



# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΓΑΣΗΡΙΟ ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ  
Διευθυντής ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Π. ΜΠΟΓΔΑΝΟΣ

---

## Διδακτορική Διατριβή

**«Διερεύνηση ανοσολογικών δεικτών στη ψωριασική αρθρίτιδα»**

ΥΠΟ

**ΠΑΤΡΙΚΙΟΥ ΕΛΕΝΗ**

Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2023

## **Αφιερωμένο στην οικογένειά μου!!**

© 2023 ΕΛΕΝΗ ΠΑΤΡΙΚΙΟΥ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

**1<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Λάζαρος Σακκάς (Επιβλέπων)**

Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**2<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Δημήτριος Μπόγδανος**

Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**3<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Ζαφειρίου Ευτέρπη**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Δερματολογίας Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**4<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Ρουσσάκη-Σούλτσε Αγγελική-Βικτώρια**

Καθηγήτρια Δερματολογίας Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**5<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Χριστίνα Κατσιάρη**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας-Ρευματολογίας Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**6<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Ευθύμιος Δαρδιώτης**

Καθηγητής Νευρολογίας Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**7<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Μαρία Γραμματικοπούλου**

Λέκτορας Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ρευματολογίας και κλινικής Ανοσολογίας, του Τμήματος Ιατρικής, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η εκπόνηση της Διδακτορικής μου Διατριβής δεν θα ήταν εφικτή χωρίς την πολύτιμη βοήθεια των Καθηγητών και των συνεργατών του Κλινικής και του ομώνυμου εργαστηρίου.

Ευχαριστώ για την πολύτιμη υποστήριξη του τον Καθ. Δημητρίο Μπόγδανο, που ήταν δίπλα μου σε όλα τα βήματα της διατριβής μου. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθ. Λάζαρο Σακκά που ως επιβλέπων μου έδωσε την ευκαιρία να πραγματοποιήσω την παρούσα Διατριβή και την Αν. Καθηγήτρια κ. Ευτέρπη Ζαφειρίου για την πρόσβαση σε πλούσιο βιολογικό υλικό. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω όλους τους ιατρούς των κλινικών που ενεπλόκησαν

Επίσης ευχαριστώ τους συνεργάτες του εργαστηρίου Δρ. Χρήστο Λιάσκο για όλες τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσε, τον Δρ. Γεώργιο Ευθυμίου που από την αρχή της συνεργασίας μας ήταν δίπλα μου για να μου λύνει όλες μου τις απορίες και τέλος ευχαριστώ τον Δρ. Αθανάσιο Μαυρόπουλο για την βοήθεια του σε ότι αφορούσε τα πειράματα της κυτταρομετρίας ροής.

Ένα ευχαριστώ οφείλω στον Δημήτρη που με στήριξε και ήταν πλάι μου!

Τέλος ευχαριστώ την οικογένειά μου για ότι έχουν κάνει μέχρι σήμερα!

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

---

- Σεπτέμβριος 2020 –  
Ιούνιος 2021      Ετήσιο Πρόγραμμα Παιδαγωγικής Κατάρτησης (ΕΠΠΑΙΚ)  
Ανώτατη Σχολή Παιδαγωγικής και Τεχνολογικής Εκπαίδευσης (ΑΣΠΑΙΤΕ), Βόλος  
Βαθμός πτυχίου: 9,5  
Θέμα πτυχιακής «Αντιλήψεις γονέων για τον τρόπο με τον οποίο η πανδημία της COVID-19 επηρέασε την εκπαιδευτική διαδικασία στην Πρωτοβάθμια Εκπαίδευση»
- Σεπτέμβριος 2006- Ιούνιος 2011      Πτυχίο Ιατρικών Εργαστηρίων  
ΑΤΕΙ Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα  
Βαθμός πτυχίου: 6,74.  
Τίτλος πτυχιακής εργασίας: Γενετική και Σχιζοφρένεια.
- Φεβρουάριος 2017 – Σήμερα      Υποψήφια διδάκτωρ (Ph D) Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
  
Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα  
Θέμα διδακτορικής διατριβής «Μελέτη ανοσολογικών δεικτών σε ασθενείς με Ψωριασική αρθρίτιδα»
- Σεπτέμβριος 2013 – Ιούλιος  
2014      Μεταπτυχιακό στην «Γενετική του ανθρώπου»  
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βαθμός πτυχίου: 6,54  
Θέμα Διατριβής: Μοντέλα ποντικών με ανθρωπίνους όγκους (humanized mice models).
- Σεπτέμβριος 2002 – Ιούνιος 2005      Απολυτήριο Ενιαίου Λυκείου  
Δημόσιο Γενικό Λύκειο Λευκάδας.

Σεπτέμβριος 2020- Σήμερα	<p>Συμμετοχή σε Κλινικές μελέτες ως study coordinator</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, παράλληλων ομάδων, μελέτη φάσης 3 της μπαρισπινίμπης σε ασθενείς με συστηματικό ερυθρεματώδη λύκο, I4V-MC-JAIM Study.</li> <li>2. Μη-παρεμβατική μελέτη για την αντιμετώπιση της ρευματοειδούς αρθρίτιδας με Tofacitinib (TREAT-RA)</li> </ol>
Μάιος 2016–Σήμερα	<p>Εκπαιδευτικό Έργο</p> <p>Εκπαίδευση προπτυχιακών και μεταπτυχιακών φοιτητών σε βασικές τεχνικές εργαστηρίου Ανοσολογίας (ELISA, ανοσοαποτύπωση, μικροσκόπηση ανοσοφθορισμού, κυτταρομετρία ροής)</p>
01 Μαρτίου 2020–15 Οκτωβρίου 2021	<p>Σύμβαση έργου σε ερευνητικό πρόγραμμα</p> <p>«Ανάπτυξη προβλεπτικού αλγορίθμου ανταποκρίσεως στη θεραπεία σε ασθενείς με ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα βασισμένου σε κλινικούς, ορολογικούς, ανοσολογικούς και γενετικούς βιοδείκτες», επιστημονικός υπεύθυνος Ζαφειρίου Ευτέρπη, Κωδικός Έργου 6357</p>
01 Απριλίου 2019– 30 Σεπτεβρίου 2019	<p>Σύμβαση έργου σε ερευνητικό πρόγραμμα</p> <p>«Ενίσχυση επιτημονικού, εκπαιδευτικού και διοικητικού έργου Κλινικής Ρευματολογίας και κλινικής Ανοσολογίας», επιστημονικός υπεύθυνος Μπόγδανος Δημήτριος, Κωδικός Έργου 5847</p>
01 Ιουνίου 2018 – 30 Νοεμβρίου 2018	<p>Σύμβαση έργου σε ερευνητικό πρόγραμμα</p> <p>«Μέλετη κόστους περιθαλψης στην Ελλάδα του Συστηματικού Ερυθρεματώδους Λύκου με κωδικό (BEL 116923)», επιστημονικός υπεύθυνος Σακκάς Λάζαρος, Κωδικός Έργου 4687</p>
Φεβρουάριος 2017–Σήμερα	<p>Υποψήφια Διδάκτωρ (Ph.D.) Ιατρικής</p> <p>Τομέας Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα (Ελλάδα)</p>

