRB2 (ILT4), is upregulated in response to Salmonella infection. *BMC Immunol*. 2009 Oct 27;10:56.
14. Young NT, Waller ECP, Patel R, Roghanian A, Austyn JM, Trowsdale J. The inhibitory receptor LILRB1 modulates the differentiation and regulatory potential of human dendritic cells. *Blood*. 2008 Mar 15;111(6):3090–6.

15. Brown D, Trowsdale J, Allen R. The LILR family: modulators of innate and adaptive immune pathways in health and disease. *Tissue Antigens*. 2004 Sep;64(3):215–25.
16. Jones DC, Roghanian A, Brown DP, Chang C, Allen RL, Trowsdale J, et al. Alternative mRNA splicing creates transcripts encoding soluble proteins from most LILR genes. *Eur J Immunol*. 2009;39(11):3195–206.
17. An H, Chandra V, Piraino B, Borges L, Geczy C, McNeil HP, et al. Soluble LILRA3, a potential natural antiinflammatory protein, is increased in patients with rheumatoid arthritis and is tightly regulated by interleukin 10, tumor necrosis factor-alpha, and interferon-gamma. *J Rheumatol*. 2010 Aug 1;37(8):1596–606.
18. Torkar M, Haude A, Milne S, Beck S, Trowsdale J, Wilson MJ. Arrangement of the ILT gene cluster: a common null allele of the ILT6 gene results from a 6.7-kbp deletion. *Eur J Immunol*. 2000 Dec;30(12):3655–62.
19. Hirayasu K, Ohashi J, Tanaka H, Kashiwase K, Ogawa A, Takanashi M, et al. Evidence for Natural Selection on Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors for HLA Class I in Northeast Asians. *Am J Hum Genet*. 2008 May 9;82(5):1075–83.
20. Du Y, Su Y, He J, Yang Y, Shi Y, Cui Y, et al. Impact of the leucocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) on susceptibility and subphenotypes of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2015 Nov;74(11):2070–5.
21. Du Y, Sun F, Zhou M, Wu X, Sun W, Jiang Y, et al. The expression and clinical significance of different forms of LILRA3 in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2019 Nov;38(11):3099–107.
22. Fragkioudaki S, Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Predicting the risk for lymphoma development in Sjogren syndrome: An easy tool for clinical use. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Jun;95(25):e3766.
23. Quartuccio L, Isola M, Baldini C, Priori R, Bartoloni Bocci E, Carubbi F, et al. Biomarkers of lymphoma in Sjögren's syndrome and evaluation of the lymphoma risk in prelymphomatous conditions: results of a multicenter study. *J Autoimmun*. 2014 Jun;51:75–80.
24. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, 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.
25. Nezos A, Makri P, Gandolfo S, De Vita S, Voulgarelis M, Crow MK, et al. TREX1 variants in Sjogren's syndrome related lymphomagenesis. *Cytokine*. 2019 Jul 18;154781.
26. Ordóñez D, Sánchez AJ, Martínez-Rodríguez JE, Cisneros E, Ramil E, Romo N, et al. Multiple sclerosis associates with LILRA3 deletion in Spanish patients. *Genes Immun*. 2009 Sep;10(6):579–85.
27. Papageorgiou A, Mavragani CP, Nezos A, Zintzaras E, Quartuccio L, De Vita S, et al. A BAFF Receptor His159Tyr Mutation in Sjögren's Syndrome-Related Lymphoproliferation. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Oct 1;67(10):2732–41.

28. Nezos A, Gkioka E, Koutsilieris M, Voulgarelis M, Tzioufas AG, Mavragani CP. TNFAIP3 F127C Coding Variation in Greek Primary Sjogren's Syndrome Patients. *J Immunol Res.* 2018;2018:6923213.
29. An H, Lim C, Guillemin GJ, Vollmer-Conna U, Rawlinson W, Bryant K, et al. Serum Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3) Is Increased in Patients with Multiple Sclerosis and Is a Strong Independent Indicator of Disease Severity; 6.7kbp LILRA3 Gene Deletion Is Not Associated with Diseases Susceptibility. *PLoS One.* 2016;11(2):e0149200.
30. Ostuni PA, Ianniello A, Sfriso P, Mazzola G, Andretta M, Gambari PF. Juvenile onset of primary Sjögren's syndrome: report of 10 cases. *Clin Exp Rheumatol.* 1996 Dec;14(6):689–93.
31. Ramos-Casals M, Cervera R, Font J, García-Carrasco M, Espinosa G, Reino S, et al. Young onset of primary Sjögren's syndrome: clinical and immunological characteristics. *Lupus.* 1998;7(3):202–6.
32. Cimaz R, Casadei A, Rose C, Bartunkova J, Sediva A, Falcini F, et al. Primary Sjögren syndrome in the paediatric age: a multicentre survey. *Eur J Pediatr.* 2003 Oct;162(10):661–5.
33. Virdee S, Greenan-Barrett J, Ciurtin C. A systematic review of primary Sjögren's syndrome in male and paediatric populations. *Clin Rheumatol.* 2017;36(10):2225–36.
34. Goules AV, Argyropoulou OD, Pezoulas VC, Chatzis L, Critselis E, Gandolfo S, et al. Primary Sjögren's Syndrome of Early and Late Onset: Distinct Clinical Phenotypes and Lymphoma Development. *Front Immunol.* 2020;11:594096.
35. Lawrence T. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2009 Dec [cited 2020 Jan 21];1(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2882124/>
36. Tasaki S, Suzuki K, Nishikawa A, Kassai Y, Takiguchi M, Kurisu R, et al. Multiomic disease signatures converge to cytotoxic CD8 T cells in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017 Aug;76(8):1458–66.
37. Low HZ, Ahrenstorf G, Pommerenke C, Habermann N, Schughart K, Ordóñez D, et al. TLR8 regulation of LILRA3 in monocytes is abrogated in human immunodeficiency virus infection and correlates to CD4 counts and virus loads. *Retrovirology.* 2016 Mar 12;13:15.
38. Jung M, Sabat R, Krätzschar J, Seidel H, Wolk K, Schönbein C, et al. Expression profiling of IL-10-regulated genes in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells from psoriatic patients during IL-10 therapy. *Eur J Immunol.* 2004 Feb;34(2):481–93.
39. Du Y, Cui Y, Liu X, Hu F, Yang Y, Wu X, et al. Contribution of functional LILRA3, but not nonfunctional LILRA3, to sex bias in susceptibility and severity of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* 2014 Apr;66(4):822–30.
40. Wang H, Wang Y, Tang Y, Ye H, Zhang X, Zhou G, et al. Frequencies of the LILRA3 6.7-kb Deletion Are Highly Differentiated Among Han Chinese Subpopulations and Involved in Ankylosing Spondylitis Predisposition. *Front Genet.* 2019;10:869.

41. Koch S, Goedde R, Nigmatova V, Epplen JT, Müller N, de Seze J, et al. Association of multiple sclerosis with ILT6 deficiency. *Genes Immun.* 2005 Aug;6(5):445–7.



Περίληψη Διδακτορικής Διατριβής

Τίτλος: Συσχέτιση του γονιδίου LILRA3 με τον κίνδυνο λεμφωματογένεσης σε νεαρούς ασθενείς με σύνδρομο Sjögren

Το πρωτοπαθές σύνδρομο Sjögren (pSS) είναι μία συστηματική αυτοάνοση νόσος, χαρακτηριζόμενη από αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη B-non Hodgkin λεμφώματος. Πρόσφατα στη βιβλιογραφία αναγνωρίστηκε πως η γενετική διαγραφή του γονιδίου *LILRA3* (*Leukocyte immunoglobulin-like receptor A3*) συσχετίστηκε τόσο με τον κίνδυνο λεμφωματογένεσης όσο και με την ανάπτυξη pSS σε πληθυσμό Καυκάσιας καταγωγής, σε αντίθεση με το λειτουργικό γονότυπο που φάνηκε να αυξάνει τον κίνδυνο για εκδήλωση RA, ΣΕΛ και pSS σε Κινέζους ασθενείς. Επιπλέον, η λειτουργική έκφραση του γονιδίου συσχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα της αντίστοιχης LILRA3 πρωτεΐνης στον ορό. Πρόκειται για έναν διαλυτό ανοσοϋποδοχέα που συνδέεται με μόρια του MHC-I, εκκρίνεται από μονοκύτταρα και B λεμφοκύτταρα και επάγει την ανοσολογική απόκριση μέσω κινητοποίησης των NK και CD8⁺T κυττάρων.

Σκοπός της δικής μας case-control μελέτης ήταν να εκτιμήσουμε την συχνότητα των πολυμορφισμών του γονιδίου *LILRA3* καθώς και τα επίπεδα της αντίστοιχης πρωτεΐνης στον ορό ασθενών με pSS και να διερευνήσουμε τους συσχετισμούς που προκύπτουν σε κλινικό και εργαστηριακό επίπεδο.

Στην μελέτη συμμετείχαν 402 ασθενείς με pSS (2016 ACR/EULAR classification criteria) συγκρινόμενοι με 381 υγιείς μάρτυρες, παρόμοιας ηλικίας και φύλου. Οι pSS ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν περαιτέρω βάση της παρουσίας λεμφώματος σε 301 SS-nL (SS-non lymphoma group) και σε 101 SS-L (SS-lymphoma group) ασθενείς. Επιπλέον, βάση ηλικίας έναρξης της νόσου, διαχωρίστηκαν σε ομάδα SS-nL ≤40 ετών ($n = 52$), SS-L ≤40 ετών ($n = 23$) και SS-nL >40 ετών ($n = 249$), SS-L >40 ετών ($n = 78$). Η ανίχνευση των πολυμορφισμών του *LILRA3* πραγματοποιήθηκε με μέθοδο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και προέκυψαν οι ακόλουθοι γονότυποι: ομόζυγη γενετική έκφραση ή λειτουργικός γονότυπος (+/+), ετερόζυγος γενετική διαγραφή (+/-) και ομόζυγος γενετική διαγραφή (-/-). Τα επίπεδα της πρωτεΐνης LILRA3 στον ορό εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο ELISA. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των προγραμμάτων SPSS και GraphPad Prism 8 με το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας να ορίζεται στο 5%.

Σε πρώτη ανάγνωση, δεν βρέθηκε καμία διαφορά στη συχνότητα των γενετικών πολυμορφισμών του *LILRA3* μεταξύ των SS-nL, SS-L και HC πληθυσμιακών ομάδων. Λαμβάνοντας όμως υπόψιν τον ηλικιακό πρότυπο ταξινόμησης, βρέθηκε πως οι SS-L ασθενείς ≤ 40 ετών παρουσίαζαν σε μεγαλύτερη συχνότητα την γενετική έκφραση του *LILRA3* συγκρινόμενοι με τους υγιείς μάρτυρες (SS-L: 100%, HC: 82.9%, $p = 0.03$). Ανάλογα με τα αποτελέσματα σε γενετικό επίπεδο, προέκυψε πως και τα επίπεδα της *LILRA3* πρωτεΐνης στους SS-L ασθενείς ≤ 40 ετών ήταν αυξημένα σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας συγκριτικά με τους SS-nL και HC ≤ 40 ετών (1.77 ± 1.45 ng/mL vs 0.89 ± 0.61 ng/mL vs. 0.46 ± 0.43 ng/mL, p -values 0.049 και 0.001, αντίστοιχα), αλλά και με τους SS-L ασθενείς > 40 ετών (1.77 ± 1.45 ng/mL vs 0.66 ± 0.89 ng/mL $p=0.007$).

Συμπερασματικά, ενώ δεν ανιχνεύθηκε καμία διαφορά μεταξύ των πληθυσμιακών ομάδων των pSS ασθενών με τους HC, εντούτοις βρέθηκε αυξημένη συχνότητα του λειτουργικού γονότυπου *LILRA3* αλλά και της αντίστοιχης πρωτεΐνης στην ομάδα SS-L ≤ 40 ετών. Λαμβάνοντας υπόψιν μας προηγηθείσες βιβλιογραφικές αναφορές που συνδέουν την λειτουργική έκφραση του παραπάνω γονιδίου με την κινητοποίηση της φλεγμονώδους απόκρισης και τον επιθετικότερο κλινικό φαινότυπο των νεαρών pSS ασθενών, τα παρόντα ευρήματα πιθανώς να ενισχύουν την υπόθεση της συμβολής του *LILRA3* στη λεμφωματογένεση που επιτελείται σε ασθενείς με πρόωμη εκδήλωση του pSS, μέσω κινητοποίησης μηχανισμών χρόνιας φλεγμονής.

Summary of MD thesis

Title: Association of LILRA3 gene with lymphomagenesis risk in young SS patients

Primary Sjögren's Syndrome (pSS) is a systematic autoimmune disease, characterized by increased risk for B non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) development. While the deleted variation of the Leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) gene has been identified as a risk factor for both lymphomagenesis and pSS development in Caucasian populations, the functional LILRA3 variant was found to increase susceptibility for Rheumatoid Arthritis (RA), Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and pSS in Chinese population. Moreover functional LILRA3 gene has been linked to increased LILRA3 protein serum levels, as previously reported.

LILRA3 is a soluble immunoreceptor which binds to MHC-I molecules, is secreted by monocytes and B-cells and induces NK and CD8⁺ T cells production, triggering inflammatory responses. The aim of our case-control study was to estimate the prevalence of LILRA3 gene variants, quantitate LILRA3 protein serum levels and explore potential clinical and serological associations in pSS population.

402 patients meeting the classification criteria for pSS (*ACR/EULAR classification criteria, 2016*) and 381 healthy Controls (HC) of similar age and sex distribution all of Greek origin were included. pSS patients were further stratified according to the presence and the type of lymphoma in 301 SS-nL (SS-non Lymphoma group) and in 101 SS-L (Lymphoma) group. On the basis of the age of SS onset, SS patients were further stratified into younger (≤ 40 years) [SS-nL ≤ 40 ($n = 52$), SS-L ≤ 40 ($n = 23$)] and older (>40 years) age of disease onset [SS-nL >40 years ($n = 249$), SS-L >40 years ($n = 78$)]. LILRA3 gene polymorphisms were detected using polymerase chain reaction (PCR). We identified three genetic variations: homozygous-non deleted or functional or wild type type (+/+), heterozygous (+/-) and homozygous deleted (-/-). LILRA3 protein serum levels were measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). All statistical analyses were performed using SPSS and Graphpad Prism 5 and the level of statistical significance was defined to 5%.

There was no difference in the frequency of LILRA3 genetic variants between the whole pSS population and HC. When pSS patients were stratified according to the age of disease onset, only the SS-L group with disease onset ≤ 40 years displayed

statistically significant higher rates of the wild type variant of the LILRA3 gene compared to HC (100% vs 82.9%, $p=0.03$). In line with this observation, LILRA3 protein serum levels were also found to be significantly elevated in SS-L group ≤ 40 years, compared to SS-nL and HC ≤ 40 years (1.77 ± 1.45 ng/mL vs 0.89 ± 0.61 ng/mL vs. 0.46 ± 0.43 ng/mL, p -values 0.049 and 0.001, respectively). Moreover, LILRA3 serum levels were also significantly increased in SS-L group ≤ 40 years compared to those with disease onset later in life (1.77 ± 1.45 ng/mL vs 0.66 ± 0.89 ng/mL $p=0.007$).

While no differences in LILRA3 gene variants were detected between pSS and HC groups, increased rates of the functional wild type LILRA3 gene together with heightened LILRA3 serum protein levels were found in SS-L patients with age of SS onset ≤ 40 years. Given the previously reported role of the LILRA3 functional variant in promoting inflammation and the aggressive clinical phenotypes observed in younger SS individuals, the present findings further support a potential contributory role of the LILRA3 variant in lymphoproliferation related to young onset pSS, through fueling of chronic inflammatory responses.

Βιογραφικό Σημείωμα

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Αργυρίου Ευαγγελία

Πατρώνυμο: Σταύρος

Ημερομηνία Γέννησης: 30 Απριλίου 1983

Τόπος Γέννησης: Αθήνα

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

09/1998 - 07/2001

Απολυτήριο Λυκείου (βαθμός απολυτηρίου 19,6) / 2ο Ενιαίο Λύκειο Λιβαδειάς, Λιβαδειά

09/2001 - 07/2007

Εκπαίδευση στην Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων / Βαθμός Πτυχίου: 8,08

09/2015 - 02/2018

Συμμετοχή στον 3ο Διαπανεπιστημιακό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης στη Ρευματολογία, Αμφιθέατρο Παθολογικής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

09/01/2020 - έως σήμερα

Επικουρική Ιατρός Ρευματολογίας / Ρευματολογικό Τμήμα / ΓΝΑ Σισμανόγλειο

07/11/2018 - 06/11/2019

Επικουρική Ιατρός Ρευματολογίας / Ρευματολογικό Τμήμα / ΓΝΑ Σισμανόγλειο

10/06/2014 - 06/11/2018

Ειδικεύομενη Ιατρός Ρευματολογίας / Ρευματολογική Κλινική / Γενικό Νοσοκομείο “Ασκληπιείο Βούλας, Αθήνα

25/05/2011 - 05/03/2013

Ειδικεύομενη Ιατρός Παθολογίας / Παθολογική Κλινική / Γενικό Νοσοκομείο
Πατησίων, Αθήνα

9/07/2009 - 21/09/2010

Αγροτικός Ιατρός (Υπηρεσία υπαίθρου) / Άγρονο Περιφερικό Ιατρείο Ανατολικής /
ΚΥ Πραμάτων

10/04/2009 - 09/07/2009

Τρίμηνη εκπαίδευση-ισόχρονη τοποθέτηση σε Παθολογική και Χειρουργική κλινική /
Γενικό Νοσοκομείο “Χατζηκώστα”, Ιωάννινα

08/2007 - 1/2009

Εθελοντική εργασία στη Ρευματολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου
Ιωαννίνων

2002 - 2003

Εθελοντική εργασία στο Τμήμα Ανατομίας (βοηθός) / Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο
Ιωαννίνων, Ιωάννινα

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1) Chatzikyriakidou A, Georgiou I, Voulgari PV, Georgiadis AN, **Argyriou ES**,
Drosos AA. Glucocorticoid receptor variants may predispose to rheumatoid arthritis
Susceptibility.