Φεβρουάριος 2015–Αύγουστος 2017	Μεταπτυχιακός Ερευνητικός Συνεργάτης Εργαστήριο Κυτταρικής Ανοσοθεραπείας και Μοριακής Ανοσοδιαγνωστικής, Τομέας Βιοϊατρικής, Ινστιτούτο Έρευνας και Τεχνολογίας Θεσσαλίας, Εθνικό Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης, Λάρισα (Ελλάδα)
Οκτώμβριος 2015 – Δεκέμβριος 2015 & Μάρτιος 2016 – Μάιος 2016	Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων Safembrio Θεσσαλονίκη
Ιανουάριος 2014 – Φεβρουάριος 2014	Πρακτική Άσκηση Εργαστήριο Γενετικής και Μοριακής Βιολογίας, Διευθύντρια: Καθηγήτρια Α. Τσέζου.
	<p>Εξοικίωση στην εξής μοριακές τεχνικές</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)</li> <li>▪ Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης</li> <li>▪ Φθορίζων <i>in situ</i> υβριδισμός (Fluorescent <i>in situ</i> hybridization, FISH)</li> <li>▪ Ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA)</li> <li>▪ Μέθοδο Ανοσοφθορισμού</li> <li>▪ Μέθοδο Ανοσοαποτύπωσης</li> </ul>
Σεπτέμβριος 2009 – Μάρτιος 2010	<p>Πρακτική Άσκηση Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Μονάδα Μεσογειακής Αναιμίας</li> <li>▪ Σταθμός Αιμοδοσίας</li> <li>▪ Μικροβιολογικό τμήμα</li> <li>▪ Αιματολογικό εργαστήριο</li> <li>▪ Βιοχημικό Εργαστήριο</li> <li>▪ Σταθμό Πρώτων Βοηθειών</li> <li>▪ Τακτικά εξωτερικά Ιατρεία</li> </ul>

## ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

### Συμμετοχή σε Συνέδρια

1. 4ο Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνεδρίο Αυτοάνοσων Νοσημάτων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας, 9-11 Σεπτεμβρίου, Λευκάδα.
2. 3ο Πανελλήνιο Πολυθεματικού Συνεδρίου Αυτοάνοσων Νοσημάτων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας, 24 – 26 Σεπτεμβρίου, Ναύπλιο
3. 12<sup>th</sup> International Congress on Autoimmunity, 28 May – 1 June 2021, Virtual Congress
4. 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Λίμνη Πλαστήρα, 25-27 Σεπτεμβρίου 2020.
5. 1<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
6. 8<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματικών και Αυτοανόσων Παθήσεων Κεντρικής Ελλάδος. 14-16 Σεπτεμβρίου. Λάρισα. 2018.
7. 11<sup>TH</sup> International Congress of Autoimmunity (Lisbon 16-10 May 2018).
8. 13<sup>th</sup> DSA (Dresden Symposium on Autoantibodies). 27-30 September 2017, Dresden, Germany.
9. 7<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματικών και Αυτοανόσων παθήσεων Κεντρικής Ελλάδος. 22-24 Σεπτεμβρίου 2017. Λάρισα.
10. 6<sup>ο</sup> Πανελλήνιο συνέδριο Ρευματικών και Αυτοανόσων Παθήσεων Κεντρικής Ελλάδος. 30 Σεπτεμβρίου – 2 Οκτωβρίου 2016. Λάρισα.
11. 4<sup>η</sup> Ενημερωτική εκδήλωση για την Θαλασσαιμία και την Δρεπανοκυτταρική Νόσο, 20 Απριλίου 2011. Αθήνα.

## Επαγγελματικές δεξιότητες

Παρασκευή χημικών διαλυμάτων  
 Χειρισμός δειγμάτων αίματος ασθενών  
 Διαχωρισμός ορού, λεμφοκυττάρων και ερυθροκυττάρων σε φικόλη  
 Ενζυμική ανοσοπροσρόφηση (ELISA)  
 Ανοσοαποτύπωση "Line blot Assay"  
 Κυτταρομετρία ροής (χρώση επιφανειακών και ενδοκυττάρων αντιγόνων, προσδιορισμός ενδοκυττάρων κυτταροκινών, μελέτη σηματοδοτικών μονοπατιών  
 Μικροσκοπία φθορισμού  
 Έκφραση και απομόνωση πρωτεϊνών (His-tag, GST - tag, ηπαρίνη)  
 Διάλυση και συγκέντρωση πρωτεϊνών  
 Ανάλυση πρωτεϊνών (SDS-PAGE, Western blot, μέθοδος Bradford, Electrophoretic Mobility shift Assay)  
 Σχεδίαση εκκινητών DNA (DNA primers) και ιχνηθετών RNA (RNA probes)  
 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (real -time PCR)  
 Κλωνοποίηση DNA (με περιοριστικά ένζυμα, gateway cloning)  
 Σύνθεση cDNA  
 Απομόνωση και καθαρισμός DNA σε μικρή, μεσαία και μεγάλη κλίμακα (minipreps, midipreps maxipreps)  
 In vitro μετάφραση  
 Απομόνωση RNA από ιστό και κυτταροκαλλιέργεια  
 Παρασκευή τομών σε κρουτόμο  
 In situ υβριδοποίηση  
 Απομόνωση DNA και γενοτύπηση  
 Ανοσοιστοχημεία και ανοσοκυτταροχημεία

## Παρουσιάσεις σε Συνέδρια

**ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Χ.Λιάσκος, Ε. Μάρου, Θ. Σιμοπούλου, Μ. Μπαρμακούδη, **Ε. Πατρικίου**, W. Meyer, Χ. Κατσιάρη, Δ.Π. Μπόγδανος, Λ.Ι. Σακκάς. Διαγνωστική και κλινική σημασία 13 νοσοειδικών αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση. (Πόστερ A43, 24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας, 8-11 Δεκεμβρίου. Αθήνα. 2016).
2. **Ε. Patrikiou**, C. Liaskos, A. Gkoutzourelas, A. Roussaki-Schulze, E. Zafiriou, L.I. Sakkas, DP. Bogdanos. Patients with psoriasis are presented with antinuclear antibody positivity prior to immunosuppressive management (P56). 13th DSA (Dresden Symposium on Autoantibodies). 27-30 September 2017, Dresden, Germany.
3. **Ε. Patrikiou**, C. Liaskos, E. Zafiriou, A. Gkoutzourelas, T. Simopoulou, A. Mavropoulos, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, D. P. Bogdanos, L. I. Sakkas. Anti-DFS70 antibodies in patients with Psoriasis and Psoriatic Arthritis.