Scand J Rheumatol. 2009 Jan-Feb;38(1):1-5

2) Tsifetaki N, Botzoris V, Alamanos Y, **Argyriou E**, Zioga A, Drosos AA.
Bosentan for digital ulcers in Patients with Systemic Sclerosis, a prospective 3-year
follow up study. *J Rheumatol. 2009 Jul;36(7):1550-2*

3) Tsifetaki N, Botzoris V, Alamanos Y, **Argyriou E**, Zioga A, Drosos AA.
Bosentan for digital ulcers in Patients with Systemic Sclerosis, a prospective 3-year
follow up study. *Arthritis & Rheumatism, Volume 58, number 9 (supplement) -
September 2008 (1785)*

4) **Argyriou E**, Roussos P, Nezos A, Venetsanopoulou AI, Boki K, Tzioufas AG,
Moutsopoulos HM and Mavragani C.

Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3): A Novel Marker for Lymphoma Development among Patients with Young Onset Sjogren's Syndrome
February 2021, Journal of Clinical Medicine 10(4):644

5) Charalampos Skarlis, **Evangelia Argyriou**, Clio P. Mavragani
Lymphoma in Sjögren's Syndrome: Predictors and Therapeutic Options.
Curr Treat Options in Rheum 6, 1-17 (2020)

6) Konstantinos Thomas, **Evangelia Argyriou**, Noemin Kapsala, Alexandros Panagiotopoulos, Aglaia Chalkia, Emilia Hadziyannis, Kyriaki Boki, Pelagia Katsimbri, Dimitrios T Boumpas, Panagiota Giannou, Dimitrios Petras, Dimitrios Vassilopoulos
Serious infections in ANCA-associated vasculitides in the biologic era: real-life data from a multicenter cohort of 162 patients
Arthritis Res Ther. 2021 Mar 20;23(1):90

7) Vasiliki Koulouri, Adrianos Nezos, Nikolaos Marketos, **Evangelia Argyriou**, Kyriaki Boki, Dimitrios Ioakimidis, Michalis Koutsilieris, Clio P Mavragani
The Role of Novel Autoantibodies in the Diagnostic Approach and Prognosis of Patients with Raynaud's Phenomenon
December 2020 Mediterranean Journal of Rheumatology 31(4):427

8) Konstantinos Thomas, Argyro Lazarini, Evripidis Kaltsonoudis, Paraskevi V Voulgari, Alexandros A Drosos, Argyro Repa, Ainour Molla Ismail Sali, Prodromos Sidiropoulos, Panagiota Tsatsani, Sousana Gazi, **Argyriou Evangelia**, Kyriaki A Boki, Pelagia Katsimbri, Dimitrios Boumpas, Kalliopi Fragkiadaki, Maria G Tektonidou, Petros P Sfikakis, Konstantina Karagianni, Lazaros I Sakkas, Eleftheria P Grika, Panagiotis G Vlachoyiannopoulos, Gerasimos Evangelatos, Alexios Iliopoulos, Theodoros Dimitroulas, Alexandros Garyfallos, Konstantinos Melissaropoulos, Panagiotis Georgiou, Maria Areti, Constantinos Georganas, Periklis Vounotrypidis, Georgios Georgiopoulos, George D Kitas, Dimitrios Vassilopoulos
Incidence, risk factors and validation of the RABBIT score for serious infections in a cohort of 1557 patients with rheumatoid arthritis
Rheumatology (Oxford). 2021 May 14;60(5):2223-2230

9) Panopoulos S, Thomas K, Georgopoulos G, Boumpas D, Katsiari C, Bertias G, Drosos AA, Boki K, Dimitroulas T, Garyfallos A, Papagoras C, Katsimbri P,

Tziortziotis A, Adamichou C, Kaltsonoudis E, **Argyriou E**, Vosvotekas G, Sfikakis PP, Vassilopoulos D, Tektonidou MG.

Comparable or higher prevalence of comorbidities in antiphospholipid syndrome vs rheumatoid arthritis: a multicenter, case-control study

Rheumatology (Oxford) . 2021 Jan 5;60(1):170-178

10) Konstantinos Thomas, Alexandros Panagiotopoulos, Aggelos Banos, **Evangelia Argyriou**, Kyriaki Boki, Dimitrios Boumpas, Dimitrios Vassilopoulos

Development of an ANCA-Associated Vasculitides Patient Registry in Greece

Mediterr J Rheumatol . 2020 Mar 31;31(1):84-86

11) Christina Maria Flessa*, **Evangelia Argiriou*** and Clio P. Mavragani (* **equally contributed**)

Type I Interferonopathies: From Pathophysiology to Clinical Expression

(**book chapter 10, pages 125-145**)

Auto-Inflammatory Syndromes, Springer Nature Switzerland AG 2019 125 / P.

Efthimiou (ed.),

https://doi.org/10.1007/978-3-319-96929-9_10

ΣΥΝΕΛΠΙΑ-ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

1) Tsifetaki N, Botzoris V, Alamanos Y, **Argyriou E**, Zioga A, Drosos AA

Bosentan for Digital Ulcers in Patients with Systemic Sclerosis, A prospective 3-year Follow up study / *Arthritis & Rheumatism, Volume 58, number 9 (supplement) -*

September 2008

ACR 2008 / San Francisco, USA, 24-29 Οκτωβρίου 2008

2) Τσιφετάκη Ν., Μποτζώρης Β., Αλαμάνος Ι., **Αργυρίου Ε.**, Ζιώγα Α., Δρόσος ΑΑ

Η χρήση του Bosentan στη θεραπεία των δακτυλικών ελκών σε ασθενείς με

συστηματική σκλήρυνση / **20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας 2008, 26-29**

Νοεμβρίου 2008

3) **Αργυρίου Ε.**, Ρούσσος Π., Νέζος Α., Μποκή Κ., Μαυραγάνη Κ.

Συσχέτιση γενετικής έκφρασης του γονιδίου LILRA3 με τον κίνδυνο

λεμφωματογένεσης σε νεαρούς ασθενείς με σύνδρομο Sjogren, (*Mediterranean*

Journal of Rheumatology 2018: AΠ04)

26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας 2018, 6-9 Δεκεμβρίου 2018

4) **Αργυρίου Ε.**, Ρούσσος Π., Νέζος Α., Μποκή Κ., Μαυραγάνη Κ.
Συσχέτιση γενετικής έκφρασης του γονιδίου LILRA3 με τον κίνδυνο
λεμφωματογένεσης σε νεαρούς ασθενείς με σύνδρομο Sjogren (*Τόμος περιλήψεων,*
άρθρο:166)

45ο Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 2019, 15-18 Μαΐου 2019, Προφορική Ανακοίνωση

5) **Argyriou E**, Roussos P, Nezos A, Venetsanopoulou AI, Boki K, Tzioufas AG,
Moutsopoulos HM and Mavragani CP / Association of LILRA3 gene with
Lymphomagenesis risk in young SS patients
Eular 2019, 12-15 June, Madrid-Spain

6) **Αργυρίου Ε.**, Καμπυλαυκά Ε., Δανιά Β., Μποκή Κ.
Αναδρομική μελέτη ασθενών με ANCA αγγειίτιδα - μακροχρόνια παρακολούθηση
και αξιολόγηση θεραπευτικού αποτελέσματος - προγνωστικοί παράγοντες
5η Δημερίδα / Αγγειίτιδες, 27-28 Σεπτεμβρίου 2019, Προφορική Ανακοίνωση

ΒΡΑΒΕΙΑ

20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας- 2008 / 1ο Βραβείο – Κλινική Έρευνα
Η χρήση του Bosentan στη θεραπεία των δακτυλικών ελκών σε ασθενείς με
συστηματική σκλήρυνση

27ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας – 2020 / 1ο Βραβείο – Κλινική Έρευνα
Πολυκεντρική Μελέτη Καταγραφής των σοβαρών λοιμώξεων σε ασθενείς με ANCA-
σχετιζόμενες αγγειίτιδες, δεδομένα από 162 ασθενείς

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

1. "Μελέτη της φυσικής πορείας, εμφάνισης σοβαρών λοιμώξεων και
αποτελεσματικότητας της σύγχρονης θεραπευτικής στρατηγικής σε ασθενείς με
ANCA-αγγειίτιδες μέσω της δημιουργίας ηλεκτρονικού μητρώου καταγραφής
(registry)"

Συνεργαζόμενα κέντρα: Ιπποκράτειο - Βασιλόπουλος Δ., Αττικό: Μπούμπας Δ.,
Σισμανόγλειο: Μποκή Κ. / Συνερευνητής Σισμανογλείου: **Ευαγγελία Αργυρίου**

2. " Η συμβολή γενετικών παραγόντων στη λεμφωμαγένεση σχετιζόμενη με το σύνδρομο Sjogren" / *Κύριος ερευνητής: Κλειώ Π. Μαυραγάνη*
Κύριοι ερευνητές συνεργαζόμενων κέντρων: ΧΜ Μουτσόπουλος, Α.Τζιούφας, Μ.Βουλγαρέλης, Κ.Μποκή, Φ. Γραβάνη
Συνερευνητές: Μιχάλης Κουτσιλιέρης, Νέζος Αδριανός, Νικόλαος Βλαχόγιαννης, Φάνης Καράγεωργας, **Ευαγγελία Αργυρίου**, Ευαγγελία Ζαμπέλη, Σοφία Φραγκιουδάκη, Ελιόνα Γκικόκα, Παναγιώτα Μακρή

ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (Ομιλήτρια)

1. Παρουσίαση θέματος "Ρευματολογικές Εκδηλώσεις στα Καλοήθη Αιματολογικά Νοσήματα

8ο Ετήσιο Επιστημονικό Συμπόσιο ΕΠΕΜΥ: 21-24 Απριλίου 2016, Κολυμπάρι Χανίων

2. Παρουσίαση περιστατικού: "RA και εκδήλωση νεφρωσικού συνδρόμου"

9ο Κρητοκυπριακό συμπόσιο Ρευματολογίας: 20-22 Οκτωβρίου 2017, Λεμεσός

3. Παρουσίαση περιστατικών: " Αγγειίτιδες "

10 Ετήσιο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο ΕΠΕΜΥ: 27/4 - 1/5/2018, Πόρτο Χέλι

4. Παρουσίαση περιστατικού: Ασθενής με εμπύρετο και νεφρωσικό σύνδρομο (IgA αγγειίτιδα)

4η Διημερίδα / Αγγειίτιδες: 28-29 Σεπτεμβρίου 2018, Αθήνα

5. Παρουσίαση περιστατικού: "ΣΕΛ και οξεία νεφρική ανεπάρκεια"

2ο Σχολείο Συστηματικού ερυθματώδους Λύκου: 1-2 Δεκεμβρίου 2018, Αθήνα

6. Παρουσίαση περιστατικού: Ασθενής με εικόνα Ρευματικής Πολυμυαλγίας και ΟΝΑ (οζώδης πολυαρτηρίτιδα)

9ο Κρητοκυπριακό συμπόσιο Ρευματολογίας: 9-11 Νοεμβρίου 2018, Χανιά

7. Παρουσίαση Περιστατικού: Overlap GPA αγγειίτιδας και IgG4 συνδρόμου

Εαρινές ημέρες Ρευματολογίας: 31/5 - 2/6/2019, Καλαμάτα

8. Συστάσεις για την αντιμετώπιση των αγγειιτίδων μεγάλου μεγέθους

Εαρινές ημέρες Ρευματολογίας 2020 (webinar): 4-6 Σεπτεμβρίου 2020

9. Θεραπεία μεγάλου μεγέθους αγγειίτιδων(EULAR - BSR)

6^η Διημερίδα Αγγειίτιδες: 18-19 Σεπτεμβρίου 2020

10. Συνάντηση με τον Ειδικό Π (παρουσίαση περιπτώσεων ασθενών)

27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας: 10-13 Δεκεμβρίου 2020

11. Συζήτηση περιστατικού: Γυναίκα με εμπύρετο και θωρακαλγία

Εαρινές ημέρες Ρευματολογίας 2021: 28-30 Μαΐου 2021

12. Παρουσίαση περιστατικών με GCA

Πανελλήνιο Θερινό Συμπόσιο Μυοσκελετικής Υγείας: 24-27 Ιουνίου 2021



Lymphoma in Sjögren's Syndrome: Predictors and Therapeutic Options

Charalampos Skarlis, PHARM.D¹

Evangelia Argyriou, MD^{1,2}

Clio P Mavragani, MD^{1,3,4,*}

Address

¹Department of Physiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

²Rheumatology Unit, Sismanogleio General Hospital, Athens, Greece

³Department of Pathophysiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

^{*,4}Joint Academic Rheumatology Program, Medical School, National and Kapodistrian, University of Athens, Athens, Greece

Email: kmauragan@med.uoa.gr

© Springer Nature Switzerland AG 2020

This article is part of the Topical Collection on *Other CTD: Inflammatory Myopathies and Sjogren's*

Keywords Sjögren's syndrome · Lymphoma risk · Biomarkers · Treatment

Abstract

Purpose of review Sjögren's syndrome (SS) is a chronic systemic disorder of autoimmune origin characterized by impaired secretory function of the exocrine glands and a high susceptibility for non-Hodgkin's lymphoma development. The aim of the present review is to summarize the main clinical and molecular contributors of lymphoma development in the setting of SS and discuss current therapeutic options.

Recent findings Male sex, earlier SS onset, systemic features including salivary gland enlargement, purpura, lymphadenopathy, Raynaud's phenomenon, tongue atrophy, auto-antibody production, depressed C4 complement levels, monoclonal gammopathy, and cryoglobulinemia are the main features denoting a high-risk SS phenotype for the practicing clinician. Additional molecular markers involving innate immune pathways, B cell activation, and epigenetic alterations have been recently revealed. For the treatment of SS-related lymphoma, the basic principles for treatment of lymphomas in general are applied.

Summary Identification of predictors for lymphoma development in the setting of SS is of crucial importance for a prompt diagnosis and early therapeutic intervention. Moreover, discovery of novel genetic and epigenetic contributors through international collaborative efforts will allow a better understanding of underlying molecular pathways and establishment of tailored treatment approaches for these patients.

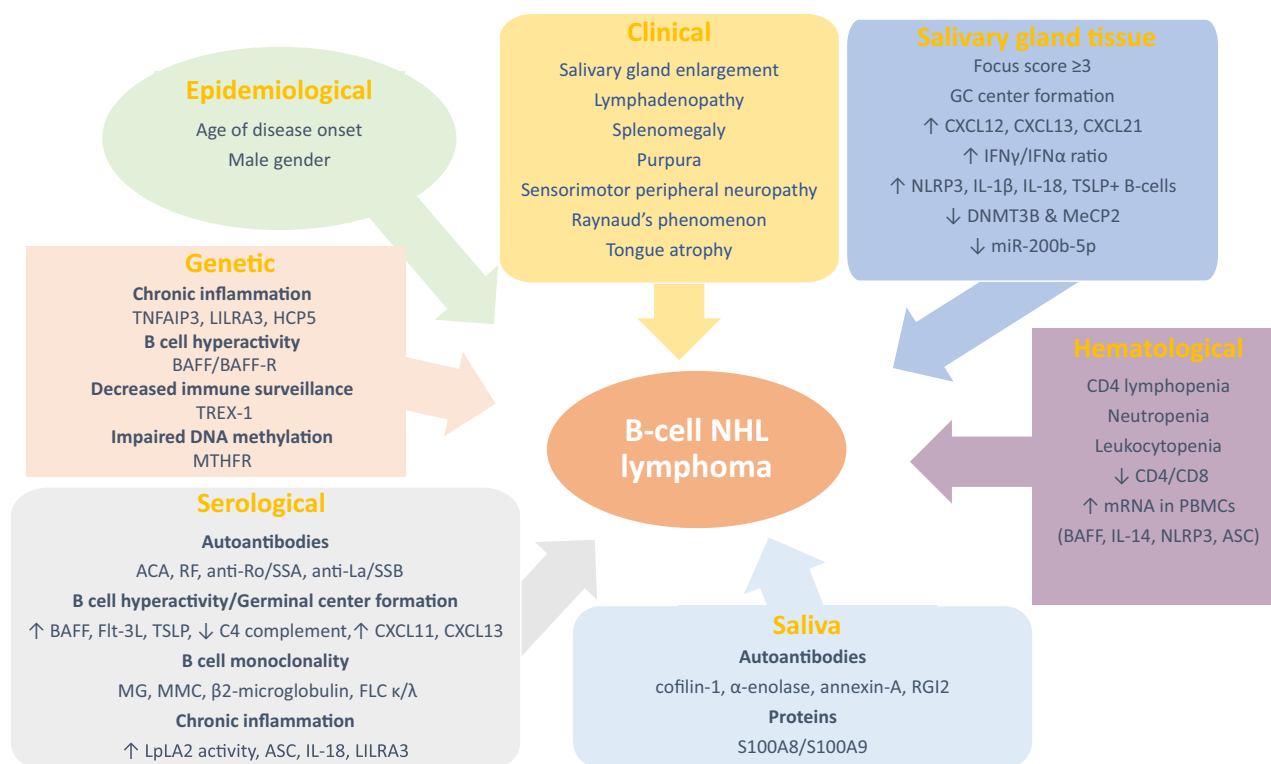


Fig. 1. An overview of clinical and molecular contributors of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. ↑: increased; ↓: reduced; rheumatoid factor: RF; tumor necrosis factor- α induced protein 3: TNFAIP3; B cell activating factor: BAFF; B cell activating factor receptor: BAFF-R; Interferon α/γ : IFN α/γ ; three prime repair exonuclease 1: TREG-1; leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 3: LILRA3; Major histocompatibility complex P5 gene: HCP5; methylene tetrahydrofolate reductase: MTHFR; DNA methyltransferase 3B: DNMT3B; methyl CpG binding protein 2: MeCP2; peripheral blood mononuclear cells: PBMCs; Rho GDP-dissociation inhibitor 2: RGI2; Extracellular lipoprotein-associated phospholipase A2: Lp-PLA2; free light chains κ/λ : FLC κ/λ ; Fms-like tyrosine kinase 3 ligand: Flt-3 L; chemokine (C-X-C motif) ligand 11/12/13/21: CXCL11/12/13/21 NOD-like receptors containing pyrin domain 3: NLRP3; apoptosis-associated speck-like protein containing C-terminal caspase recruitment domain [CARD]:ASC; Thymic stromal lymphopoietin: TSLP; monoclonal gammopathy: MG; mixed monoclonal cryoglobulinemia: MMC; anti-centromere antibodies: ACA

Introduction

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic systemic autoimmune disorder, with a prevalence of about 0.5% in the general population affecting primarily perimenopausal women (at a ratio of women to men of 9: 1) [1, 2]. SS can occur alone in the absence of a concomitant autoimmune disorder (primary SS) or can be associated with other autoimmune diseases [3]. As a result of lymphocytic infiltration and inflammation in exocrine glands, mucosal dryness ensues, mainly manifested by dry

mouth and dry eyes [1]. Beyond sicca and musculoskeletal complaints, other systemic manifestations arising from lung, liver, kidney and nervous system involvement can be also present [4]. B cell hyperactivity expressed as hypergammaglobulinemia along with the presence of specific serum autoantibodies (against ribonucleoproteins) represents a disease hallmark [1]. The most severe complication of SS is the development of mainly B cell-driven, Non-Hodgkin lymphoma (NHL)

[4], estimated to occur in 5–10% of SS patients, conferring the highest susceptibility among all autoimmune disorders [5].

Local immunocomplexes formation at level of ectopic germinal-like centers (EGCs) in salivary glands has been proposed to stimulate polyclonal B cells to secrete rheumatoid factor (RF), ultimately leading to monoclonal and malignant transformation possibly aided by amplifying growth factors [6•]. The most common type of NHL in the context of SS is extra nodal marginal zone (MZ) mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma affecting approximately 65% of the whole SS population affected by lymphoma [7]. Other marginal and non-marginal zone lymphomas have been also described including splenic and nodal MZ, as well as lympho-plasmacytoid and diffuse large B cell (DLBC) lymphomas [8, 9]. SS-related MALT lymphomas affect mainly parotid and sub-mandibular salivary glands (SGs) – the major disease target organs – and follow an indolent course in the majority of cases; however, nasopharynx, pulmonary and

gastrointestinal involvement needs to be excluded [6•]. Though the traditional view considers lymphoma development as the end result of a long-lasting inflammatory process in the SS salivary glands, a growing body of evidence supports an adverse profile present early in disease course. Thus, over the last decades, it has been well appreciated that young disease onset along with specific clinical and serological features are strong predictors for aggressive disease phenotypes, characterized by systemic involvement and profound B cell hyperactivity [10, 11]. These findings imply that inherent genetic contributors might play a key role in lymphomagenic events observed in the setting of SS and fueled international research efforts to identify gene variations with functional implications in chronic inflammation and B cell activation. The aim of the present review is to summarize the main epidemiological, clinical, serological, histological, and genetic biomarkers which have been proposed as potential predictors for lymphoma development in the setting of SS (Fig. 1) [12••].

Epidemiological Markers

An increasing body of evidence supports an association between younger disease onset (age < 35 years) with systemic features and presence of autoantibodies [11, 13–15], which have been previously shown to be adverse predictors for lymphoma development [15, 16•, 17]. However, direct evidence of association between age of SS onset and lymphoma development remains to be established [19–22]. Male gender has been also shown to be a strong risk factor for lymphomagenesis [23–29], an observation confirmed in a recent study involving 1300 patients fulfilling the American-European Consensus Group (AECG) 2002 criteria for SS in which the standardized incidence ratio (SIR) for NHL was higher in men than women (18 vs 5). This observation was also confirmed for the rest of hematological cancers (multiple myeloma: 43 vs 36 and Hodgkin lymphoma: 59 vs 16) [30].

Clinical Markers

Salivary gland enlargement, especially parotid enlargement [8, 16, 18, 23, 29, 31–34] is consistently reported as a main predictive factor leading to lymphoma development, firstly reported in 1978 by Kassan SS et al. [35]. Of interest, a recent multicenter study revealed that isolated salivary gland swelling without the presence of certain serological biomarkers (cryoglobulins, leukopenia, positive anti-La/SSB antibodies) was not

associated with lymphoma development [36]. Diffuse lymph nodes swelling along with splenomegaly are also well-known systemic manifestations linked to increased risk for non-MZ lymphomas, while regional localization is mainly associated with MALT type [37]. Palpable purpura, the most common form of cutaneous vasculitis seen in SS [38], usually manifested as a non-blanching purpuric rash is among the identified predictors for increased morbidity [16•, 17–19] and lymphoma-related mortality [39] in SS patients. Both sensorimotor and sensory axonal neuropathies have been previously shown to be related to markers of polyclonal B cell hyperactivity such as autoantibodies and hypergammaglobulinemia [40, 41]. Of interest, the majority of sensorimotor neuropathies have been associated with features denoting monoclonal B cell hyperactivity such as mixed cryoglobulinemia, monoclonal gammopathy, and abnormal κ/λ -free light chain ratio together with extra-glandular manifestations [33, 40, 41]. Raynaud's phenomenon as well as excessive atrophy and tongue fissuring have been also recently recognized as independent risk factors for lymphoma development [16•, 42, 43, 44•]. Finally, SS disease activity as assessed by the EULAR SS disease activity index (ESSDAI) tool has been viewed as a determinant for increased mortality in the setting of SS [7, 45]. In order to formulate an easy predicting tool for use in clinical practice, an algorithm based on 7 independent clinical and serological predictors present at disease diagnosis was constructed and included salivary gland enlargement (SGE), lymphadenopathy, Raynaud's phenomenon, anti-Ro/SSA or/and anti-La/SSB antibodies, RF positivity, monoclonal gammopathy, and C4 hypocomplementemia. Thus, patients presenting with less than 2 of above predictive markers had a probability for NHL development of 3.8%, those with 3 to 6 risk factors 39.9%, while those with all 7 markers reached 100% risk [16•].

Salivary Gland tissue Markers

The main histopathological finding in SS patients is periductal aggregation of lymphocytes in target tissues such as salivary or lacrimal glands. Focus score (FS) is the principal histological criterion used to diagnose SS, defined by the presence of an aggregation of at least 50 lymphocytes per 4mm^2 [46]. Recent data indicate that the extent of lymphocytic infiltration in SGs is a strong independent risk factor for lymphoma development [47–49], with $\text{FS} \geq 3$ increasing the risk by almost 15 times [48]. Another important histopathological feature of MALT lymphoma is the presence of lymphoepithelial tissue lesions surrounded by malignant high proliferative B cells expressing the immunoreceptor Fc receptor-like protein 4 (FcRL4 or IRTA1) [50]. Increased number of intraepithelial FcRL4+ B cells – especially in parotid glands – along with higher immunohistochemical and mRNA expression of FcRL4 was observed in salivary gland tissues derived from SS and SS MALT patients, respectively, compared to sicca controls [51]. Since FcRL4 expression has been previously linked to MZL development [52] and rheumatoid arthritis (RA) [53], the presence of FcRL4+ B cells in SS SGs could be predictive for the development of MALT, especially in parotid glands.

In targeted organs, lymphocyte infiltrations form secondary structures resembling EGCs, previously linked to higher disease activity, autoantibody production, and increased probability for lymphoma development [54–56], though the latter association has been debated in recent reports [57, 58]. Of interest, chemokines CXCL12, CXCL13, CCL21, or activation-induced cytidine deaminase (AID) have been shown to be upregulated in SGs characterized by EGC formation [59, 60], or lymphoma development [61]. Further support for a role of chronic inflammation in SS-related lymphomagenesis comes from several salivary gland tissue studies revealing an upregulation of inflammatory molecules [62, 63, 64••] as well as dampened A20 expression (a negative regulator of chronic inflammation) in SS complicated by lymphoma compared to those without [65]. Moreover, the number of interleukin-18 (IL-18) expressing macrophages and inflammasome components transcripts [purinoreceptor 7 (P2X7R), Nod-like receptor family protein 3 (NLRP3), Il-1 β and IL-18] were found to be increased in SS NHL patients in association with features previously linked to lymphoma development, such as salivary gland enlargement and low C4 levels [63, 64••, 66]. Heightened salivary gland tissue interferon- γ (IFN γ) [62] and IFN γ inducible apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G (APOBEC3G) [61], but low IFN α transcripts, were also found in these patients implying that an imbalance between IFN γ -mediated chronic inflammatory responses and IFN α -related immune surveillant functions could contribute to malignant transformation at the level of salivary gland tissue. Upregulation of proapoptotic molecules p53 and NF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) by IFN α could potentially account for the immune surveillant IFN α properties at the level of SS salivary gland tissue [62]. On this basis, IFN γ /IFN α mRNA ratio in SS MSG tissues could serve as histopathologic predictor for lymphoma development, with high discriminative ability between SS-lymphoma and SS non-lymphoma patients (AUC = 0.88, 95%CI: 0.7–1.0, *p* value: 0.001) [62]. Another remarkable molecule with a role in chronic inflammation, autoimmunity, and malignancy is thymic stromal lymphopoietin (TSLP), a pleiotropic cytokine primarily expressed by activated lung and intestinal epithelial cells, as well as by immune cells [67]. MSG tissues of SS-lymphoma patients reduced immunohistochemical TSLP expression, but increased number of TSLP+ B cells was demonstrated compared to non-lymphoma and healthy controls (HC), implying a possible role of TSLP to SS-related lymphoproliferation [68].

Epigenetic and transcriptional alterations have been increasingly recognized as potential contributors for lymphoid malignancies [69]. In MSG tissues from patients with SS complicated by lymphoma decreased mRNA expression of enzymes involved in methylation machinery such as DNA methyltransferase 3B, and methyl CpG-binding protein 2 and DNA methyltransferase 1 were detected compared to SS without lymphoma [70]. Finally, miR-200b-5p – a microRNA previously implicated in solid tumors oncogenesis [71, 72] – has been also shown to be downregulated in high-risk or SS-lymphoma patients [73••].

Peripheral Blood Markers

Among hematologic abnormalities, CD4⁺ lymphopenia and low CD4⁺/CD8⁺ ratio have been detected in patients with lymphoproliferative

disorder [19], while neutropenia and lymphocytopenia have been associated to MZBCL and non-MZBCL development, respectively, at the time of diagnosis [74]. Gene expression studies in peripheral mononuclear cells revealed higher mRNA levels of BAFF [62], IL-14 [75], NLRP3, and apoptosis-associated speck-like protein (ASC) [64••].

Serological Markers

Since B cell hyperactivity has been shown to be a cardinal feature for SS lymphomagenesis, autoantibodies including anti-Ro/SSA and/or anti-La/SSB [11, 16•, 32, 76], RF [16•, 18, 36] anti-centromere antibodies (ACA) [77] have been all associated with lymphoma development in the context of SS. C4 hypocomplementemia, possibly as a result of excessive immune complex formation and activation of the classical complement pathway, has been consistently shown to influence both lymphoma risk and SS-related mortality [17, 19, 32, 39, 45, 78]. Cytokines involved in B cell growth and survival including B cell-activating factor (BAFF), Fms-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt-3 L), and TSLP have been shown to be increased in serum derived from SS-lymphoma patients compared either to SS patients without lymphoma and/or HC [62, 79, 80••, 81, 82, 83••] or autoimmune disease controls [81]. Moreover, serum chemokine levels previously shown to contribute to EGCs formation such as CXCL13 and to a lesser degree CXCL11 were also found to be elevated in SS patients with lymphoma compared to those without [84]. Serum B cell monoclonality indicators such as monoclonal gammopathy [16•, 85, 86], mixed monoclonal cryoglobulinemia (MMC) [87], increased β 2-microglobulin levels [88] along with increased free light chain κ/λ ratio [85] were also found to be strong predictors for lymphomagenesis among SS patients.

Given that uncontrolled inflammation has been associated with SS-related lymphoma, identification of soluble inflammatory biomarkers attracted particular interest. Thus, increased serum activity of the lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) [89] mainly produced by macrophages – previously shown to prevail in SS severe histopathological lesions [63] – was found in SS patients complicated by lymphoma compared to both uncomplicated SS and HC. Similarly, serum inflammasome components such as ASC and IL-18 were found to be increased in SS patients at high-risk for lymphoma development or complicated by lymphoma compared to low-risk SS and HC [64••]. Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 3 (LILRA3) is another inflammatory mediator recently found to be increased in serum of young onset SS-lymphoma patients [90]. LILRA3 is a soluble immunoreceptor, secreted by monocytes and B-cells inducing NK and CD8+ cells production stimulating inflammatory responses [91, 92].

Salivary markers

Salivary glands are the major site of lymphomagenesis in SS setting, and changes in protein saliva content could be indicative for the disease pathogenesis. Over the last years, several efforts have been made aiming at identification of saliva proteins with a potentially predictive role in

malignant transformation [93, 94]. Of interest, a novel panel of saliva autoantibodies was found to be able to distinguish the SS MALT subset from SS and HC [95]. These autoantibodies are directed against cofilin-1, an action-binding protein, disassembling **actin** filaments, alpha-enolase (glycolytic enzyme implicated in carcinogenesis), annexin-A2 (a protein related to cellular growth and signal transduction pathways), and Rho GDP-dissociation inhibitor 2 (RGI2) (a negative regulator of the proliferating enzyme Rho GTPase in hemopoietic cells). Moreover, proteomic analysis of whole unstimulated saliva revealed that the molecules of alarmin family S100A8 (calgranulin A) and S100A9 (calgranulin B) were significantly higher in SS-MALT subgroup, in comparison to SS and HC, supporting a potentially discriminatory role for malignant transformation [96].

Genetic Markers

The presence of aggressive disease phenotypes with a high predilection to lymphoma development early in the disease course implies that inherent factors such as a distinct genetic background are a key contributor in SS-related lymphoma development. Since molecular pathways leading to chronic inflammation, B cell activation, defective immunosurveillance or DNA methylation are involved in lymphomagenesis in general [97], variations in genes involved in these pathways attracted particular attention over the last years (Table 1).

Among the first genes studied was *tumor necrosis factor-alpha-induced protein 3* (*TNFAIP3*) with potential implication in both autoimmune [88, 98, 99] and neoplastic disorders [100]. Several variants of this gene have been shown to result in impaired function of the encoded A20 protein [101], a negative feedback regulator of NF-kB pathway [102], leading to uncontrolled inflammatory states. In SS, the rs2230926G minor allele of the *TNFAIP3* gene had a prevalence ranging from 12.05% in French, 7.14% in the UK, to 8.8% in the Greek population increasing lymphoma susceptibility in the setting of SS by 2.23, 3.12, and 2.6, respectively [103, 104]. Of interest, the corresponding prevalence in SS lymphoma patients of Greek origin with SS-onset ≤ 40 years was 18.2% [105], supporting a greater impact of genetic influences in the early onset disease groups.

Similarly, the wild-type variant of the *LILRA3* gene was also found to be highly prevalent (100%) in the younger onset SS group of Greek origin complicated by lymphoma compared to 81.8% in SS non-lymphoma and 83.2% in HC, respectively [90]. Previous studies reported that a deleted variation of *LILRA3* was identified as a risk factor for both lymphomagenesis [91] and SS development [106] in Caucasians, while the functional *LILRA3* variant (non-deleted/ wild type) was shown to increase susceptibility for RA [107], systemic lupus erythematosus (SLE), and SS [108] in Chinese population. Given that functional *LILRA3* gene has been linked to increased *LILRA3* protein serum levels and inflammatory states among RA patients [107, 109], we postulate that involvement in inflammatory pathways lie behind the association of *LILRA3* and related lymphoma in the young onset SS patients.

Recently, the rs3099844 variant of the major histocompatibility complex P5 (*HCP5*) gene has been found to increase lymphoma susceptibility

among Italian SS patients by 7.2-fold [110]. This gene encodes an endogenous retroelement, primarily expressed in thymus, spleen, and lymphoid lineage cells, acting as an inflammatory regulator [111]. *HCP5* variants have been previously linked to both psoriasis/psoriatic arthritis and SLE in association with anti-Ro antibodies [112, 113]. In SS patients, a significantly higher frequency of the rs3099844 *HCP5* variant was detected compared to HC, especially in patient subgroups characterized by the presence of autoantibodies, hypergammaglobulinemia leucopenia, and increased focus scores [110].