- 11TH International Congress of Autoimmunity (Lisbon 16-10 May 2018)
4. C. Liaskos, **E.Patrikiou**, E. Zafiriou, A. Gkoutzourelas, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, I. Alexiou, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos. ANA-specific antigen recognition in patients with psoriasis and psoriatic arthritis using a multiplex line immunoassay specifically designed for ANA assessment as per ICAP. 11TH International Congress of Autoimmunity (Lisbon 16-10 May 2018)
  5. E. Zafiriou, **E. Patrikiou**, C. Liaskos, G. Efthymiou, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, D.P. Bogdanos. Helicobacter pylori CagA and VacA seropositivity in patients with psoriasis. 11TH International Congress of Autoimmunity (Lisbon 16-10 May 2018).
  6. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, E. Zafiriou, G. Efthymiou, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos. Helicobacter pylori antigen specific antibodies in psoriatic arthritis (poster AB0932). Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) 2018. 13-16 June. Amsterdam.
  7. **E. Πατρικίου**, Χ. Λιάσκος, Θ. Σιμοπούλου, Α. Γκουτζουρέλας, Γ. Ευθυμίου, Ε. Ζαφειρίου, Α.Β. Ρουσσάκη-Σούλτσε, Δ.Π. Μπόγδανος, Λ. Σακκάς. Αντισώματα έναντι του Ελικοβακτηριδίου του Πυλωρού σε ασθενείς με Ψωριασική Αρθρίτιδα και Ψωρίαση (πόστερ AA37). 26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας 6-9 Δεκεμβρίου 2018. Αθήνα.
  8. Χ. Λιάσκος, Ζ. Δανιήλ, Θ. Σιμοπούλου, **Ε. Πατρικίου**, Α. Γκουτζουρέλας, Χ. Κατσιάρη, Δ.Π. Μπογδάνος, Λ.Ι. Σακκάς. Αντι-MDA5 αντισώματα ως διαγνωστικός δείκτης αμυοπαθητικής δερματομυοσίτιδας με ταχέως εξελισσόμενη Πνευμονική Ίνωση (πόστερ AA53). 26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ρευματολογίας 6-9 Δεκεμβρίου 2018. Αθήνα.
  9. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, T. Simopoulou, A. Gkoutzourelas, G. Efthymiou, E. Zafiriou, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, L.I. Sakkas, D. P. Bogdanos. A comprehensive analysis of antibody reactivity against dominant and subdominant antigens of Helicobacter pylori in patients with Psoriatic arthritis and Psoriasis. CORA (Controversies in Rheumatology and Autoimmunity). 14-16 March 2019. Florence.
  10. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, A. Gkoutzourelas, N. Ntavari, A. Roussaki-Schulze, E. Zafiriou, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos. Antinuclear antibodies by immunofluorescence in patients with psoriasis (Ελεύθερη ανακοίνωση). Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
  11. E. Marou, C. Liaskos, **E. Patrikiou**, T. Scheper, W. Meyer, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos. Antibodies against Borrelia specific antigens in patients with Systemic Sclerosis. Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
  12. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, E. Zafiriou, A. Gkoutzourelas, T. Simopoulou, A. Mavropoulos, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, D.P. Bogdanos, L. I. Sakkas. Antinuclear antibodies against DFS70 in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
  13. C. Liaskos, **E. Patrikiou**, E. Zafiriou, A. Gkoutzourelas, T. Scheper, W. Meyer, A.

- Roussaki-Schulze, I. Alexiou, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos. Determination of ANA-specific antigens as per ICAP in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
14. S. Tsiogkas, A. Mavropoulos, D. Skyvalidas, **E. Patrikiou**, N.Ntavari, I.i. Sakkas, E. Zafiriou, D.P. Bogdanos. Delphinidin decreases peripheral IFN- $\gamma$  (+)T cell subsets from patients with Psoriasis and Psoriatic arthritis. Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
15. D. Skyvalidas, A. Mavropoulos, S. Tsiogkas, **E. Patrikiou**, N. Ntavari, D.P. Bogdanos, I.i. Sakkas, E. Zafiriou. Curcumin down-regulates IFN- $\gamma$  and il-17 expression in patients with Psoriasis and Psoriatic arthritis. Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Πήλιο 5-7 Απριλίου 2019.
16. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, A. Mavropoulos, N. Ntavari, K. Fechner, T. Scheper, W. Meyer, T. Simopoulou, A. Roussaki-Schultze, E. Zafiriou, L. I. Sakkas, D. P. Bogdanos. Treatment with secukinumab diminish autoantibodies in patients with psoriatic disease. 2ο Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Λίμνη Πλαστήρα, 25-27 Σεπτεμβρίου 2020. **ΒΡΑΒΕΙΟ ΔΕΥΤΕΡΗΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**
17. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, E. Zafiriou, A. Mavropoulos, N. Ntavari, K. Fechner, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, L. I. Sakkas, D. P. Bogdanos. Antibodies against cytoplasmic antigens in patients with psoriatic disease. 2ο Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Λίμνη Πλαστήρα, 25-27 Σεπτεμβρίου 2020.
18. M. A. Moltza, A. Mavropoulos, V. Ringa, D. Skyvalidas, **E. Patrikiou**, N. Ntavari, L.I. Sakkas, E. Zafiriou, D.P. Bogdanos. Aloin In Vitro Increases Peripheral IFN- $\gamma$  (+) T Cell Subsets From Healthy Controls And Patients With Autoimmune Diseases. 2ο Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Λίμνη Πλαστήρα, 25-27 Σεπτεμβρίου 2020. **ΒΡΑΒΕΙΟ ΔΕΥΤΕΡΗΣ ΚΑΛΥΤΕΡΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**
19. V. Ringa, A. Mavropoulos, M. Moltza, **E. Patrikiou**, D. Skyvalidas, A. Roussaki-Schulze, L.I. Sakkas, E. Zafiriou, D.P. Bogdanos. IL-35 dose-dependent decrease INF- $\gamma$  and IL-17 producing cells in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. 2ο Πανελλήνιο Πολυθεματικό Συνέδριο Αυτοανόσων Παθήσεων, Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας. Λίμνη Πλαστήρα, 25-27 Σεπτεμβρίου 2020.
20. **E. Patrikiou**, G. Efthymiou, C. Liaskos, N. Ntavari, E. Zafiriou, T. Simopoulou, T. Scheper W. Meyer, A. Roussaki-Schulz, D. P. Bogdanos. Antibodies against EBV antigens are unrelated with the presence of antibodies against DFS70 antigen. 12<sup>th</sup> International Congress on Autoimmunity, 28 May – 1 June 2021, Virtual Congress
21. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, A. Mavropoulos, N. Ntavari, A. Gkoutzourelas, K. Fechner, Th. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, E. Zafiriou, L. I. Sakkas, D.P. Bogdanos. Anti-DFS70 antibodies are frequently present in patients with Psoriatic Disease and are sensitive to Secukinumab treatment (anti-IL17a Mab). 12<sup>th</sup>