In view of the cardinal role of B cell activation in SS-related lymphomagenesis as mentioned earlier, genetic variants of both the *BAFF* gene and the receptor of BAFF on B cells have been shown to increase lymphoma risk among SS patients. Previous studies linked the *BAFF* gene polymorphisms – rs9514828/rs12583006 – with enhanced neoplastic risk [114–116], and with autoimmune susceptibility related to rs9514828 variant [117, 118]. In the context of SS, increased frequency of the minor T allele of the rs9514828 variant was detected in the high-risk group; in contrast, the minor A allele of the rs12583006 was prevalent in the low-risk group [119]. In haplotype terms, the high-risk SS group displayed lower frequencies of the TACAC and TACC haplotypes and higher frequency of the TTTC haplotype in comparison to the low-risk SS, but not the HC group. In a subsequent report, increased frequency of the His159Tyr mutation of the BAFF receptor (BAFF-R) has been shown in SS patients complicated by MALT lymphoma compared to both non-lymphoma and HC groups [120], with a frequency in the SS MALT group with age of disease onset between 31 and 40 years reaching 70%. The presence of this mutation was found to be associated with upregulation of the alternative NF- κ B pathway in B cells derived from SS-lymphoma patients, implying enhanced B cell signaling as potential contributor to SS-related lymphomagenesis [120].

Recently, Nezos et al. revealed a lower prevalence of the rs11797 A minor allele of the *Three-prime repair exonuclease 1 (TREX-1)* gene in SS patients with lymphoma of non-MALT type compared to HC [121]. TREX-1 is an exonuclease involved in both endogenous nucleic acid clearance [122, 123] and prevention of genomic instability [124, 125]. The potentially protective role of the rs11797 A minor allele could be attributed to suppressed type I IFN production and defective immunosurveillance properties, as already suggested [61]; SS patients carrying the rs11797 AA genotype were shown to display increased mRNA expression of type I IFN-related genes in MSG tissues. Of note, *TREX-1* gene variants have been previously associated with Aicardi-Goutieres syndrome [126, 127], SLE [128, 129], systemic sclerosis [130], and disorders characterized by activation of type I IFN pathway, while new studies link TREX-1 function with regulation of antitumor immunity [131].

As mentioned above, epigenetic mechanisms, involving mainly methylation pathways, have been proposed as major contributors for lymphoma evolution. Recently, in the SS context, an increased frequency of *methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR)* c. 677C>T (rs1801133) related to impaired DNA methylation and a reduced frequency of *MTHFR* c. 1298A>C (rs1801131) – leading to increased DNA double-strand breaks levels – were observed in SS non-MALT compared to non-lymphoma SS patients and HC [132], implying that defective suppression of oncogenes [133] and increased genomic instability are potential tumorigenic mechanisms in these patients.

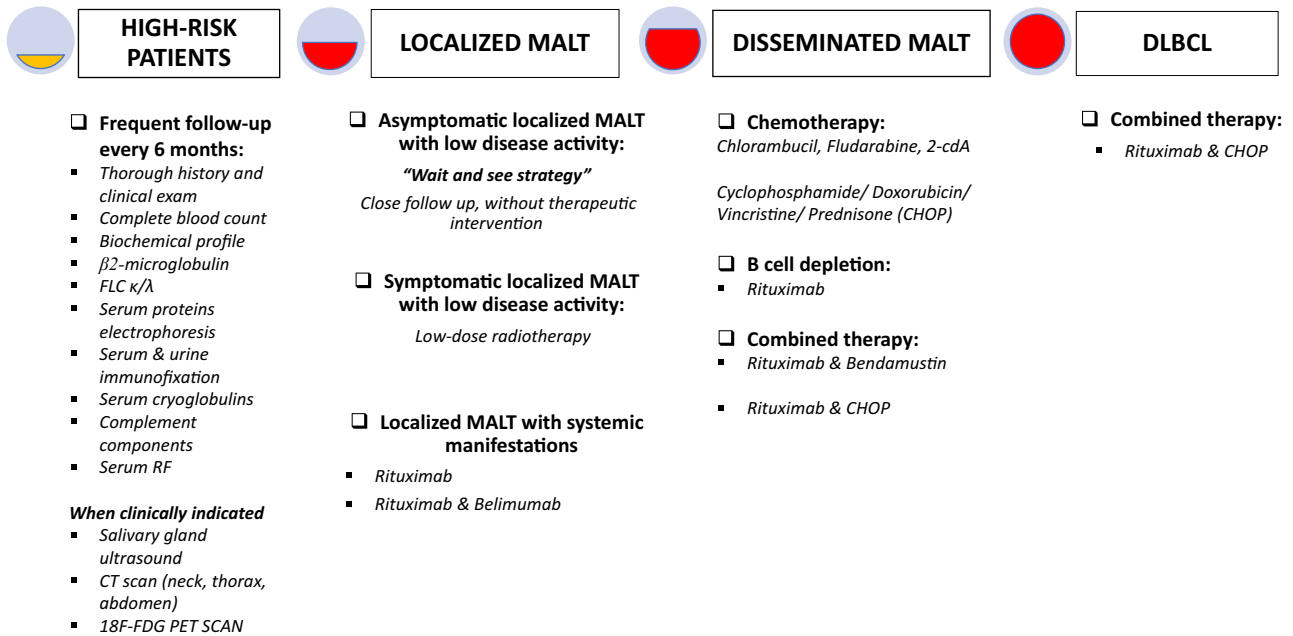


Fig. 2. An overview of diagnostic and therapeutic approach for high-risk and lymphoma SS patients. Free light chains κ/λ : FLC κ/λ ; Diffuse large B cell lymphoma: DLBCL; Cyclophosphamide/ Doxorubicin/ Vincristine/ Prednisone: CHOP; cladribine: 2-cdA.

Pharmacological Management of lymphoma

Despite the identification of several molecular contributors in SS-lymphomagenesis and distinct clinical phenotypes, treatment options and predictors of clinical responsiveness remain limited. In a multicenter international study including 242 patients with MALT lymphoma of the salivary glands, initial treatment included local therapy either with surgery, radiation, or both in about 60% of patients, while the rest were treated with systemic therapy, including 54% with localized and 46% with stage IV-disseminated disease. While the therapeutic approaches applied were diverse, in the majority of cases, an alkylating agent either as monotherapy or in combination with rituximab were most commonly implemented.

According to the recent EULAR, Sjögren's task force recommendations, after lymphoma diagnosis, a personalized therapeutic approach should be followed considering the histological lymphoma subtype and stage as well as SS activity [134]. Since the presence of SS has been found to be independently associated with better overall survival together with the observation that patients with stage I or stage II disease were not benefited by local or systemic therapy [135], a "wait and see" approach is preferable for SS patients with localized MALT lymphoma confined in salivary glands and low disease activity [37, 136]. However, for SS patients with symptomatic, disabling parotid swelling, low-dose involved-field radiotherapy could be a sufficient treatment [136]. For SS localized-MALT patients with extraglandular manifestations, administration of

rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) could be an option [37]. Given the key role of BAFF in B cell clonal expansion and lymphoma development [79], it was suggested that targeting simultaneously BAFF and CD20 through belimumab/rituximab co-administration could represent another prominent therapeutic approach for SS-related MALT treatment with systemic manifestations [137]. For patients with disseminated MALT (characterized by multiple rather than regional lymph node involvement, splenomegaly and/or bone marrow infiltration, and multiple extranodal site involvement), a personalized treatment (depending from individual clinical characteristics and disease stage) should be considered, applying B cell depletion strategy in association or not with chemotherapy [37, 136]. The latter include alkylating agents such as cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine plus prednisone (R-CHOP) [37], chlorambucil [138], the purine analogue cladribine (2-cdA) [139], or the antimetabolite fludarabine [140, 141]. Recently, given the beneficial effects of rituximab co-administration with the alkylating agent bendamustine (R-Benda) in previously untreated mantle-cell lymphoma [142] and MALT [143], the safety and efficacy of R-Benda was tested by a retrospective study including 13 SS-MALT patients mostly with disseminated disease resulting in complete regression of lymphoma and improvement in ESSDAI score [144]. Finally, for SS patients complicated by DLBC lymphoma, association of rituximab with polychemotherapy such as CHOP is preferred than rituximab monotherapy showing significant survival benefit [37, 145] (Fig. 2).

The availability of prognostic markers for pharmacotherapy response is also restricted, highlighting the need for the identification of predictors of therapeutic response. Higher baseline serum levels and salivary gland overexpression of BAFF have been associated with shorter duration of B cell depletion [146], poor treatment response [147], and persistence of focal lymphocytic sialadenitis [148] in rituximab-treated SS patients. In addition, SS-lymphoma patients with higher ESSDAI score were shown to be poor responders to pharmacological therapy compared to those with lower disease activity [7, 136]. Heightened blood and salivary NK cell numbers and elevated type I IFN activity at baseline have been shown to predict response to belimumab with the first being associated with worse outcomes [149], while the second with decreased IgG, IgM, and RF serum levels [150, 151].

Practical Advices for SS Patients in High-Risk for Lymphoma Development

The identification of several clinical and molecular risk factors for the SS-related lymphomagenesis allowed the stratification of patients in low- and high-risk subsets. Nevertheless, the accurate prediction of lymphoma onset remains challenging. According to expert opinion, SS patients recognized as high-risk group for lymphoma development are recommended to be followed-up every 6 months, monitoring the complete blood count, biochemical profile, β 2-microglobulin [88] and FLC κ/λ serum levels [85], serum protein electrophoresis, serum and urine immunofixation, serum cryoglobulins, complement components, and RF levels [152]. Given that disease activity has been shown to be strongly related to lymphoma development [18] and overall survival [7], thorough assessment of systemic organ involvement is mandatory. Salivary gland

ultrasound with Doppler [153], and potentially a follow up salivary gland biopsy [154] should be also considered, given their valuable role in predicting [153] and detecting in situ lymphoma development [154], respectively. 18F-FDG positron emission tomography seems to have a potential role in detecting SS-related lymphoma, particularly an SUVmax in the parotid glands of ≥ 4.7 and/or the presence of focal pulmonary lesions. However, no differences in the number of sites, uptake pattern, or mean SUVmax. in lymph nodes were detected between SS patients with or without lymphoma [155] (Fig. 2).

Conclusions

Predicting with accuracy lymphoma development at the time of SS diagnosis has been a major challenge over the last decades. Significant research efforts led to identification of several clinical, hematological, serological, and histopathological risk features for lymphoproliferation. Moreover, documentation of novel genetic and epigenetic associations through international collaborative efforts will enhance our ability for a better understanding of underlying molecular pathways and ultimately for the discovery of tailored therapies for these patients.

Funding Information

Dr. Mavragani discloses a grant from Harmonics European Union Project, Grant agreement ID: 731944, funded under: H2020-EU.3.1.1 and coordinated by: Ethniko kai Kapodistriako Panepistimio Athinon, Athens, Greece.

Compliance with Ethics Guidelines

Conflict of Interest

The other authors declare that they have no conflict of interest.

Human and animal rights and informed consent

This article does not contain any studies with human or animal subjects performed by any of the authors.

References and Recommended Reading

- Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren's syndrome. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:273–85.
 - Mavragani CP, Moutsopoulos HM. The geoepidemiology of Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev.* 2010;9:A305–10.
 - Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Primary versus Secondary Sjögren Syndrome: Is It Time To Reconsider These Terms? *J Rheumatol.* 2019;46:665–6.
 - Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *CMAJ.* 2014;186:E579–86.
 - Zintzaras E, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. The risk of lymphoma development in autoimmune diseases: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2005;165:2337–44.
 - Nocturne G, Pontarini E, Bombardieri M, Mariette X (2019) Lymphomas complicating primary Sjögren's syndrome: from autoimmunity to lymphoma. *Rheumatology (Oxford).* <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez052>
- A stimulating review on pathophysiological mechanisms of lymphomagenesis in the setting of SS.

7. Papageorgiou A, Ziogas DC, Mavragani CP, Zintzaras E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM, et al. Predicting the outcome of Sjogren's syndrome-associated non-hodgkin's lymphoma patients. *PLoS One*. 2015;10:e0116189.
 8. Voulgarelis M, Dafni UG, Isenberg DA, Moutsopoulos HM. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a multicenter, retrospective, clinical study by the European Concerted Action on Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1765–72.
 9. Anderson LA, Gadalla S, Morton LM, Landgren O, Pfeiffer R, Warren JL, et al. Population-based study of autoimmune conditions and the risk of specific lymphoid malignancies. *Int J Cancer*. 2009;125:398–405.
 10. Anquetil C, Hachulla E, Machuron F, et al. Is early-onset primary Sjögren's syndrome a worse prognosis form of the disease? *Rheumatology (Oxford)*. 2019;58:1163–7.
 11. Ramos-Casals M, Cervera R, Font J, García-Carrasco M, Espinosa G, Reino S, et al. Young onset of primary Sjögren's syndrome: clinical and immunological characteristics. *Lupus*. 1998;7:202–6.
 - 12.●● Retamozo S, Brito-Zerón P, Ramos-Casals M (2019) Prognostic markers of lymphoma development in primary Sjögren syndrome. *Lupus* 28:923–936
- An excellent systematic review on clinical predictors in the setting of SS associated lymphoma.
13. Brito-Zerón P, Acar-Denizli N, Ng W-F, et al. How immunological profile drives clinical phenotype of primary Sjögren's syndrome at diagnosis: analysis of 10,500 patients (Sjögren Big Data Project). *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(Suppl 112):102–12.
 14. How Does a Younger Age at the Onset of Sjögren's Syndrome (pSS) Influence the Clinical Presentation and the Clinical Course of the Disease? *ACR Meeting Abstracts*.
 15. Argyropoulou O, Goules A, Zampeli E, Mavromati M, Mavragani C, Skopouli F, et al. FRI0222 ANALYSIS OF CLINICAL AND SEROLOGICAL PICTURE OF PATIENTS WITH PRIMARY SJÖGREN'S SYNDROME AND AN EARLY DISEASE ONSET AT AGE BEFORE 35 YEARS. *Ann Rheum Dis*. 2019;78:790–1.
 - 16.● Fragkioudaki S, Mavragani CP, Moutsopoulos HM (2016) Predicting the risk for lymphoma development in Sjogren syndrome: An easy tool for clinical use. *Medicine (Baltimore)* 95:e3766
- A predictive tool for SS related lymphoma risk for the practicing clinician based on 7 independent clinical factors.
17. Skopouli FN, Dafni U, Ioannidis JP, Moutsopoulos HM. Clinical evolution, and morbidity and mortality of primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2000;29:296–304.
 18. Nocturne G, Virone A, Ng W-F, et al. (2016) Rheumatoid Factor and Disease Activity Are Independent Predictors of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ)* 68:977–985.
 19. Theander E, Henriksson G, Ljungberg O, Mandl T, Manthorpe R, Jacobsson LTH. Lymphoma and other malignancies in primary Sjögren's syndrome: a cohort study on cancer incidence and lymphoma predictors. *Ann Rheum Dis*. 2006;65:796–803.
 20. Solans-Laqué R, López-Hernandez A, Bosch-Gil JA, Palacios A, Campillo M, Vilardell-Tarres M. Risk, predictors, and clinical characteristics of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;41:415–23.
 21. Johnsen SJ, Brun JG, Gøransson LG, Småstuen MC, Johannesen TB, Haldorsen K, et al. Risk of non-Hodgkin's lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a population-based study. *Arthritis Care Res*. 2013;65:816–21.
 22. Brito-Zerón P, Ramos-Casals M, Bove A, Sentis J, Font J. Predicting adverse outcomes in primary Sjögren's syndrome: identification of prognostic factors. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46:1359–62.
 23. Sène D, Ismael S, Forien M, Charlotte F, Kaci R, Cacoub P, Diallo A, Dieudé P, Lioté F (2018) Ectopic Germinal Center-Like Structures in Minor Salivary Gland Biopsy Tissue Predict Lymphoma Occurrence in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ)* 70:1481–1488.
 24. Ansell P, Simpson J, Lightfoot T, Smith A, Kane E, Howell D, et al. Non-Hodgkin lymphoma and autoimmunity: does gender matter? *Int J Cancer*. 2011;129:460–6.
 25. Fallah M, Liu X, Ji J, Försti A, Sundquist K, Hemminki K. Autoimmune diseases associated with non-Hodgkin lymphoma: a nationwide cohort study. *Ann Oncol*. 2014;25:2025–30.
 26. Gondran G, Fauchais A, Lambert M, et al. Primary Sjogren's syndrome in men. *Scand J Rheumatol*. 2008;37:300–5.
 27. Ramírez Sepúlveda JI, Kvamström M, Eriksson P, et al. Long-term follow-up in primary Sjögren's syndrome reveals differences in clinical presentation between female and male patients. *Biol Sex Differ*. 2017;8:25.
 28. Anaya JM, Liu GT, D'Souza E, Ogawa N, Luan X, Talal N. Primary Sjögren's syndrome in men. *Ann Rheum Dis*. 1995;54:748–51.
 29. Baldini C, Pepe P, Luciano N, Ferro F, Talarico R, Grossi S, et al. A clinical prediction rule for lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2012;39:804–8.
 30. Brito-Zerón P, Kostov B, Fraile G, et al. Characterization and risk estimate of cancer in patients with primary Sjögren syndrome. *J Hematol Oncol*. 2017;10:90.
 31. Sutcliffe N, Inanc M, Speight P, Isenberg D. Predictors of lymphoma development in primary Sjögren's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 1998;28:80–7.
 32. Ioannidis JPA, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long-term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2002;46:741–7.
 33. Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JWJ. Clinical features distinguishing lymphoma development in primary Sjögren's Syndrome—a retrospective cohort study. *Semin Arthritis Rheum*. 2013;43:171–7.