- International Congress on Autoimmunity, 28 May – 1 June 2021, Virtual Congress.
22. C.Liaskos, **E. Patrikiou**, E. Kourkouni, N. Kokkali, T. Scheper, W. Meyer, T. Simopoulou, E. Dardiotis, Z. Daniil, LI Sakkas, DP. Bogdanos. Profile testing of inflammatory myopathy-related autoantibodies and unconventional anti-synthetase antibodies drastically contributes to confirm disease diagnosis. 12th International Congress of Autoimmunity. Virtual Congress. 28 May-1 June 2021
  23. C.Liaskos, **E. Patrikiou**, A. Koutzoumpas, M. Mytilinaiou, A. Goutzourelas, E. Zafiriou, T. Simopoulou, C. Katsiari, E. Dardiotis, LI Sakkas, DP. Bogdanos. Prevalence of anti-TRIM21 (Ro52) antibodies in various diseases. 12th International Congress of Autoimmunity. Virtual Congress. 28 May-1 June 2021
  24. Α. Μαυρόπουλος, **Ε. Πατρικίου**, Σ. Τσιόγκας, Χ. Λιάσκος, Λ.Ι. Σακκάς, Δ. Π. Μπόγδανος, Ε. Ζαφειρίου. Η ανταπόκριση ασθενών με ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα στην σεκουκινουμάμπη σχετίζεται με υψηλά επίπεδα CD19+CD24++CD38++ Β ρυθμιστικών κυττάρων και χαμηλά επίπεδα CCR6+CD4+ και CXCR3+CD4+ Τ κυττάρων. 13ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΠΕΜΥ Χαλκιδική 2 – 5, 2021
  25. **Ε. Πατρικίου**, Χ. Λιάσκος, Γ. Ευθυμίου, Ν. Ντάβαρη, Ε. Ζαφειρίου, Θ. Σιμοπούλου,, T. Scheper, W. Meyer, A. Ρουσάκη-Schulze, Δ.Π. Μπόγδανος. Αντισώματα έναντι αντιγόνων του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού είναι συχνότερα σε ασθενείς με ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα. 13ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΠΕΜΥ Χαλκιδική 2 – 5, 2021
  26. Α. Μανροπούλος, **Ε. Patrikiou**, S. Tsiogkas, C. Liaskos, L.I. Sakkas, D.P. Bogdanos, E. Zafiriou. Decrease of antigen specific ANAs and composition of cellular subsets predict response to biologic treatment in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. 15th Dresden Symposium on Autoantibodies. Dresden, Germany, September.
  27. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, G. Efthymiou, N. Ntavari, E. Zafiriou, T. Simopoulou, T. Scheper, W. Meyer, A. Roussaki-Schulze, D.P. Bogdanos. Antibody reactivity against antigens of helicobacter pylori in patients with psoriatic diseases: relevance to disease pathogenesis. 15th Dresden Symposium on Autoantibodies. Dresden, Germany, September.
  28. C. Liaskos, **E. Patrikiou**, L. Komorowski, C. Tsigalou, A. Tsirogiani, L. Sakkas, D. Bogdanos. The role of molecular mimicry in SARS-CoV-2 related Autoimmune Rheumatic Diseases. 15th Dresden Symposium on Autoantibodies. Dresden, Germany, September.
  29. C. Liaskos, **E. Patrikiou**, L. Komorowski, A. Tsirogiani, C. Tsigalou, D. Bogdanos. Is there any evidence of molecular mimicry and cross-reactivity involving SARS-COV2 and human autoantigens? (poster 033 / #578). The 13th International Congress on Autoimmunity. 10-13 June Athens, Greece 2022
  30. V. Syrmou, C. Liaskos, E. Kourkouni, **E. Patrikiou**, N.M. Liapis, M. Karapli, T. Simopoulou, I. Alexiou, C. Katsiari, D. Bogdanos. Cancer-associated myositis and its association with myositis-related autoantibodies in patients with idiopathic inflammatory myositis: a siggle centre experience (poster 173 / #570). The 13th International Congress on Autoimmunity. 10-13 June Athens, Greece
  31. **Ε. Πατρικίου**, Χ. Λιάσκος, Γ. Ευθυμίου, Ν. Ντάβαρη, Ε. Ζαφειρίου, Θ. Σιμοπούλου, Τ.

- Scheper, W. Meyer, A. Ρουσάκη-Schulze, Δ.Π. Μπογδάνος. Αντισώματα έναντι αντιγόνων του πυλωρού σε ασθενείς με ψωριασικό νόσο (P9). 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΠΕΜΥ 30-09/2/-10 Ρόδος, 2022
32. Σύρμου Β. , Σιμοπούλου Θ. , Λιάσκος Χ. , Αλεξίου Ι. , Πατρικίου Ε , Ντάβαρη Ν, Κουρκούνη Ε, Κατσιάρη Χ. , Σακκάς Λ.Ι. , Μπογδάνος Π.Δ..Αναδρομική μελέτη ασθενών με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις μυοσίτιδες και κακοήθεια. 28ο Πανελλήνιο Ρευματολογικό Συνέδριο. 8-11 Δεκέμβριος 2022. Αθήνα.
33. **Patrikiou E.**, Liaskos C., Symrou V., Papagianni D.E., Simopoulou T.,Scheper T.,Meyer W.,Bogdanos D.P. Novel myositis-related autoantibodies in patients with idiopathic inflammatory myopathy: a single centre experience. 7th International Congress on Controversies in Rheumatology and Autoimmunity (CORA). 16-18 March, Turin, Italy 2023

#### ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΑ ΑΡΘΡΑ ΣΤΟΝ ΔΙΕΘΝΗ ΤΥΠΟ

1. M. Sokratous, S. Lucia, T. Bourinaris, C. Marogianni, M. Arnaoutoglou, **E. Patrikiou**, S. Ralli, A. Markou, E. Dardiotis, H. Houlden, G. M Hadjigeorgiou, G. Xiromerisiou. Prevalence of C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in Greek patients with sporadic ALS. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2020 Aug; 21(5-6):470-472. doi: 10.1080/21678421.2020.1757115. Epub 2020 Apr 26.
2. **E. Patrikiou**, C. Liaskos, A. Mavropoulos, N. Ntavari, A. Gkoutzourelas, T. Simopoulou, K. Fechner, T. Scheper, W. Meyer, C. G Katsiari, A. Roussaki-Schulze, E. Zafiriou, L. I. Sakkas, D. P Bogdanos. Autoantibodies against specific nuclear antigens are present in psoriatic disease and are diminished by secukinumab. Clin Chim Acta. 2020 Jul 23;510:400-407. doi: 10.1016/j.cca.2020.07.037. Online ahead of print.PMID: 32710943.
3. G. Efthymiou, C Liaskos, T Simopoulou, E Marou, **E Patrikiou**, T Scheper, W Meyer, D Daoussis, LI Sakkas, DP Bogdanos. Antigen-specific humoral responses against Helicobacter pylori in patients with systemic sclerosis. Immunol Res. 2020 Feb;68(1):39-47. doi: 10.1007/s12026-020-09124-w.PMID: 32253703.
4. DI Siachpazidou, O S Kotsiou, V Stavrou, C Pastaka, E Gogou , M Kechagia, Ch Varsamas, NT Economou, S Zouridis, **E. Patrikiou** , G Seitaniadis, M Pinaka, A Sistou, C Hatzoglou , KI Gourgoulisanis. Serum vitamin D levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome and level changes after continuous positive airway pressure therapy [published online ahead of print, 2020 Aug 1]. Sleep Breath. 2020;10.1007/s11325-020-02146-6. doi:10.1007/s11325-020-02146-6.
5. Bogdanos DP, Gkoutzourelas A, Papadopoulos V, Liaskos C, **Patrikiou E**, Tsigalou C, Saratziotis A, Hajjiannou J, Scheper T, Meyer W, Sakkas LI, Papandreou C. Anti-Ro52 antibody is highly prevalent and a marker of better prognosis in patients with ovarian cancer. Clin Chim Acta. 2021 Oct;521:199-205. doi: 10.1016/j.cca.2021.07.006. Epub 2021 Jul 8.PMID: 34245687.
6. Tsiogkas SG, Mavropoulos A, Skyvalidas DN, **Patrikiou E**, Ntavari N, Daponte AI, Grammatikopoulou MG, Dardiotis E, Roussaki-Schulze AV, Sakkas LI, Zafiriou E, Bogdanos DP. Delphinidin diminishes in vitro interferon-γ and interleukin-17 producing cells in patients with psoriatic disease. Immunol Res. 2022 Apr;70(2):161-

173. doi: 10.1007/s12026-021-09251-y. Epub 2021 Nov 25.PMID: 34825313
7. Kalampokini S, Georgouli **D, Patrikiou** E, Provas A, Valotassiou V, Georgoulas P, Spanaki C, Hadjigeorgiou GM, Xiromerisiou G. The Greek Variant in APP Gene: The Phenotypic Spectrum of APP Mutations. *Int J Mol Sci.* 2021 Nov 16;22(22):12355. doi: 10.3390/ijms222212355.PMID: 34830236
  8. Christos Liaskos, **Eleni Patrikiou**, Theodora Simopoulou, Lazaros I. Sakkas, Dimitrios P. Bogdanos. The role of autoantibody markers in predicting interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis: the Larissa experience in Thessaly, Greece. *ERAD*, 2022, Volume 1, Issue (1), pages 1-6.
  9. **Eleni Patrikiou**, Christos Liaskos, George Efthymiou, Christina G. Katsiari, Dimitrios P. Bogdanos. Is EBNA1 the molecular mimicry trigger of Epstein-Barr virus associated systemic lupus erythematosus? *ERAD*, 2022, Volume 1, Issue (1), pages 14-15.