34. De Vita S, Gandolfo S, Zandonella Callegher S, Zabotti A, Quartuccio L. The evaluation of disease activity in Sjögren's syndrome based on the degree of MALT involvement: glandular swelling and cryoglobulinaemia compared to ESSDAI in a cohort study. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(Suppl 112):150–6.
35. Kassan SS, Thomas TL, Moutsopoulos HM, Hoover R, Kimberly RP, Budman DR, et al. Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann Intern Med*. 1978;89:888–92.
36. Quartuccio L, Isola M, Baldini C, et al. Biomarkers of lymphoma in Sjögren's syndrome and evaluation of the lymphoma risk in prelymphomatous conditions: results of a multicenter study. *J Autoimmun*. 2014;51:75–80.
37. Voulgarelis M, Ziakas PD, Papageorgiou A, Baimpa E, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Prognosis and outcome of non-Hodgkin lymphoma in primary Sjögren syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 2012;91:1–9.
38. Ramos-Casals M, Anaya J-M, García-Carrasco M, Rosas J, Bové A, Claver G, et al. Cutaneous vasculitis in primary Sjögren syndrome: classification and clinical significance of 52 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2004;83:96–106.
39. Retamozo S, Gheitasi H, Quartuccio L, et al. Cryoglobulinaemic vasculitis at diagnosis predicts mortality in primary Sjögren syndrome: analysis of 515 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55:1443–51.
40. Sène D, Jallouli M, Lefaucheur J-P, et al. Peripheral neuropathies associated with primary Sjögren syndrome: immunologic profiles of nonataxic sensory neuropathy and sensorimotor neuropathy. *Medicine (Baltimore)*. 2011;90:133–8.
41. Pavlakis PP, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Stamboulis E, Routsias JG, Tzartos SJ, et al. Peripheral neuropathies in Sjogren syndrome: a new reappraisal. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82:798–802.
42. García-Carrasco M, Sisó A, Ramos-Casals M, Rosas J, de la Red G, Gil V, et al. Raynaud's phenomenon in primary Sjögren's syndrome. Prevalence and clinical characteristics in a series of 320 patients. *J Rheumatol*. 2002;29:726–30.
43. Raynaud's Phenomenon and African American Race Are Independently Associated With Non-Hodgkin's Lymphoma In Sjogrens Syndrome Patients: Findings From a United States National Study. *ACR Meeting Abstracts*.
44. Zampeli E, Kalogirou E-M, Piperi E, Mavragani CP, Moutsopoulos HM (2018) Tongue Atrophy in Sjögren Syndrome Patients with Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma: Autoimmune Epithelitis beyond the Epithelial Cells of Salivary Glands? *J Rheumatol* 45:1565–1571
- A recent report revealing tongue atrophy as a novel clinical predictor for SS- related MALT lymphoma.
45. Brito-Zerón P, Kostov B, Solans R, et al. Systemic activity and mortality in primary Sjögren syndrome: predicting survival using the EULAR-SS Disease Activity Index (ESSDAI) in 1045 patients. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:348–55.
46. Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *J Clin Pathol*. 1968;21:656–60.
47. Carubbi F, Alunno A, Cipriani P, et al. A retrospective, multicenter study evaluating the prognostic value of minor salivary gland histology in a large cohort of patients with primary Sjögren's syndrome. *Lupus*. 2015;24:315–20.
48. Risselada AP, de Hair M, Kruize AA, Bijlsma JWJ, van Roon JAG. Lymphocytic focus score as a prognostic tool. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:e31.
49. Risselada AP, Kruize AA, Goldschmeding R, Lafeber FPJG, Bijlsma JWJ, van Roon JAG. The prognostic value of routinely performed minor salivary gland assessments in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:1537–40.
50. Falini B, Agostinelli C, Bigerna B, et al. IRTA1 is selectively expressed in nodal and extranodal marginal zone lymphomas. *Histopathology*. 2012;61:930–41.
51. Haacke EA, Bootsma H, Spijkervet FKL, Visser A, Vissink A, Kluin PM, et al. FcRL4+ B-cells in salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients. *J Autoimmun*. 2017;81:90–8.
52. Hatzivassiliou G, Miller I, Takizawa J, et al. IRTA1 and IRTA2, novel immunoglobulin superfamily receptors expressed in B cells and involved in chromosome 1q21 abnormalities in B cell malignancy. *Immunity*. 2001;14:277–89.
53. Amara K, Clay E, Yeo L, et al. B cells expressing the IgA receptor FcRL4 participate in the autoimmune response in patients with rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2017;81:34–43.
54. Salomonsson S, Jonsson MV, Skarstein K, Brokstad KA, Hjelmström P, Wahren-Herlenius M, et al. Cellular basis of ectopic germinal center formation and auto-antibody production in the target organ of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2003;48:3187–201.
55. Brito-Zerón P, Retamozo S, Ramos-Casals M. Phenotyping Sjögren's syndrome: towards a personalized management of the disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(Suppl 112):198–209.
56. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organization in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1363–8.
57. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of germinal center-like structures and B cell clonality in patients with primary Sjögren syndrome with and without lymphoma. *J Rheumatol*. 2014;41:2214–22.
58. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centres in diagnostic labial gland biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome are not predictive for parotid MALT lymphoma development. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1781–4.

59. Barone F, Bombardieri M, Rosado MM, Morgan PR, Challacombe SJ, De Vita S, et al. CXCL13, CCL21, and CXCL12 expression in salivary glands of patients with Sjogren's syndrome and MALT lymphoma: association with reactive and malignant areas of lymphoid organization. *J Immunol*. 2008;180:5130–40.
60. Bombardieri M, Barone F, Humby F, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjogren's syndrome. *J Immunol*. 2007;179:4929–38.
61. Mavragani C, Kirou K, Nezos A, Seshan SV, Wild T, Wahl SM, et al. Thu0228 Expression of Apobec Family Members as Regulators of Endogenous Retroelements and Malignancy in Systemic Lupus Erythematosus and Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2019;78:392–2.
62. Nezos A, Gravani F, Tassidou A, Kapsogeorgou EK, Voulgarelis M, Koutsilieris M, et al. Type I and II interferon signatures in Sjogren's syndrome pathogenesis: Contributions in distinct clinical phenotypes and Sjogren's related lymphomagenesis. *J Autoimmun*. 2015;63:47–58.
63. Manoussakis MN, Boiu S, Korkolopoulou P, Kapsogeorgou EK, Kavantzias N, Ziakas P, et al. Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjogren's syndrome: correlation with certain features of immune hyperactivity and factors associated with high risk of lymphoma development. *Arthritis Rheum*. 2007;56:3977–88.
- 64.●● Vakrahou AG, Boiu S, Ziakas PD, Xingi E, Boleti H, Manoussakis MN (2018) Systemic activation of NLRP3 inflammasome in patients with severe primary Sjogren's syndrome fueled by inflammagenic DNA accumulations. *J Autoimmun* 91:23–33
- Novel findings regarding the role of inflammasome in SS-related lymphomagenesis.
65. Johnsen SJ, Gudlaugsson E, Skaland I, Janssen E a. M, Jonsson MV, Helgeland L, Berget E, Jonsson R, Omdal R (2016) Low Protein A20 in Minor Salivary Glands is Associated with Lymphoma in Primary Sjogren's Syndrome. *Scand J Immunol* 83:181–187.
66. Baldini C, Santini E, Rossi C, Donati V, Solini A. The P2X7 receptor-NLRP3 inflammasome complex predicts the development of non-Hodgkin's lymphoma in Sjogren's syndrome: a prospective, observational, single-centre study. *J Intern Med*. 2017;282:175–86.
67. Varricchi G, Pecoraro A, Marone G, Criscuolo G, Spadaro G, Genovese A, et al. Thymic Stromal Lymphopoietin Isoforms, Inflammatory Disorders, and Cancer. *Front Immunol*. 2018. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01595>.
68. Gandolfo S, Fabro C, Bulfoni M, Doriguzzi Breatta E, Cesselli D, Di Loreto C, De Vita S. Serum Levels of Thymic Stromal Lymphopoietin: A Possible Novel Biomarker in Primary Sjogren's Syndrome and Related Lymphoproliferation [abstract]. *Arthritis Rheumatol*. 2018; 70 (suppl 10). <https://acrabstracts.org/abstract/serum-levels-of-thymic-stromal-lymphopoietin-a-possible-novel-biomarker-in-primary-sjogrens-syndrome-and-related-lymphoproliferation/>.
69. Hopp L, Nersisyan L, Löffler-Wirth H, Arakelyan A, Binder H. Epigenetic Heterogeneity of B Cell Lymphoma: Chromatin Modifiers. *Genes (Basel)*. 2015;6:1076–112.
70. Mavragani CP, Nezos A, Sagalovskiy I, Seshan S, Kirou KA, Crow MK. Defective regulation of L1 endogenous retroelements in primary Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus: Role of methylating enzymes. *J Autoimmun*. 2018;88:75–82.
71. Chen MF, Zeng F, Qi L, Zu XB, Wang J, Liu LF, et al. Transforming growth factor-β1 induces epithelial-mesenchymal transition and increased expression of matrix metalloproteinase-16 via miR-200b downregulation in bladder cancer cells. *Mol Med Rep*. 2014;10:1549–54.
72. Cheng Y-X, Chen G-T, Chen C, Zhang Q-F, Pan F, Hu M, et al. MicroRNA-200b inhibits epithelial-mesenchymal transition and migration of cervical cancer cells by directly targeting RhoE. *Mol Med Rep*. 2016;13:3139–46.
- 73.●● Kapsogeorgou EK, Papageorgiou A, Protogerou AD, Voulgarelis M, Tzioufas AG (2018) Low miR200b-5p levels in minor salivary glands: a novel molecular marker predicting lymphoma development in patients with Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 77:1200–1207
- A novel predictor for lymphoma development in SS.
74. Baimpa E, Dahabreh IJ, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM. Hematologic manifestations and predictors of lymphoma development in primary Sjogren syndrome: clinical and pathophysiologic aspects. *Medicine (Baltimore)*. 2009;88:284–93.
75. Shen L, Suresh L, Li H, Zhang C, Kumar V, Pankewycz O, et al. IL-14 alpha, the nexus for primary Sjogren's disease in mice and humans. *Clin Immunol*. 2009;130:304–12.
76. Quartuccio L, Baldini C, Bartoloni E, et al. Anti-SSA/SSB-negative Sjogren's syndrome shows a lower prevalence of lymphoproliferative manifestations, and a lower risk of lymphoma evolution. *Autoimmun Rev*. 2015;14:1019–22.
77. Baldini C, Mosca M, Della Rossa A, et al. Overlap of ACA-positive systemic sclerosis and Sjogren's syndrome: a distinct clinical entity with mild organ involvement but at high risk of lymphoma. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31:272–80.
78. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Yagüe J, Akasbi M, Bautista R, Ruano M, et al. Hypocomplementaemia as an immunological marker of morbidity and mortality in patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2005;44:89–94.
79. Quartuccio L, Salvin S, Fabris M, Maset M, Pontarini E, Isola M, et al. BlyS upregulation in Sjogren's syndrome associated with lymphoproliferative disorders, higher ESSDAI score and B cell clonal expansion in the salivary glands. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52:276–81.

- 80.●● Gandolfo S, Fabro C, Bulfoni M, Breatta ED, Cesselli D, Loreto CD, Vita SD (2019) Thu0217 Serum Thymic Stromal Lymphopoietin (tslp) as a Biomarker of B Cell Lymphoproliferation in Sjögren's Syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases* 78:387–387
- A promising novel biomarker in SS related lymphoma.
81. Tobón GJ, Saraux A, Gottenberg J-E, et al. Role of Fms-like Tyrosine Kinase 3 Ligand as a Potential Biologic Marker of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum.* 2013;65:3218–27.
82. Ray RJ, Furlonger C, Williams DE, Paige CJ. Characterization of thymic stromal-derived lymphopoietin (TSLP) in murine B cell development in vitro. *Eur J Immunol.* 1996;26:10–6.
83. Tobón GJ, Renaudineau Y, Hillion S, Cornec D, Devauchelle-Pensec V, Youinou P, et al. The Fms-like tyrosine kinase 3 ligand, a mediator of B cell survival, is also a marker of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2010;62:3447–56.
84. Nocturne G, Seror R, Fogel O, Belkhir R, Boudaoud S, Saraux A, et al. CXCL13 and CCL11 Serum Levels and Lymphoma and Disease Activity in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum.* 2015;67:3226–33.
85. Brito-Zerón P, Retamozo S, Gandía M, et al. Monoclonal gammopathy related to Sjögren syndrome: a key marker of disease prognosis and outcomes. *J Autoimmun.* 2012;39:43–8.
86. Tomi A-L, Belkhir R, Nocturne G, Desmoulin F, Berge E, Pavy S, et al. Brief Report: Monoclonal Gammopathy and Risk of Lymphoma and Multiple Myeloma in Patients With Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum.* 2016;68:1245–50.
87. Kimman J, Bossuyt X, Blockmans D. Prognostic value of cryoglobulins, protein electrophoresis, and serum immunoglobulins for lymphoma development in patients with Sjögren's syndrome. A retrospective cohort study. *Acta Clin Belg.* 2018;73:169–81.
88. Gottenberg J-E, Seror R, Miceli-Richard C, et al. Serum levels of beta2-microglobulin and free light chains of immunoglobulins are associated with systemic disease activity in primary Sjögren's syndrome. Data at enrollment in the prospective ASSESS cohort. *PLoS ONE.* 2013;8:e59868.
89. Kotsifaki E, Nezos A, Psarrou A, Garantziotis P, Koutsilieris M, Mavragani C. Ab0183 the Role of the Phospholipase Lp-Pla2 Activity in Sjogren's Syndrome Related Lymphomagenesis: A New Serum Biomarker? *Ann Rheum Dis.* 2019;78:1549–9.
90. Argyriou E, Roussos P, Nezos A, Venetsanopoulou A, Boki KA, Tzioufas A, et al. Thu0204 Association of Lila3 Gene with Lymphomagenesis Risk in Young Ss Patients. *Ann Rheum Dis.* 2019;78:380–0.
91. Low HZ, Reuter S, Topperwien M, Dankenbrink N, Peest D, Kabalak G, et al. Association of the LILRA3 deletion with B-NHL and functional characterization of the immunostimulatory molecule. *PLoS One.* 2013;8:e81360. <https://doi.org/10.1371/journal.pone0081360>.
92. Brown D, Trowsdale J, Allen R. The LILR family: modulators of innate and adaptive immune pathways in health and disease. *Tissue Antigens.* 2004;64:215–25.
93. Baldini C, Gallo A, Perez P, Mosca M, Alevizos I, Bombardieri S. Saliva as an ideal milieu for emerging diagnostic approaches in primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30:785–90.
94. Cecchetti A, Finamore F, Ucciferri N, et al. Phenotyping multiple subsets in Sjögren's syndrome: a salivary proteomic SWATH-MS approach towards precision medicine. *Clin Proteomics.* 2019. <https://doi.org/10.1186/s12014-019-9245-1>.
95. Cui L, Elzakra N, Xu S, Xiao GG, Yang Y, Hu S. Investigation of three potential autoantibodies in Sjogren's syndrome and associated MALT lymphoma. *Oncotarget.* 2017;8:30039–30,049.
96. Jazzar AA, Shirlaw PJ, Carpenter GH, Challacombe SJ, Proctor GB. Salivary S100A8/A9 in Sjögren's syndrome accompanied by lymphoma. *J Oral Pathol Med.* 2018;47:900–6.
97. Ryan RJH, Wilcox RA. Ontogeny, Genetics, Molecular Biology, and Classification of B- and T Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2019;33:553–74.
98. Adrianto I, Wen F, Templeton A, et al. Association of a functional variant downstream of TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2011;43:253–8.
99. Nair RP, Duffin KC, Helms C, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet.* 2009;41:199–204.
100. Novak U, Rinaldi A, Kwee I, et al. The NF- $\{\kappa\}$ B negative regulator TNFAIP3 (A20) is inactivated by somatic mutations and genomic deletions in marginal zone lymphomas. *Blood.* 2009;113:4918–21.
101. Kato M, Sanada M, Kato I, et al. Frequent inactivation of A20 in B cell lymphomas. *Nature.* 2009;459:712–6.
102. Shembade N, Ma A, Harhaj EW. Inhibition of NF-kappaB signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science.* 2010;327:1135–9.
103. Nocturne G, Boudaoud S, Miceli-Richard C, et al. Germline and somatic genetic variations of TNFAIP3 in lymphoma complicating primary Sjögren's syndrome. *Blood.* 2013;122:4068–76.
104. Nocturne G, Tam J, Boudaoud S, et al. Germline variation of TNFAIP3 in primary Sjögren's syndrome-associated lymphoma. *Ann Rheum Dis.* 2016;75:780–3.
105. Nezos A, Gkioka E, Koutsilieris M, Voulgarelis M, Tzioufas AG, Mavragani CP. TNFAIP3 F127C Coding Variation in Greek Primary Sjogren's Syndrome Patients. *J Immunol Res.* 2018;2018:6923213.
106. Kabalak G, Dobberstein SB, Matthias T, Reuter S, The Y-H, Dörner T, et al. Association of immunoglobulin-like transcript 6 deficiency with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2009;60:2923–5.
107. Du Y, Cui Y, Liu X, et al. Contribution of functional LILRA3, but not nonfunctional LILRA3, to sex bias in

- susceptibility and severity of anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* (Hoboken, NJ). 2014;66:822–30.
108. Du Y, Su Y, He J, et al. Impact of the leucocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3) on susceptibility and subphenotypes of systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2015;74:2070–5.
109. An H, Chandra V, Piraino B, Borges L, Geczy C, McNeil HP, et al. Soluble LILRA3, a potential natural antiinflammatory protein, is increased in patients with rheumatoid arthritis and is tightly regulated by interleukin 10, tumor necrosis factor-alpha, and interferon-gamma. *J Rheumatol*. 2010;37:1596–606.
110. Colafrancesco S, Ciccacci C, Priori R, Latini A, Picarelli G, Arienzo F, et al. STAT4, TRAF3IP2, IL10, and HCP5 Polymorphisms in Sjögren's Syndrome: Association with Disease Susceptibility and Clinical Aspects. *J Immunol Res*. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7682827>.
111. Vernet C, Ribouchon MT, Chimini G, Jouanolle AM, Sidibé I, Pontarotti P. A novel coding sequence belonging to a new multicopy gene family mapping within the human MHC class I region. *Immunogenetics*. 1993;38:47–53.
112. Ciccacci C, Perricone C, Ceccarelli F, et al. A Multilocus Genetic Study in a Cohort of Italian SLE Patients Confirms the Association with STAT4 Gene and Describes a New Association with HCP5 Gene. *PLoS One*. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111991>.
113. Liu Y, Helms C, Liao W, et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet*. 2008;4:e1000041.
114. Zhai K, Tian X, Wu C, et al. Cytokine BAFF gene variation is associated with survival of patients with T cell lymphomas. *Clin Cancer Res*. 2012;18:2250–6.
115. Novak AJ, Grote DM, Ziesmer SC, et al. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with familial lymphoproliferative disorders. *J Clin Oncol*. 2006;24:983–7.
116. Novak AJ, Slager SL, Fredericksen ZS, et al. Genetic variation in BAFF is associated with an increased risk of developing B cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Res*. 2009;69:4217–24.
117. Kawasaki A, Tsuchiya N, Fukazawa T, Hashimoto H, Tokunaga K. Analysis on the association of human BLYS (BAFF, TNFSF13B) polymorphisms with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 2002;3:424–9.
118. Gottenberg J-E, Sellam J, Ittah M, et al. No evidence for an association between the -871 T/C promoter polymorphism in the B cell-activating factor gene and primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Res*. 8:6.
119. Nezos A, Papageorgiou A, Fragoulis G, Ioakeimidis D, Koutsilieris M, Tzioufas AG, et al. B cell activating factor genetic variants in lymphomagenesis associated with primary Sjogren's syndrome. *J Autoimmun*. 2014;51:89–98.
120. Papageorgiou A, Mavragani CP, Nezos A, Zintzaras E, Quartuccio L, De Vita S, et al. A BAFF receptor His159Tyr mutation in Sjögren's syndrome-related lymphoproliferation. *Arthritis Rheumatol* (Hoboken, NJ). 2015;67:2732–41.
121. Nezos A, Makri P, Gandolfo S, De Vita S, Voulgarelis M, Crow MK, et al. TREX1 variants in Sjogren's syndrome related lymphomagenesis. *Cytokine*. 2019;154:781.
122. Mazur DJ, Perrino FW. Identification and expression of the TREX1 and TREX2 cDNA sequences encoding mammalian 3'→5' exonucleases. *J Biol Chem*. 1999;274:19655–19,660.
123. Höss M, Robins P, Naven TJ, Pappin DJ, Sgouros J, Lindahl T. A human DNA editing enzyme homologous to the *Escherichia coli* DnaQ/MutD protein. *EMBO J*. 1999;18:3868–75.
124. Lindahl T, Barnes DE, Yang Y-G, Robins P. Biochemical properties of mammalian TREX1 and its association with DNA replication and inherited inflammatory disease. *Biochem Soc Trans*. 2009;37:535–8.
125. Kavanagh D, Spitzer D, Kothari PH, Shaikh A, Liszewski MK, Richards A, et al. New roles for the major human 3'-5' exonuclease TREX1 in human disease. *Cell Cycle*. 2008;7:1718–25.
126. Cuadrado E, Michailidou I, van Bodegraven EJ, et al. Phenotypic variation in Aicardi-Goutières syndrome explained by cell-specific IFN-stimulated gene response and cytokine release. *J Immunol*. 2015;194:3623–33.
127. Abe J, Nakamura K, Nishikomori R, et al. A nationwide survey of Aicardi-Goutières syndrome patients identifies a strong association between dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53:448–58.
128. Namjou B, Kothari PH, Kelly JA, et al. Evaluation of the TREX1 gene in a large multi-ancestral lupus cohort. *Genes Immun*. 2011;12:270–9.
129. Ellyard JJ, Jerjen R, Martin JL, et al. Identification of a pathogenic variant in TREX1 in early-onset cerebral systemic lupus erythematosus by Whole-exome sequencing. *Arthritis Rheumatol* (Hoboken, NJ). 2014;66:3382–6.
130. Hughes M, Little J, Herrick AL, Pushpakom S, Byers H, Worthington J, et al. A synonymous variant in TREX1 is associated with systemic sclerosis and severe digital ischaemia. *Scand J Rheumatol*. 2017;46:77–8.
131. Vanpouille-Box C, Alard A, Aryankalayil MJ, Sarfraz Y, Diamond JM, Schneider RJ, et al. DNA exonuclease Trex1 regulates radiotherapy-induced tumor immunogenicity. *Nat Commun*. 2017;8:15618.
132. Fragkioudaki S, Nezos A, Souliotis VL, et al. MTHFR gene variants and non-MALT lymphoma development in primary Sjogren's syndrome. *Sci Rep*. 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07347-w>.
133. Gokul G, Khosla S. DNA methylation and cancer. *Subcell Biochem*. 2013;61:597–625.
134. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Bombardieri S, et al. EULAR recommendations for the management of

- Sjögren's syndrome with topical and systemic therapies. *Ann Rheum Dis*. 2019. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-216114>.
135. Jackson AE, Mian M, Kalpadakis C, et al. Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue of the Salivary Glands: A Multicenter, International Experience of 248 Patients (IELSG 41). *Oncologist*. 2015;20:1149–53.
 136. Pollard RPE, Pijpe J, Bootsma H, Spijkervet FKL, Kluin PM, Roodenburg JLN, et al. Treatment of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in Sjogren's syndrome: a retrospective clinical study. *J Rheumatol*. 2011;38:2198–208.
 137. De Vita S, Quartuccio L, Salvin S, Picco L, Scott CA, Rupolo M, et al. Sequential therapy with belimumab followed by rituximab in Sjögren's syndrome associated with B cell lymphoproliferation and overexpression of BAFF: evidence for long-term efficacy. *Clin Exp Rheumatol*. 2014;32:490–4.
 138. Zucca E, Conconi A, Laszlo D, et al. Addition of rituximab to chlorambucil produces superior event-free survival in the treatment of patients with extranodal marginal-zone B cell lymphoma: 5-year analysis of the IELSG-19 Randomized Study. *J Clin Oncol*. 2013;31:565–72.
 139. Routsias JG, Goules JD, Charalampakis G, Tzima S, Papageorgiou A, Voulgarelis M. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome: an update on the pathogenesis and treatment. *Semin Arthritis Rheum*. 2013;43:178–86.
 140. Saadoun D, Pineton de Chambrun M, Hermine O, Karras A, Choquet S, Jegou P, et al. Using Rituximab Plus Fludarabine and Cyclophosphamide as a Treatment for Refractory Mixed Cryoglobulinemia Associated With Lymphoma. *Arthritis Care Res*. 2013;65:643–7.
 141. Salar A, Domingo-Domenech E, Estany C, Canales MA, Gallardo F, Servitje O, et al. Combination therapy with rituximab and intravenous or oral fludarabine in the first-line, systemic treatment of patients with extranodal marginal zone B cell lymphoma of the mucosa-associated lymphoid tissue type. *Cancer*. 2009;115:5210–7.
 142. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomized, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2013;381:1203–10.
 143. Salar A, Domingo-Domenech E, Panizo C, et al. Long-term results of a phase 2 study of rituximab and bendamustine for mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood*. 2017;130:1772–4.
 144. Demaria L, Henry J, Seror R, Frenzel L, Hermine O, Mariette X, et al. Rituximab-Bendamustine (R-Benda) in MALT lymphoma complicating primary Sjögren syndrome (pSS). *Br J Haematol*. 2019;184:472–5.
 145. Voulgarelis M, Giannouli S, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Long term remission of Sjögren's syndrome associated aggressive B cell non-Hodgkin's lymphomas following combined B cell depletion therapy and CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone). *Ann Rheum Dis*. 2006;65:1033–7.
 146. Pers J-O, Devauchelle V, Daridon C, et al. BAFF-modulated repopulation of B lymphocytes in the blood and salivary glands of rituximab-treated patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2007;56:1464–77.
 147. Cornec D, Costa S, Devauchelle-Pensec V, et al. Blood and salivary-gland BAFF-driven B cell hyperactivity is associated to rituximab inefficacy in primary Sjögren's syndrome. *J Autoimmun*. 2016;67:102–10.
 148. Carubbi F, Cipriani P, Di Benedetto P, Ruscitti P, Alunno A, Gerli R, et al. Persistence of focal lymphocytic sialadenitis in patients with primary Sjögren's syndrome treated with rituximab: a possible role for glandular BAFF. *Clin Exp Rheumatol*. 2016;34:1123–4.
 149. Seror R, Nocturne G, Lazure T, et al. Low numbers of blood and salivary natural killer cells are associated with a better response to belimumab in primary Sjögren's syndrome: Results of the BELISS study. *Arthritis Res Ther*. 2015;17:1–8.
 150. Gandolfo S, De Vita S. Double anti-B cell and anti-BAFF targeting for the treatment of primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37(Suppl 118):199–208.
 151. Quartuccio L, Mavragani CP, Nezos A, Gandolfo S, Tzioufas AG, De Vita S. Type I interferon signature may influence the effect of belimumab on immunoglobulin levels, including rheumatoid factor in Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35:719–20.
 152. Giannouli S, Voulgarelis M. Predicting progression to lymphoma in Sjögren's syndrome patients. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10:501–12.
 153. Theander E, Mandl T. Primary Sjögren's syndrome: diagnostic and prognostic value of salivary gland ultrasonography using a simplified scoring system. *Arthritis Care Res*. 2014;66:1102–7.
 154. Van Mello NM. B cell MALT lymphoma diagnosed by labial minor salivary gland biopsy in patients screened for Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2004;64:471–3.
 155. Keraen J, Blanc E, Besson FL, Leguern V, Meyer C, Henry J, et al. Usefulness of 18 F-Labeled Fluorodeoxyglucose-Positron Emission Tomography for the Diagnosis of Lymphoma in Primary Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)*. 2019;71:1147–57.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Article

Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3): A Novel Marker for Lymphoma Development among Patients with Young Onset Sjogren's Syndrome

Evangelia Argyriou ^{1,2,†} , Adrianos Nezos ^{1,†}, Petros Roussos ¹, Aliko Venetsanopoulou ³ , Michael Voulgarelis ³, Kyriaki Boki ², Athanasios G. Tzioufas ^{3,4}, Haralampos M. Moutsopoulos ⁵ and Clio P. Mavragani ^{1,3,4,*}

¹ Department of Physiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece; evargiriou@gmail.com (E.A.); anezos@med.uoa.gr (A.N.); perou89@yahoo.gr (P.R.)

² Rheumatology Unit, Sismanogleio General Hospital, 15126 Athens, Greece; kboki@outlook.com.gr

³ Department of Pathophysiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece; alikivenetsanopoulou@yahoo.com (A.V.); mvoulgar@med.uoa.gr (M.V.); agtzi@med.uoa.gr (A.G.T.)

⁴ Joint Academic Rheumatology Program, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece

⁵ Athens Academy, Chair Medical Sciences/Immunology, 10679 Athens, Greece; hmoutsop@med.uoa.gr

* Correspondence: kmauragan@med.uoa.gr; Tel.: +30-210-746-2714

† Equally contributed.



Citation: Argyriou, E.; Nezos, A.; Roussos, P.; Venetsanopoulou, A.; Voulgarelis, M.; Boki, K.; Tzioufas, A.G.; Moutsopoulos, H.M.; Mavragani, C.P. Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3): A Novel Marker for Lymphoma Development among Patients with Young Onset Sjogren's Syndrome. *J. Clin. Med.* **2021**, *10*, 644. <https://doi.org/10.3390/jcm10040644>

Academic Editor: Emmanuel Andr es

Received: 18 December 2020

Accepted: 3 February 2021

Published: 8 February 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright:   2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Background: Primary Sjogren's syndrome (SS) is an autoimmune disease with a strong predilection for lymphoma development, with earlier disease onset being postulated as an independent risk factor for this complication. Variations of the *Leukocyte immunoglobulin-like receptor A3 (LILRA3)* gene have been previously shown to increase susceptibility for both SS and non-Hodgkin B-cell lymphoma (B-NHL) in the general population. We aimed to investigate whether variations of the *LILRA3* gene could predispose for lymphoma development in the context of SS. Methods: Study population, all of Greek origin, included 101 SS cases with a current or previous diagnosis of lymphoma (SS-lymphoma, SS-L) and 301 primary SS patients not complicated by lymphoma (SS-non-lymphoma, SS-nL). All SS patients fulfilled the 2016 SS American College of Rheumatology/European league against Rheumatism (ACR/EULAR) classification criteria. A total of 381 healthy controls (HC) of similar age/sex/race distribution were also included. On the basis of the age of SS onset and the presence or absence of adverse predictors for lymphoma development, SS patients were further stratified into younger (≤ 40 years) and older (> 40 years) age of disease onset, as well as into high/medium and low risk groups. Polymerase chain reaction (PCR) was implemented for the detection of the following *LILRA3* gene variants: homozygous non-deleted or functional wild type (+/+) heterozygous (+/−) and homozygous deleted (−/−). *LILRA3* serum protein levels were quantitated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 85 individuals (29 SS-L, 35 SS-nL patients and 21 HC). Results: While no statistically significant differences were detected in the overall frequency of *LILRA3* gene variants between SS-L, SS-nL and HC groups, *LILRA3* serum protein levels were increased in the SS-L group compared to HC (1.27 ± 1.34 vs. 0.38 ± 0.34 ng/mL, p -value: 0.004). After stratification according to the age of SS onset and history of lymphoma, as well as the presence or absence of adverse predictors for lymphoma development, the prevalence of the functional *LILRA3* gene variant was found to be significantly increased in the young onset SS-L group compared to the HC of similar age and sex distribution (100% vs. 82.9%, $p = 0.03$), as well as in the high/medium risk SS compared to the low risk SS (91.3 vs. 78.3%, $p = 0.0012$). Of note, young onset SS-L and SS-nL groups displayed higher *LILRA3* serum levels compared to their older counterparts (p -values: 0.007 and 0.0005, respectively). Conclusion: The functional *LILRA3* gene variant increases susceptibility to SS-related lymphoma development in patients with a disease onset of < 40 years old, implying that genetically determined deranged immune responses in younger SS individuals could underly their pronounced risk for lymphoma development.

Keywords: LILRA3; Sjogren's syndrome; lymphoma; chronic inflammation; genes

1. Introduction

Sjogren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disease, the second most frequent after rheumatoid arthritis (RA), with an estimated pooled prevalence rate of 60.82 cases per 100,000 inhabitants [1]. Perimenopausal women are mainly affected, with sicca symptoms being the predominant complaints, due to chronically inflamed exocrine glands. Apart from glandular dysfunction, systemic clinical manifestations including musculoskeletal complaints, Raynaud's phenomenon and peripheral purpura, can also occur [2–4]. In a small but significant percentage of SS patients, non-Hodgkin's lymphoma (NHL) can develop, with the highest likelihood among all autoimmune diseases [5]. Several clinical, serological, histopathological, and genetic contributors have so far been shown to confer increased risk to SS-related lymphoproliferation [6,7]. Deregulated chronic inflammation, B cell hyperactivation, deficiency of immunosurveillance, increased DNA damage and defective DNA methylation have all been proposed as potential pathogenetic determinants [8].

A growing body of data over recent years has supported an emerging role of *Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 3 (LILRA3)* gene variants in the pathogenesis of both SS and NHL [9,10]. *Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptors (LILR)* family is a heterogeneous group of immunoreceptors whose genetic locus is located on chromosome 19 (19q13.4), nearby to the *Killer cell Inhibitory Receptor (KIR)* superfamily. It includes activating (LILRA1, LILRA2, LILRA3) and inhibitory (LIRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4, LILRB5) isoforms [11], depending on their ability to trigger cytokine secretion from monocytes [12] or inhibiting upregulation of co-stimulatory molecules on antigen presenting cells [13,14], respectively. All isoforms are expressed on cells of both myelomonocytic and lymphoid lineage with diverse expression patterns and functional behaviors [11], and have the ability to interact with classical and non-classical Major Histocompatibility Complex class I (MHC-I) antigens [15]. Exceptionally, the *LILRA3* receptor is only encoded in a soluble isoform, lacking a transmembrane or cytoplasmic domain due to alternative mRNA splicing [16]. It is mainly secreted by monocytes and B-cells [17], and induces NK and CD8⁺ T cell proliferation, after allogeneic stimulation [10].