## «Διερεύνηση ανοσολογικών δεικτών στη ψωριασική αρθρίτιδα»

**ΕΛΕΝΗ ΠΑΤΡΙΚΙΟΥ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2023

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. **Λάζαρος Σακκάς**, Ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (**Επιβλέπων**)
2. **Δημήτριος Μπόγδανος**, Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
3. **Ζαφειρίου Ευτέρπη**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Δερματολογίας Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Περίληψη

**Υφιστάμενη Γνώση:** Η ψωρίαση και η ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), γνωστές αθροιστικά ως ψωριασική νόσος, είναι ανοσοεπαγόμενες φλεγμονώδεις παθήσεις που συχνά εμφανίζουν αντι-πυρηνικά αντισώματα (ANA) με δυσδιάκριτους αντιγονικούς στόχους και χωρίς προφανή υποκείμενο μηχανισμό που να εξηγεί την επαγωγή τους.

**Σκοπός:** Κύριος σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να μελετήσει λεπτομερώς την συχνότητα εμφάνισης των ANA και την κλινική τους σημασία αλλά κυρίως να εξακριβώσει αν τα αυτοαντισώματα αυτά στοχεύουν 23 γνωστά πυρηνικά αντιγόνα. Λαμβάνοντας υπόψιν μελέτες ότι παθογόνα όπως το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*, Hp) μπορεί να επάγει την παραγωγή των ANA και ότι το συγκεκριμένο παθογόνο συσχετίζεται με την ενεργότητα της νόσου στην ψωρίαση, μελετήσαμε επίσης τις αντιγονοειδικές αποκρίσεις σε ANA θετικούς και ANA αρνητικούς ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ. Επίσης μελετήθηκαν κυτταρικές ανοσιακές αποκρίσεις σε αντιπροσωπευτικό αριθμό ασθενών για να μελετηθεί η επίδραση βιολογικής της θεραπείας και συγκεκριμένα της σεκουκινουμάμπης στην ανάπτυξη αντιγονοειδικών ANA

**Μέθοδοι και υλικό:** Ανάλογα με τους κύριο και δευτερογενείς σκοπούς της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν ως και 203 ασθενείς με ψωριασική νόσο συμπεριλαμβανομένων 89 ασθενών με ΨΑ και 114 ασθενών με ψωρίαση. Η μελέτη των αυτοαντισωμάτων έγινε με συμβατικό έμμεσο ανοσοφθορισμό και γραμμική ανοσοαποτύπωση. Η μελέτη αντισωμάτων κατά κύριων και δευτερευόντων αντιγόνων του Hp έγινε με western blot.T και B φαινοτυπικοί

υποπληθυσμοί μελετήθηκαν με κυτταρομετρία ροής και σχετικά συζευγμένα αντισώματα χρησιμοποιώντας απομονωμένα μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών.

**Αποτελέσματα:** Επιβεβαιώνουμε την παρουσία ANA σε ασθενείς με ψωριασική νόσο, τόσο μετά όσο και πριν τις βιολογικές θεραπείες. και αποδείξαμε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των οροθετικών περιπτώσεων ANA στοχεύει το DFS70 αλλά ένα σημαντικό ποσοστό ANA θετικών δειγμάτων δεν αναγνώρισε κανένα από τα 23 πυρηνικά αντιγόνα που ελέγχθηκαν. Σε ασθενείς που έλαβαν σεκουκινουμάμπη, τα αντιγονοειδικά αντισώματα εξαλείφθηκαν ή μειώθηκαν σημαντικά και η σεκουκινουμάμπη μείωσε μεταξύ άλλων τους πλασμοβλάστες και τα follicular B κύτταρα. Δεν βρέθηκε καμία άλλη σημαίνουσα κλινική συσχέτιση. Επίσης δεν βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ αντισωμάτων σε συγκεκριμένα αντιγόνα του Hρ και της οροθετικότητας ANA. Τέλος, τα ποσοστά αποκρίσεων στα περισσότερα Hρ αντιγόνα στην ΨΑ και στην ψωρίαση δεν διέφεραν σε σύγκριση με τους υγιείς.

**Συμπεράσματα:** Τα ANA είναι συχνά στην ψωριασική νόσο, και σε ένα ποσοστό στρέφονται κατά του DFS70. Η σεκουκινουμάμπη σχετίζεται με μείωση των ANA και των πλασμαβλαστών. Το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού δεν φαίνεται να επάγει την εμφάνισή τους ούτε να συσχετίζεται με τη ψωριασική νόσο.

## Abstract

**Background:** Psoriasis and psoriatic arthritis (PSA), known collectively as psoriatic disease, are immune-induced inflammatory diseases that often exhibit anti-nuclear antibodies (ANA) with indistinct antigenic targets and no obvious underlying mechanism to explain their induction.

**Aims:** The main purpose of the present study was to assess in detail the incidence of ANA and their clinical significance, as well as to ascertain whether these autoantibodies target any of the 23 known antigenic targets of ANA. Taking into account studies that pathogens such as *Helicobacter pylori* (Hp) can induce the production of ANA and that this specific pathogen correlates with disease activity in psoriasis, we also studied antigen-specific responses in ANA positive and ANA negative patients with psoriasis and PsA. Cellular immune responses were also studied in a representative number of patients to study the effect of biological therapy and specifically secukinumab on the development of antigen-specific ANA.

**Material and Methods:** Depending on the primary and secondary aims of the study, up to 203 patients with psoriatic disease including 89 patients with PsA and 114 patients with psoriasis were studied. The study of autoantibodies was performed by conventional indirect immunofluorescence and line immunoassays. The study of antibodies against Hp major and minor antigens was done by western blot. T and B phenotypic subpopulations were studied by flow cytometry and relative conjugated antibodies using isolated peripheral blood monocytes.

**Results:** We confirm the presence of ANA in patients with psoriatic disease, both after and before biological treatments. We also found that a noteworthy proportion of ANA-seropositive cases target DFS70, but a significant proportion of ANA-positive samples did not recognize any of the 23 nuclear antigens tested. In secukinumab-treated patients, antigen-specific antibodies were eliminated or significantly reduced, and secukinumab reduced plasmablasts and follicular B cells, among other cell subtypes. No other significant clinical correlations were found. Also, no significant correlation was found between antibodies to specific Hp antigens and ANA seropositivity. Finally, the response rates to most Hp antigens in PSA and psoriasis did not differ compared to healthy controls.

**Conclusions:** ANAs are frequent in psoriatic disease, and in a substantial proportion are directed against DFS70. Secukinumab is associated with a decrease of ANA and plasmablasts. *Helicobacter pylori* does not appear to induce them or to be associated with psoriatic disease in general.

<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>15</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>17</b>
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΝΟΣΟ</b>	
<b>1.1 ΨΩΡΙΑΣΗ</b>	<b>23</b>
1.1.1 Δερματικές εκδηλώσεις	24
1.1.2 Παθογένεια της Ψωρίασης	25
1.1.3 Γενετική	31
1.1.4 Αυτοανοσία Στην Ψωρίαση	36
1.1.5 Ψωρίαση και Συν-νοσηρότητες	37
1.1.6 Θεραπεία	39
1.1.6.1 Θεραπεία με μικρά μόρια	39
1.1.6.2 Βιολογικοί Παράγοντες	41
<b>1.2 ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΑΘΡΗΤΙΔΑ</b>	<b>43</b>
1.2.1 Επιπολασμός και συχνότητα εμφάνισης ΨΑ στο γενικό πληθυσμό	44
1.2.2 Παθογένεια της Ψωριασικής αρθρίτιδας	44
1.2.3 Γενετικής της Ψωριασικής Αρθρίτιδας	46
1.2.4 Ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος και της αυτοανοσίας	48
1.2.5 Κλινικές εκδηλώσεις της ψωριασικής αρθρίτιδας	52
1.2.6 Συν-νοσηρότητες	55
1.2.7 Θεραπεία της ψωριασικής αρθρίτιδας	56
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ANA) στην ψωριασική νόσο</b>	<b>57</b>
<b>2.1 Πρότυπα ανοσοφθορισμού</b>	<b>58</b>
2.2.1 Πυρηνικά πρότυπα	59
2.2.2 Κυτταροπλασματικά πρότυπα	62
2.2.3 Μιτωτικά πρότυπα	65
<b>2.2 Το DFS70 ως Αντιγόνο Στόχος</b>	<b>67</b>

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Υλικά και Μέθοδοι</b>	<b>69</b>
<b>3.1 Υλικά</b>	<b>69</b>
3.1.1 Πλαστικά και αναλώσιμα	69
3.1.2 Μηχανήματα και εργαλεία	70
3.1.3 Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες (kit)	71
3.1.4 Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια, χημικά και μέσα καλλιέργειας	72
3.1.5 Αντισώματα	73
3.1.6 Βιολογικό Υλικό	73
<b>3.2 Μέθοδοι</b>	
3.2.1 Διαχωρισμός παραγώγων αίματος σε φικόλη και κρυοαποθήκευση μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος	73
3.2.2 Ανοσοπροσοφητική δοκιμασία στερεάς φάσεως με σύνδεση	75
3.2.3 Ανοσοαποτύπωση πρωτεϊνών κατά Western (Western blotting)	76
3.2.3.1 Γραμμική Ανοσοαποτύπωση (Line blotting)- Πρωτόκολλο EUROIMMUN	78
3.2.4 Κυτταρομετρία ροής	
3.2.4.1 Εισαγωγή	79
3.2.5 Προσδιορισμός ANA με την μέθοδο έμμεσου ανοσοφθορισμού (indirect immunofluorescence, IIF)	
3.2.5.1 Εισαγωγή	82
3.2.5.2 Πρωτόκολλο	84
3.2.6 Στατιστική ανάλυση	84

3.2.7 Εκτέλεση πειραματικής διαδικασίας και στατιστικής ανάλυσης	86
--	----

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΝΟΣΟ

4.1 Εισαγωγή	87
4.2 Υλικά και Μέθοδοι	
4.2.1 Ασθενείς και Υγιείς	88
4.2.2 Μέθοδος	92
4.2.2.1 Ανίχνευση αυτοαντισωμάτων	92
4.2.2.2 Ανίχνευση αντισωμάτων έναντι παθογόνων	93
4.2.2.3 Κυτταρομετρία ροής	93
4.2.3 Στατιστική Ανάλυση	95
4.3 Αποτελέσματα	
4.3.1 Συχνότητα προτύπων ANA	95
4.3.2 Επιπολασμός της αντιδραστικότητας των αυτοαντισωμάτων	97
4.3.3 Κλινική σημασία της θετικότητας των αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με ψωριασική νόσο	107
4.3.4 Η σεκουκινουμάμπη μειώνει τα ANA ενώ δεν επηρεάζει τα αντισώματα έναντι των παθογόνων	111
4.3.5 Η σεκουκινουμάμπη μειώνει τους πλασμοβλάστες, τα follicular B κύτταρα και τα follicular T βοηθητικά κύτταρα	117
4.4 Συζήτηση	118

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΝΤΙΓΟΝΟΕΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ

5.1 Εισαγωγή	123
5.2 Υλικά Και Μέθοδοι	124
5.3 Αποτελέσματα	125

5.4 Συζήτηση	128
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ: ΜΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ</b>	
6.1 Εισαγωγή	129
6.2 Υλικά Και Μέθοδοι	
6.2.1 Ασθενείς και μάρτυρες	130
6.2.2 Μέθοδοι	133
6.3 Αποτελέσματα	134
6.4 Συζήτηση	147
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>150</b>

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΝΟΣΟ

#### 1.1 ΨΩΡΙΑΣΗ

Η ψωρίαση είναι μία χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση του δέρματος που δυνητικά μπορεί να συνοδεύεται από φλεγμονώδη αρθρίτιδα, μια οντότητα γνωστή ως ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ). Η ψωρίαση εκδηλώνεται με ένα ευρύ φάσμα όσον αφορά τις κλινικές εκδηλώσεις (1, 2). Στο ένα άκρο, υπάρχει η χρόνια ψωρίαση κατά πλάκας, που χαρακτηρίζεται από σχετικά σταθερές και εντοπισμένες ερυθματώδεις φολιδωτές πλάκες, οριοθετημένες απότομα από το φυσιολογικό δέρμα, ενώ στο αντίθετο άκρο υπάρχει η γενικευμένη φλυκταινώδης ψωρίαση που αποτελεί έναν σπάνιο κλινικό υποτύπο της ψωρίασης και τυπικά εμφανίζεται ραγδαία με ευρεία προσβολή που χαρακτηρίζεται από διάχυτη ερυθρότητα και υποκερατοειδείς φλύκταινες (1). Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι αυτή η κλινική εκδήλωση της ψωρίασης αφορά στην ενεργοποίηση διαφορετικών ανοσολογικών μονοπατιών του ανοσοποιητικού συστήματος, με την επίκτητη ανοσία να είναι κυρίαρχη στη χρόνια ψωρίαση κατά πλάκας, ενώ στην γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση να κυριαρχούν οι αποκρίσεις του εγγενούς ανοσοποιητικού συστήματος. Ο παγκόσμιος επιπολασμός της ψωρίασης είναι περίπου 2%, ενώ ποικίλλει ανάλογα με την εθνικότητα, τη φυλή και τη γεωγραφική κατανομή. Εμφανίζεται με χαμηλότερο επιπολασμό στους ασιάτες και σε μερικούς αφρικανικούς

πληθυσμούς, ενώ στους καυκάσιους και σκανδιναβούς ο επιπολασμός μπορεί να φτάσει έως το 11% (3-6).