The *LILR* gene cluster consist of two haplotypes, characterized by 13 *LILR* and 12 *LILR* alleles, respectively, as a result of a 6.7 kbp deletion of the *LILRA3* gene. Particularly, the shorter haplotype is characterized by the absence of the first seven of its eight exons [18]. Of interest *LILRA3* variants have shown great heterogeneity across races, with the *LILRA3* deleted variant being the dominant allele in northeast Asia (~84%), and the functional genotype (*LILRA3*+/+) being dominant in Caucasian populations [19]. In a German cohort, the presence of the deleted form has been associated with SS [9] and NHL susceptibility [10], while in a Chinese population, the presence of the functional *LILRA3* variant increased disease susceptibility for both SS and active systemic lupus erythematosus (SLE), along with the presence of serum anti-Ro/SSA and anti-La/SSB antibodies and leucopenia [20,21], both previously shown to serve as high risk predictors for SS related lymphoma [22,23].

In the current study, we aimed to investigate whether *LILRA3* gene polymorphisms and *LILRA3* serum levels increase susceptibility to SS-related lymphoma in a Greek SS cohort.

2. Patients and Methods

2.1. Study Participants

The present case control study included 101 SS-Lymphoma (SS-L) cases (92.1% females, mean age \pm SD: 51.2 \pm 13.3 years) with a presence or history of lymphoma and 301 primary SS patients not complicated by lymphoma (SS-non-lymphoma, SS-nL) (92.7% females, mean age \pm SD: 52.4 \pm 13.8 years). All SS patients fulfilled the 2016 SS American College of Rheumatology/European league against Rheumatism (ACR/EULAR) classification criteria [24]. A total of 381 healthy controls (HC) of similar age/sex/race distribution (89.2% females, mean age \pm SD: 57.1 \pm 17.3 years) were also included. All study participants were of Caucasian origin. None of the controls had a current or previous diagnosis of lymphoma. On the basis of the age of SS onset, SS patients were further stratified into

younger (≤ 40 years) and older (> 40 years) disease onset groups. Moreover, on the basis of the number of adverse predictors present at the time of diagnosis (salivary gland enlargement (SGE), lymphadenopathy, Raynaud's phenomenon, anti-Ro/SSA or/and anti-La/SSB autoantibodies, rheumatoid factor (RF) positivity, monoclonal gammopathy, and C4 hypocomplementemia), SS-nL patients were further classified into low risk (≤ 2 adverse predictors) and medium/high risk for lymphoma development (3–7 adverse predictors), as previously described [22]. Additionally, a subgroup of SS patients was further classified according to the age of disease onset (defined as the date of disease diagnosis) into the following groups: SS-nL patients ≤ 40 years ($n = 52$), SS-L patients ≤ 40 years ($n = 23$) and SS-nL patients > 40 years ($n = 249$), SS-L patients > 40 years ($n = 78$). Demographic, clinical and laboratory characteristics were recorded in all study participants, as previously described [25]. Whole blood samples were collected from study populations and stored in Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) tubes at -20 °C.

2.2. DNA Extraction

DNA isolation was performed using Macherey-Nagel Nucleospin Blood Kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) according to the manufacturer's instructions. Spectrophotometry (Biospec Nano, Japan) was utilized to confirm the quantity and quality of DNA samples.

2.3. Polymerase Chain Reaction (PCR)/LILRA3 Gene Polymorphisms

The detection of *LILRA3* gene polymorphisms was performed by PCR, according to the previously reported method [26] (See Supplementary. Methods for further details). We identified three genetic variations: homozygous non-deleted (functional or wild type, +/+), heterozygous (+/-) and homozygous deleted (-/-).

2.4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Quantification of *LILRA3* protein levels was performed using *LILRA3* ELISA kit (Cusabio Technology LLC, Wuhan, China, Catalogue Number, CSB-EL012935HU) in 85 available serum samples from 29 SS-L patients (16 SS-L ≤ 40 years, 13 SS-L > 40 years), 35 SS-nL patients (20 SS-nL ≤ 40 years, 15 SS-nL > 40 years) and 21 HC (12 ≤ 40 years and 9 > 40 years old). According to the manufacturer's instructions, *LILRA3* ELISA detects soluble *LILRA3* levels, which are encoded by the functional *LILRA3* gene.

2.5. Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using SPSS v.25.0 (IBM, Armonk, NY, U.S.) and GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, U.S.), with the level of statistical significance being set at 0.05. Chi square or Fisher's exact test was performed to compare the frequencies of deleted and non-deleted gene variants among SS patients and healthy population. Mann-Whitney test was employed for detecting the difference in serum *LILRA3* protein levels among study participants.

3. Results

3.1. Prevalence of *LILRA3* Genetic Variants in SS Patients and HC

As displayed in Table 1, there was no statistically significant differences in the frequency of *LILRA3* genotypes between HC and SS subpopulations (SS-nL/SS-L) (Figure 1A). Of interest, after we stratified SS-nL patients into high/medium and low risk based on the number of adverse predictors present at disease diagnosis, the *LILRA3* functional variant was detected in 91.3% of high/medium risk SS-nL patients compared to 78.3% in the low risk SS-nL group ($p = 0.0012$, Figure 1B).

Table 1. Frequency of *LILRA3* genotypes in distinct SS subpopulations and HC.

<i>LILRA3</i> Genotype (n, %)	Prevalence of <i>LILRA3</i> Variants		
	HC (n = 381)	SS-nL (n = 301)	SS-L (n = 101)
(+/+)	326 (85.6%)	256 (85.0%)	91 (90.1%)
(+/-)	54 (14.2%)	44 (14.7%)	9 (8.9%)
(-/-)	1 (0.2%)	1 (0.3%)	1 (1%)

LILRA3: leukocyte immunoglobulin-like receptor A3; SS-nL: Sjogren’s syndrome non-lymphoma patients; SS-L: Sjogren’s syndrome lymphoma patients; HC: healthy controls.

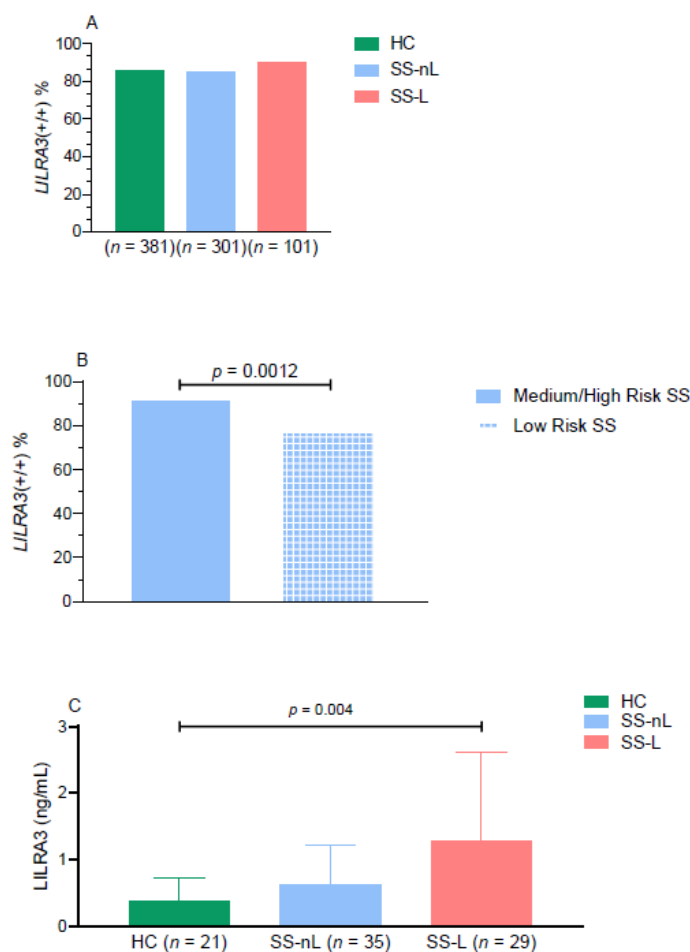


Figure 1. (A) Frequency of the *LILRA3* wild type variant among distinct SS subsets in comparison to HC. (B) Statistically increased frequency of wild type *LILRA3* was detected in medium/high risk group compared to low risk SS patients. Stratification of SS patients was based on the number of adverse predictors for lymphoma development at diagnosis (≤ 2 risk factors: low risk, > 2 risk factors: medium/high risk). (C) Serum levels of *LILRA3* protein in distinct SS subsets and HC. *LILRA3*: leukocyte immunoglobulin-like receptor A3; SS-nL: Sjogren’s syndrome non-lymphoma patients; SS-L: Sjogren’s syndrome lymphoma patients; HC: healthy controls.

Given our previous observations supporting an accumulation of genetic abnormalities in the younger onset SS subgroup complicated by lymphoma [27,28], we wished to explore whether SS patients with younger disease onset (≤ 40 years old) also displayed higher frequencies of *LILRA3* variations. Indeed, after SS patients were stratified according to the age of disease onset, the SS-L, but not the SS-nL group with disease onset ≤ 40 years displayed statistically significant higher rates of the wild type variant of the *LILRA3* gene compared to HC of similar age and sex distribution (SS-L: 100%, HC: 82.9%, $p = 0.03$).

No differences were detected in the prevalence of the *LILRA3*^{+/+} genotype between SS subgroups with disease onset >40 years old and HC (SS-L: 87.2%, SS-nL: 85.9%, HC: 86.2%, all comparisons non-significant, Figure 2A).

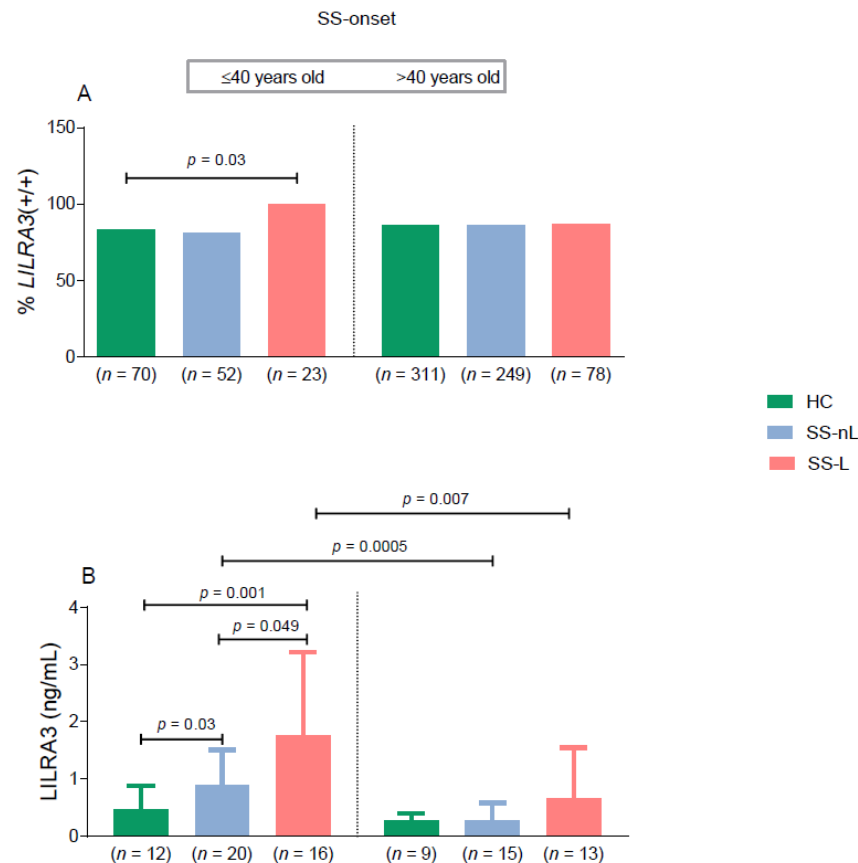


Figure 2. (A) Prevalence of the *LILRA3* functional (wild) type variant (*LILRA3*^{+/+}) in HC and distinct SS subgroups stratified by age of SS onset and lymphoma history. Statistically significant increased prevalence of the wild type *LILRA3* variant in the SS-L subgroup with SS onset ≤40 years compared to HC. No statistically significant difference was detected in the frequency of the wild type variant among SS subgroups with SS onset >40 years and HC. (B) *LILRA3* serum protein levels in SS patients and HC stratified by age of disease onset and the presence of lymphoma history. Statistically significant increased levels of *LILRA3* protein serum levels were mainly observed in SS-L patients ≤40 years compared to HC. *LILRA3*: leukocyte immunoglobulin-like receptor A3; SS-nL: Sjogren’s syndrome non-lymphoma patients; SS-L: Sjogren’s syndrome lymphoma patients; HC: healthy controls. Only significant comparisons are shown.

Following classification according to lymphoma subtype, the prevalence of the functional *LILRA3*^{+/+} gene was 88.9% in 18 non-marginal zone lymphoma cases (13 with diffuse large B-cell lymphoma, two with small lymphocytic lymphoma, one with follicular lymphoma, one with nodular lymphoma and one with T-cell lymphoma), 88.7% in marginal zone lymphoma localized in the salivary glands ($n = 71$) and 100% in SS- disseminated marginal zone lymphoma ($n = 12$) (Supplementary Figure S1).

3.2. *LILRA3* Serum Protein Levels

Given that *LILRA3* serum protein levels were previously shown to be elevated in patients with chronic inflammatory diseases [17,29], we next aimed to explore whether they are also increased in SS. As displayed in Figure 1C, *LILRA3* serum protein levels were significantly increased only in the SS-L compared to the HC group (1.27 ± 1.34 ng/mL vs. 0.38 ± 0.34 ng/mL, p -value: 0.004), with no statistically significant differences detected

between SS-nL compared to SS-L and HC subsets (0.63 ± 0.59 ng/mL vs. 1.27 ± 1.34 ng/mL and 0.38 ± 0.34 ng/mL, p -values 0.06 and 0.16, respectively). After stratification according to the age of SS onset and history of lymphoma (Figure 2B), younger onset SS-L and SS-nL patients displayed significantly higher serum LILRA3 protein levels compared to HC (1.77 ± 1.45 ng/mL and 0.89 ± 0.61 ng/mL vs. 0.46 ± 0.43 ng/mL, p -values 0.001 and 0.03, respectively). LILRA3 serum levels were also increased in SS-L compared to SS-nL patients of young onset (p -value 0.049). No significant differences were detected in serum LILRA3 levels between SS groups with disease onset more than 40 years compared to HC (SS-L: 0.66 ± 0.89 ng/mL, SS-nL: 0.28 ± 0.30 ng/mL, HC: 0.27 ± 0.14 ng/mL). Of interest, LILRA3 serum levels were significantly increased in both SS-L and SS-nL groups of younger onset compared to those with disease onset later in life (p -values 0.007 and 0.0005, respectively). No such differences were found between HC following age stratification. Finally, there was a trend towards increased LILRA3 serum levels in medium/high risk SS patients compared to low risk, though the difference did not reach statistical significance (low risk: 0.40 ± 0.42 ng/mL, medium/high risk: 0.70 ± 0.85 ng/mL) (Supplementary Figure S2).

3.3. LILRA3 Functional Variant-Clinical and Laboratory Associations

As shown in Supplementary Table S1, among SS-L patients, those bearing the functional *LILRA3* +/+ variant demonstrated increased prevalence of anti-Ro/SSA and/or anti-La/SSB antibodies compared to those with the homozygous or heterozygous deletion (89% vs. 60%, $p = 0.03$, respectively), as well as a trend towards increased LILRA3 serum levels among all SS patients bearing the wild type polymorphism (Supplementary Figure S3). No other significant associations of *LILRA3* gene variants with demographics, clinical or laboratory characteristics were detected in either SS-L or SS-nL groups.

4. Discussion

To our knowledge, this is the first study revealing *LILRA3* gene variants and the corresponding LILRA3 serum levels to be associated with increased lymphoproliferative risk in the setting of a young onset Greek-SS population. Indeed, the frequency of the functional *LILRA3* (+/+) genotype was found to be significantly increased in SS-L patients with SS diagnosis ≤ 40 years old compared to healthy controls of similar age and sex distribution. Moreover, LILRA3 serum protein levels were significantly higher in young onset SS patients compared to both young onset SS patients with no lymphoma and healthy controls. Of interest, SS patients at high/medium risk for lymphoma development also displayed increased frequency of the *LILRA3* (+/+) genotype compared to the low risk group. Finally, LILRA3 serum levels were significantly increased in both SS-L and SS-nL groups of younger onset compared to those with disease onset later in life.

The association of the *LILRA3* functional variant with lymphoma development in the context of younger onset SS patients, together with the heightened LILRA3 serum levels in SS individuals with a younger age of disease onset (≤ 40 years old), reinforce our previous observations at both clinical and genetic grounds. Thus, a growing body of evidence supports an aggressive phenotype among SS patients with younger disease onset, indicating strong immunological activity and a highly inflammatory background [30–34]. Moreover, the rs2230926 exonic variant of the *Tumor Necrosis Factor, Alpha-Induced Protein 3* (TNFAIP3) gene, encoding a defective A20 protein, along with the *BAFF-R His159Tyr* mutation, have been detected in increased frequency among young SS patients (≤ 40 years) complicated with lymphoma [27,28]. Both mutations have been shown to be linked with NF- κ B hyperactivation, triggering an ongoing inflammatory response [35], already proposed as a central pathogenetic event in SS related lymphoma.