### 1.1.1 Δερματικές Εκδηλώσεις

Οι δερματικές εκδηλώσεις της ψωρίασης ποικίλουν, με πιο συχνό τύπο την ψωρίαση κατά πλάκας, με σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφορετικών κλινικών υποτύπων (7).

- *Ψωρίαση κατά πλάκας*

Το 90% των περιπτώσεων ψωρίασης αντιστοιχεί στην χρόνια ψωρίαση κατά πλάκας. Οι τυπικές κλινικές εκδηλώσεις περιλαμβάνουν ερυθματώδεις, κνησμώδεις πλάκες, οριοθετημένες από το υγιές δέρμα, καλυμμένες με αργυρόχρωμα λέπια. Οι πλάκες μπορούν να ενωθούν και να καλύψουν μεγάλες περιοχές του δέρματος. Οι πιο συχνές εμφανίσεις περιλαμβάνουν τον κορμό, τις εκτεινόμενες επιφάνειες των άκρων και το τριχωτό της κεφαλής (8, 9).

- *Ανάστροφη ψωρίαση*

Η ανάστροφη ψωρίαση επηρεάζει τις (intertriginous) περιοχές στις οποίες ασκείται τριβή και χαρακτηρίζεται από ελαφρώς διαβρωτικές ερυθματώδεις πλάκες (7).

- *Σταγονοειδής ψωρίαση*

Η σταγονοειδής ψωρίαση αποτελεί παραλλαγή της κοινής ψωρίασης με οξεία έναρξη μικρών ερυθματωδών πλακών. Επηρεάζει συνήθως παιδιά ή εφήβους και συχνά προκαλείται μετά από αμυγδαλίτιδες από στρεπτοκοκκικές

λοιμώξεις της ομάδας A. Περίπου το ένα τρίτο των ασθενών με σταγονοειδή ψωρίαση θα αναπτύξουν ψωρίαση κατά πλάκας κατά την ενήλική ζωή τους (10, 11).

- *Φλυκταινώδης ψωρίαση*

Η φλυκταινώδης ψωρίαση χαρακτηρίζεται από πολλαπλές συνενωμένες, στείρες φλύκταινες. Η φλυκταινώδης ψωρίαση μπορεί να είναι εντοπισμένη ή γενικευμένη. Έχουν περιγραφεί δύο διακριτοί φαινότυποι η psoriasis pustulosa palmoplantaris (PPP) (παλαμοπελματική φλυκταινώδη) and acrodermatitis continua of Hallopeau (ACH). Και οι δύο φαινότυποι επηρεάζουν τα άνω και κάτω άκρα. Η PPP περιορίζεται στις παλάμες και τα πέλματα ενώ η ACH εντοπίζεται στις ακρες των δακτύλων των άνω και κάτω άκρων επηρεάζοντας τους όνυχες. Η γενικευμένη φλυκταινώδης ψωρίαση εμφανίζεται με οξεία και ταχέως επιδυνούμενη πορεία που χαρακτηρίζεται από ερυθρότητα και υποκερατοειδείς φλύκταινες (12).

- *Ερυθροδερμική ψωρίαση*

Η ερυθροδερμική ψωρίαση είναι μία οξεία ερυθρηματώδης και φλεγμονώδης κατάσταση, με προσβολή πάνω από το 90% της συνολικής επιφάνειας του σώματος. Η ερυθροδερμία μπορεί να αναπτυχθεί σε οποιοδήποτε τύπο ψωρίασης και απαιτεί επείγουσα αντιμετώπιση (7).

### **1.1.2 Παθογένεια της ψωρίασης**

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα της ψωρίασης είναι η παρατεταμένη φλεγμονή που οδηγεί σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων και σε

δυσλειτουργική διαφοροποίηση. Η ιστολογική εξέταση της ψωριασικής πλάκας δείχνει ακάνθωση (επιδερμική υπερπλασία), φλεγμονώδης διηθήσεις που αποτελούνται από ενδοδερμικά δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, T κύτταρα και ουδετερόφιλα. Η νεοαγγείωση είναι επίσης ένα χαρακτηριστικό. Οι φλεγμονώδεις οδοί που ενεργούν στην ψωρίαση κατά πλάκας και στις υπόλοιπες κλινικές παραλλαγές αλληλοεπικαλύπτονται, αλλά έχουν και διακριτές διαφορές που τις θέτουν υπεύθυνες τόσο για τον διαφορετικό φαινότυπο όσο και για την βέλτιστη θεραπευτική προσέγγιση (7).

### ***Ουδετερόφιλα, IL-36 και αυτοφλεγμονώδεις αποκρίσεις στην Ψωρίαση***

Στην ψωρίαση κατά πλάκας, η παρουσία και η διήθηση ουδετερόφιλων στην επιδερμίδα είναι ένα από τα βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά της ψωρίασης. Τα ουδετερόφιλα βρίσκονται σε χαμηλούς αριθμούς στην επιδερμίδα και την κεράτινη στιβάδα σε χρόνιες ψωριασικές βλάβες ως σπογγώδεις φλύκταινες του Kogoj ή των μικροαποστημάτων του Munro αντίστοιχα, αλλά είναι ο κυρίαρχος πληθυσμός λευκοκυττάρων στις δερματικές βλάβες της φλυκταινώδους ψωρίασης, οι οποίες χαρακτηρίζονται από μεγάλες συλλογές ενδοδερματικών και υποκερατοειδών ουδετερόφιλων. Τα CXCL1, CXCL2, CXCL8 (IL-8), είναι υπερεκφρασμένα στα ουδετερόφιλα στην ψωρίαση κατά πλάκας και 5-10 φορές περισσότερο υψηλά στην φλυκταινώδη ψωρίαση (13). Ένας από τους βασικούς φλεγμονώδεις μεσολαβητές που οδηγεί τη φλεγμονή των ουδετερόφιλων στην ψωρίαση φαίνεται να είναι η οικογένεια κυτταροκινών ιντερλευκίνης (IL-)36.

(14).

### ***Κύριες κυτταροκίνες και κυτταρικοί τύποι στην ψωρίαση κατά πλάκας***

Οι διαταραχές στις έμφυτες και στις επίκτητες δερματικές ανοσολογικές αποκρίσεις είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη και την διατήρηση της ψωριασικής φλεγμονής (15, 16). Η ενεργοποίηση του έμφυτου ανοσολογικού συστήματος, οδηγεί σε ενδογενή σήματα κινδύνου και κυτταροκίνες που συνυπάρχουν στην φλεγμονώδη διαδικασία σε κάποιους ασθενείς ενώ σε κάποιους άλλους υπάρχει φλεγμονώδης αντίδραση που προάγεται από τα T-κύτταρα. Η ψωρίαση εμφανίζει χαρακτηριστικά αυτοάνοσης νόσου, με αμφοτέρους τους μηχανισμούς να αλληλοεπικαλύπτονται και να ενισχύουν ο ένας τον άλλον (1).