Given that the LILRA3 protein has been previously found to be elevated in both sera from patients with RA, SLE and multiple sclerosis (MS) in association with disease activity [17,21] or severity [29], it seems that the LILRA3 molecule may contribute to SS and SS related lymphoma development in younger onset populations through altered regulation of chronic inflammatory processes. In support of this hypothesis, the LILRA3

protein has been previously shown to trigger a cellular immune response, through proliferation of cytotoxic-CD8⁺T and NK cells [10], both previously shown to be related to SS pathogenesis [36]. Moreover, LILRA3 molecule has a beneficial effect on clearing HIV virus, potentially through induction of proinflammatory cytokines [37], though there are data supporting an anti-inflammatory action as well [17,29,38].

The findings of the present study are somewhat intriguing. Although the Caucasian pattern regarding the prevalence of *LILRA3* gene was observed in the Greek cohort, the contribution of the wild rather than the deleted form of the *LILRA3* gene seems to increase susceptibility to autoimmunity. Thus, in accord with our findings, the functional rather than the deleted variant has been linked to several autoimmune disorders in Asian populations such as RA [39], ankylosing spondylitis [40], SLE, and SS [20]. Moreover, in Chinese populations, it was the functional allele which was found to serve as risk factor for seropositive SS [20]. Given that autoantibodies against Ro/SSA and La/SSB autoantigens have been previously designated as risk factors for lymphoma development [22], the association of the functional variant with SS related lymphoma in our study seems to be compatible with these findings. It is unclear at this point why in other Caucasian populations, such as German [9,41] or Spanish [26] populations, the *LILRA3* deletion has been identified as a risk factor for SS and MS.

Although the study includes complete evidence about the clinical, serological, and immunological profile of the SS patients, the size of the SS-subgroups is limited for extracting more robust data, mainly due to the rarity of this SS complication, particularly among patients with young onset disease. Last, further functional characterization of the *LILRA3* molecule is mandatory to explore how chronic immune responses result in oncogenic events.

Taken together, these findings support a potential role of the *LILRA3* molecule in the pathogenesis of SS related lymphoma, giving an insight into the aggressive nature of young onset SS, characterized by profound B cell activation. Further studies in larger populations are needed to confirm these findings and clarify the contribution of *LILRA3* in promoting chronic inflammatory pathways in the setting of autoimmunity and lymphoproliferation.

Supplementary Materials: The Supplementary Material for this article can be found online at <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/4/644/s1>, Table S1: Prevalence of *LILRA3* genetic variants in distinct SS subpopulations along with clinical and laboratory associations, Figure S1: Increased prevalence of the *LILRA3*+/+ variant in SS patients with marginal zone disseminated B-cell lymphoma, though differences did not reach statistical significance, Figure S2: Increased *LILRA3* serum levels in medium/high risk SS patients compared to the low risk SS group, Figure S3: Increased *LILRA3* serum levels in patients with functional *LILRA3* variant (+/+) compared to those with *LILRA3* (+/− or −/−) variants.

Author Contributions: C.P.M. and A.N. conceptualized and designed the study. E.A., A.N., P.R. performed the experimental procedures. E.A., K.B., A.G.T., M.V., H.M.M., C.P.M. provided clinical data and samples from patients with Sjogren's syndrome. E.A., A.N., A.V. and P.R. collected and assembled clinical and experimental data. C.P.M. and E.A. analyzed, interpreted data, and wrote the manuscript. K.B., A.G.T., M.V., H.M.M. reviewed the manuscript and made important suggestions. Final approval of the manuscript was given by all authors. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Hellenic Rheumatology Society and the HarmonicSS EU project 731944.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of National and Kapodistrian University of Athens (protocol code: 1516031811 and date of approval: 7 July 2016).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to samples collection from biobank.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Qin, B.; Wang, J.; Yang, Z.; Yang, M.; Ma, N.; Huang, F.; Zhong, R. Epidemiology of Primary Sjögren's Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann. Rheum. Dis.* **2015**, *74*, 1983–1989. [\[CrossRef\]](#)
2. Mavragani, C.P.; Moutsopoulos, H.M. Sjögren Syndrome. *Can. Med. Assoc. J.* **2014**, *186*, E579–E586. [\[CrossRef\]](#)
3. Mavragani, C.P.; Moutsopoulos, H.M. The Geoepidemiology of Sjögren's Syndrome. *Autoimmun. Rev.* **2010**, *9*, A305–A310. [\[CrossRef\]](#)
4. Skopouli, F.N.; Dafni, U.; Ioannidis, J.P.; Moutsopoulos, H.M. Clinical Evolution, and Morbidity and Mortality of Primary Sjögren's Syndrome. *Semin. Arthritis Rheum.* **2000**, *29*, 296–304. [\[CrossRef\]](#)
5. Zintzaras, E.; Voulgarelis, M.; Moutsopoulos, H.M. The Risk of Lymphoma Development in Autoimmune Diseases: A Meta-Analysis. *Arch. Intern. Med.* **2005**, *165*, 2337–2344. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Skarlis, C.; Argyriou, E.; Mavragani, C.P. Lymphoma in Sjögren's Syndrome: Predictors and Therapeutic Options. *Curr. Treat. Options Rheumatol.* **2020**, *6*, 1–17. [\[CrossRef\]](#)
7. Goules, A.V.; Tzioufas, A.G. Lymphomagenesis in Sjögren's Syndrome: Predictive Biomarkers towards Precision Medicine. *Autoimmun. Rev.* **2019**, *18*, 137–143. [\[CrossRef\]](#)
8. Nezos, A.; Evangelopoulos, M.-E.; Mavragani, C.P. Genetic Contributors and Soluble Mediators in Prediction of Autoimmune Comorbidity. *J. Autoimmun.* **2019**, *104*, 102317. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Kabalak, G.; Dobberstein, S.B.; Matthias, T.; Reuter, S.; The, Y.-H.; Dörner, T.; Schmidt, R.E.; Witte, T. Association of Immunoglobulin-like Transcript 6 Deficiency with Sjögren's Syndrome. *Arthritis Rheum.* **2009**, *60*, 2923–2925. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
10. Low, H.Z.; Reuter, S.; Topperwien, M.; Dankenbrink, N.; Peest, D.; Kabalak, G.; Stripecke, R.; Schmidt, R.E.; Matthias, T.; Witte, T. Association of the LILRA3 Deletion with B-NHL and Functional Characterization of the Immunostimulatory Molecule. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e81360. [\[CrossRef\]](#)
11. Hudson, L.E.; Allen, R.L. Leukocyte Ig-Like Receptors—A Model for MHC Class I Disease Associations. *Front. Immunol.* **2016**, *7*, 281. [\[CrossRef\]](#)
12. Mitchell, A.; Rentero, C.; Endoh, Y.; Hsu, K.; Gaus, K.; Geczy, C.; McNeil, H.P.; Borges, L.; Tedla, N. LILRA5 Is Expressed by Synovial Tissue Macrophages in Rheumatoid Arthritis, Selectively Induces pro-Inflammatory Cytokines and IL-10 and Is Regulated by TNF-Alpha, IL-10 and IFN-Gamma. *Eur. J. Immunol.* **2008**, *38*, 3459–3473. [\[CrossRef\]](#)
13. Brown, D.P.; Jones, D.C.; Anderson, K.J.; Lapaque, N.; Buerki, R.A.; Trowsdale, J.; Allen, R.L. The Inhibitory Receptor LILRB4 (ILT3) Modulates Antigen Presenting Cell Phenotype and, along with LILRB2 (ILT4), Is Upregulated in Response to Salmonella Infection. *BMC Immunol.* **2009**, *10*, 56. [\[CrossRef\]](#)
14. Young, N.T.; Waller, E.C.P.; Patel, R.; Roghanian, A.; Austyn, J.M.; Trowsdale, J. The Inhibitory Receptor LILRB1 Modulates the Differentiation and Regulatory Potential of Human Dendritic Cells. *Blood* **2008**, *111*, 3090–3096. [\[CrossRef\]](#)
15. Brown, D.; Trowsdale, J.; Allen, R. The LILR Family: Modulators of Innate and Adaptive Immune Pathways in Health and Disease. *Tissue Antigens* **2004**, *64*, 215–225. [\[CrossRef\]](#)
16. Jones, D.C.; Roghanian, A.; Brown, D.P.; Chang, C.; Allen, R.L.; Trowsdale, J.; Young, N.T. Alternative MRNA Splicing Creates Transcripts Encoding Soluble Proteins from Most LILR Genes. *Eur. J. Immunol.* **2009**, *39*, 3195–3206. [\[CrossRef\]](#)
17. An, H.; Chandra, V.; Piraino, B.; Borges, L.; Geczy, C.; McNeil, H.P.; Bryant, K.; Tedla, N. Soluble LILRA3, a Potential Natural Antiinflammatory Protein, Is Increased in Patients with Rheumatoid Arthritis and Is Tightly Regulated by Interleukin 10, Tumor Necrosis Factor-Alpha, and Interferon-Gamma. *J. Rheumatol.* **2010**, *37*, 1596–1606. [\[CrossRef\]](#)
18. Torkar, M.; Haude, A.; Milne, S.; Beck, S.; Trowsdale, J.; Wilson, M.J. Arrangement of the ILT Gene Cluster: A Common Null Allele of the ILT6 Gene Results from a 6.7-Kbp Deletion. *Eur. J. Immunol.* **2000**, *30*, 3655–3662. [\[CrossRef\]](#)
19. Hirayasu, K.; Ohashi, J.; Tanaka, H.; Kashiwase, K.; Ogawa, A.; Takashi, M.; Satake, M.; Jia, G.J.; Ching, N.-O.; Sideltseva, E.W.; et al. Evidence for Natural Selection on Leukocyte Immunoglobulin-like Receptors for HLA Class I in Northeast Asians. *Am. J. Hum. Genet.* **2008**, *82*, 1075–1083. [\[CrossRef\]](#)
20. Du, Y.; Su, Y.; He, J.; Yang, Y.; Shi, Y.; Cui, Y.; Luo, C.; Wu, X.; Liu, X.; Hu, F.; et al. Impact of the Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor A3 (LILRA3) on Susceptibility and Subphenotypes of Systemic Lupus Erythematosus and Sjögren's Syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* **2015**, *74*, 2070–2075. [\[CrossRef\]](#)
21. Du, Y.; Sun, F.; Zhou, M.; Wu, X.; Sun, W.; Jiang, Y.; Cheng, Q.; Chen, X.; Wu, H.; Xue, J. The Expression and Clinical Significance of Different Forms of LILRA3 in Systemic Lupus Erythematosus. *Clin. Rheumatol.* **2019**, *38*, 3099–3107. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Fragkioudaki, S.; Mavragani, C.P.; Moutsopoulos, H.M. Predicting the Risk for Lymphoma Development in Sjögren Syndrome: An Easy Tool for Clinical Use. *Medicine (Baltimore)* **2016**, *95*, e3766. [\[CrossRef\]](#)
23. Quartuccio, L.; Isola, M.; Baldini, C.; Priori, R.; Bartoloni Bocci, E.; Carubbi, F.; Maset, M.; Gregoraci, G.; Della Mea, V.; Salvin, S.; et al. Biomarkers of Lymphoma in Sjögren's Syndrome and Evaluation of the Lymphoma Risk in Prelymphomatous Conditions: Results of a Multicenter Study. *J. Autoimmun.* **2014**, *51*, 75–80. [\[CrossRef\]](#)
24. Shiboski, C.H.; Shiboski, S.C.; Seror, R.; Criswell, L.A.; Labetoulle, M.; Lietman, T.M.; Rasmussen, A.; Scofield, H.; Vitali, C.; Bowman, S.J.; 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**, *69*, 35–45. [\[CrossRef\]](#)

25. Nezos, A.; Makri, P.; Gandolfo, S.; De Vita, S.; Voulgarelis, M.; Crow, M.K.; Mavragani, C.P. TREX1 Variants in Sjogren's Syndrome Related Lymphomagenesis. *Cytokine* **2019**, 154781. [[CrossRef](#)]
26. Ordóñez, D.; Sánchez, A.J.; Martínez-Rodríguez, J.E.; Cisneros, E.; Ramil, E.; Romo, N.; Moraru, M.; Munteis, E.; López-Botet, M.; Roquer, J.; et al. Multiple Sclerosis Associates with LILRA3 Deletion in Spanish Patients. *Genes Immun.* **2009**, *10*, 579–585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Papageorgiou, A.; Mavragani, C.P.; Nezos, A.; Zintzaras, E.; Quartuccio, L.; De Vita, S.; Koutsilieris, M.; Tzioufas, A.G.; Moutsopoulos, H.M.; Voulgarelis, M. A BAFF Receptor His159Tyr Mutation in Sjögren's Syndrome-Related Lymphoproliferation. *Arthritis Rheumatol. Hoboken NJ* **2015**, *67*, 2732–2741. [[CrossRef](#)]
28. Nezos, A.; Gkioka, E.; Koutsilieris, M.; Voulgarelis, M.; Tzioufas, A.G.; Mavragani, C.P. TNFAIP3 F127C Coding Variation in Greek Primary Sjogren's Syndrome Patients. *J. Immunol. Res.* **2018**, *2018*, 6923213. [[CrossRef](#)]
29. An, H.; Lim, C.; Guillemin, G.J.; Vollmer-Conna, U.; Rawlinson, W.; Bryant, K.; Tedla, N. Serum Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor A3 (LILRA3) Is Increased in Patients with Multiple Sclerosis and Is a Strong Independent Indicator of Disease Severity; 6.7kbp LILRA3 Gene Deletion Is Not Associated with Diseases Susceptibility. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0149200. [[CrossRef](#)]
30. Ostuni, P.A.; Ianniello, A.; Sfriso, P.; Mazzola, G.; Andretta, M.; Gambari, P.F. Juvenile Onset of Primary Sjögren's Syndrome: Report of 10 Cases. *Clin. Exp. Rheumatol.* **1996**, *14*, 689–693.
31. Ramos-Casals, M.; Cervera, R.; Font, J.; García-Carrasco, M.; Espinosa, G.; Reino, S.; Pallarés, L.; Ingelmo, M. Young Onset of Primary Sjögren's Syndrome: Clinical and Immunological Characteristics. *Lupus* **1998**, *7*, 202–206. [[CrossRef](#)]
32. Cimaz, R.; Casadei, A.; Rose, C.; Bartunkova, J.; Sediva, A.; Falcini, F.; Picco, P.; Taglietti, M.; Zulian, F.; Ten Cate, R.; et al. Primary Sjögren Syndrome in the Paediatric Age: A Multicentre Survey. *Eur. J. Pediatr.* **2003**, *162*, 661–665. [[CrossRef](#)]
33. Virdee, S.; Greenan-Barrett, J.; Ciurtin, C. A Systematic Review of Primary Sjögren's Syndrome in Male and Paediatric Populations. *Clin. Rheumatol.* **2017**, *36*, 2225–2236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Goules, A.V.; Argyropoulou, O.D.; Pezoulas, V.C.; Chatzis, L.; Critselis, E.; Gandolfo, S.; Ferro, F.; Binutti, M.; Donati, V.; Zandonella Callegher, S.; et al. Primary Sjögren's Syndrome of Early and Late Onset: Distinct Clinical Phenotypes and Lymphoma Development. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 594096. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Lawrence, T. The Nuclear Factor NF-KB Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2009**, *1*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Tasaki, S.; Suzuki, K.; Nishikawa, A.; Kassai, Y.; Takiguchi, M.; Kurisu, R.; Okuzono, Y.; Miyazaki, T.; Takeshita, M.; Yoshimoto, K.; et al. Multiomic Disease Signatures Converge to Cytotoxic CD8 T Cells in Primary Sjögren's Syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* **2017**, *76*, 1458–1466. [[CrossRef](#)]
37. Low, H.Z.; Ahrenstorf, G.; Pommerenke, C.; Habermann, N.; Schughart, K.; Ordóñez, D.; Stripecke, R.; Wilk, E.; Witte, T. TLR8 Regulation of LILRA3 in Monocytes Is Abrogated in Human Immunodeficiency Virus Infection and Correlates to CD4 Counts and Virus Loads. *Retrovirology* **2016**, *13*, 15. [[CrossRef](#)]
38. Jung, M.; Sabat, R.; Krätzschar, J.; Seidel, H.; Wolk, K.; Schönbein, C.; Schütt, S.; Friedrich, M.; Döcke, W.-D.; Asadullah, K.; et al. Expression Profiling of IL-10-Regulated Genes in Human Monocytes and Peripheral Blood Mononuclear Cells from Psoriatic Patients during IL-10 Therapy. *Eur. J. Immunol.* **2004**, *34*, 481–493. [[CrossRef](#)]
39. Du, Y.; Cui, Y.; Liu, X.; Hu, F.; Yang, Y.; Wu, X.; Liu, X.; Ma, X.; Zuo, X.; Sheng, Y.; et al. Contribution of Functional LILRA3, but Not Nonfunctional LILRA3, to Sex Bias in Susceptibility and Severity of Anti-Citrullinated Protein Antibody-Positive Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol. Hoboken NJ* **2014**, *66*, 822–830. [[CrossRef](#)]
40. Wang, H.; Wang, Y.; Tang, Y.; Ye, H.; Zhang, X.; Zhou, G.; Lv, J.; Cai, Y.; Li, Z.; Guo, J.; et al. Frequencies of the LILRA3 6.7-Kb Deletion Are Highly Differentiated Among Han Chinese Subpopulations and Involved in Ankylosing Spondylitis Predisposition. *Front. Genet.* **2019**, *10*, 869. [[CrossRef](#)]
41. Koch, S.; Goedde, R.; Nigmatova, V.; Epplen, J.T.; Müller, N.; de Seze, J.; Vermersch, P.; Momot, T.; Schmidt, R.E.; Witte, T. Association of Multiple Sclerosis with ILT6 Deficiency. *Genes Immun.* **2005**, *6*, 445–447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]