Τα κύρια κλινικά ευρήματα της ψωρίασης είναι εμφανή στο εξωτερικό τμήμα της επιδερμίδας, το οποίο αποτελείται από κερατινοκύτταρα. Παρόλα αυτά, η ανάπτυξη της ψωριασικής πλάκας δεν δημιουργείται μόνο από την φλεγμονή στο στρώμα της επιδερμίδας, αλλά διαμορφώνεται από την αλληλεπίδραση των κερατινοκυττάρων με διαφορετικούς τύπους κυττάρων (κύτταρα της έμφυτης και επίκτητης ανοσίας). Η παθογένεια της ψωρίασης χωρίζεται στην φάση της έναρξης, πιθανώς μετά από διέγερση από τραύμα, μόλυνση ή φάρμακα (15) και μία φάση συντήρησης η οποία χαρακτηρίζεται από μία χρόνια κλινική εξέλιξη.

Είναι γνωστό ότι τα δενδριτικά κύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά την έναρξη της νόσου. Ένας προτεινόμενος μηχανισμός περιλαμβάνει την αναγνώριση μικροβιακών πεπτιδίων, τα οποία εκκρίνονται από τα κερατινοκύτταρα ως απόκριση του τραυματισμού και χαρακτηριστικά υπερεκφράζονται στο ψωριασικό δέρμα. Μεταξύ των περισσότερο

μελετημένων μικροβιακών πεπτιδίων που σχετίζονται με την ψωρίαση είναι τα LL37,  $\beta$ -defensins και οι πρωτεΐνες S100 (17). Στην LL37 ή cathelicidin έχει αποδοθεί παθαγενετικός ρόλος στην ψωρίαση. Απελευθερώνεται από τα κατεστραμμένα κερατινοκύτταρα, σχηματίζοντας στη συνέχεια σύμπλοκα με αυτογενετικό υλικό από άλλα κατεστραμμένα κύτταρα. Η LL37 που δεσμεύεται με το DNA διεγείρει τον Toll-like υποδοχέα 9 (TLR) σε πλασματοκυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs). Η ενεργοποίηση των pDC είναι το κλειδί στην έναρξη για την ανάπτυξη ψωριασικής πλάκας και χαρακτηρίζεται από την παραγωγή ιντερφερόνων (IFN) τύπου I (IFN- $\alpha$  και IFN- $\beta$ ). Το σηματοδοτικό μονοπάτι των IFN τύπου I προάγει την φαινοτυπική ωρίμανση των μυελοειδών δενδριτικών κυττάρων (mDCs) και εμπλέκονται στην διαφοροποίηση και στην λειτουργικότητα των T βοηθητικών κυττάρων (Th) 1 και Th17, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής IFN- $\gamma$  και IL-17, αντίστοιχα (18-20). Το σύμπλοκο LL37-DNA διεγείρει τα pDC μέσω του TLR9 ενώ το σύμπλοκο LL37-RNA διεγείρει τα pDC μέσω του TLR7. Επιπρόσθετα, το σύμπλοκο LL37-RNA δρα στα mDCs μέσω του TLR8. Τα ενεργοποιημένα mDCs μεταναστεύουν σε λεμφαδένες εκκρίνοντας παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF)- $\alpha$ , IL-23 και IL-12, με τις δύο τελευταίες ιντελευκίνες να ρυθμίζουν την διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Th17 και Th1 κυτταρικών υποπληθυσμών, αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, μονοκύτταρα ανιχνεύονται στις ψωριασικές βλάβες, απαντώντας στην ενεργοποίηση με το LL37-RNA εκκρίνοντας υψηλές ποσότητες TNF- $\alpha$ , IL-12 και IL-23 (21).

Η ενεργοποίηση της προσαρμοστικής ανοσιακής απόκρισης μέσω των διακριτών υποομάδων των T κυττάρων οδηγεί στη φάση συντήρησης της

ψωριασικής φλεγμονής (22). Οι Th17 κυτταροκίνες IL-17, IL-21 και IL-22 ενεργοποιούν τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων στην επιδερμίδα.

Το φλεγμονώδες περιβάλλον ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων μέσω του TNF-α, της IL-17 και της IFN-γ. Τα κερατινοκύτταρα ενεργοποιούνται επίσης από το LL37 και το DNA και αυξάνουν σημαντικά την παραγωγή IFN τύπου I (17), και συμμετέχουν ενεργά στον καταρράκτη της φλεγμονής μέσω της έκκρισης των κυτταροκινών IL-1, IL-6 και TNF-α, της χημειοκίνης και των αντιμικροβιακών πεπτιδίων (antimicrobial peptides, AMP).

Ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο ψωρίασης ποντικού, προκαλείται με τη χρήση imiquimod, ενός TLR7/8 αγωνιστή. Επιπλέον, η δράση του imiquimod μπλοκάρεται σε ποντίκια με έλλειψη της IL-23 ή του υποδοχέα της IL-17R, γεγονός που υπογραμμίζει τη συμμετοχή του άξονα IL-23/IL-17 στη φλεγμονή του δέρματος και στην παθογένεια της ψωρίασης (23).

Το σηματοδοτικό μονοπάτι φλεγμονής του TNFα και του IL-23/Th17 είναι αυτά που χαρακτηρίζουν την ψωρίαση κατά πλάκας. Η οικογένεια κυτταροκινών της IL-17 αποτελείται από 6 μέλη: IL-17A-F. Το κάθε ένα παράγεται από διαφορετικό τύπο κυττάρων και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην φλεγμονή (24). Μέχρι τώρα η κλινικά σχετική σηματοδότηση στην ψωρίαση προάγεται κυρίως από την IL-17A και την IL-17F, που δρούν μέσω του ίδιου υποδοχέα που αποτελείται από δυο αλυσίδες, IL-17RA και IL-17RC. Η IL-17A ασκεί ισχυρότερη επίδραση από την IL-17F και το ετεροδιμερές IL-17A/IL-17F έχει ένα ενδιάμεσο αποτέλεσμα. Η αλληλεπίδραση μεταξύ της ACT1 και του συμπλέγματος του υποδοχέα της IL-17, οδηγεί στην ενεργοποίηση από μια σειρά ενδοκυττάρων κινασών που περιλαμβάνουν τις ERK, p38 MAPK, TGF-

β, TAK1, IKK και GSK-3 β. Αυτές οι κινάσες επιτρέπουν την μεταγραφή των NFκB, AP-1 και C/EBP των προφλεγμονωδών κυτοκινών, των χημειοκινών και των μικροβιακών πεπτιδίων. Οι Th1 και Th2 κυτταροκίνες δρουν μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών κινάσων Ιανού (JAK)-STAT, ενώ οι αποκρίσεις των Th17 διαμεσολαβούνται από τα ACT1 και τον NFκB (25). Έχει όμως βρεθεί ότι τα γδ T λεμφοκύτταρα είναι ικανά να παράγουν IL-17A ανεξάρτητα από την IL-23 (26).

Τα φάρμακα που στοχεύουν τον TNFα, την IL-17 και τα σηματοδοτικά μονοπάτια των κινάσων Ιανού (JAK κινάσων) δρουν αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση της ψωρίασης κατά πλάκας. Ωστόσο, για τους διαφορετικούς τύπους ψωρίασης μπορεί να ισχύουν εναλλακτικά φλεγμονώδη μονοπάτια.

Στην σταγονοειδή ψωρίαση, τα στρεπτοκοκκικά υπεραντιγόνα πιστεύεται ότι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων στο δέρμα. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει σημαντική ομολογία αλληλουχίας αμινξέων μεταξύ των πρωτεϊνών M του στρεπτόκοκκου και της ανθρώπινης κερατίνης 17 (K17). Ο μοριακός μιμητισμός μπορεί να παίζει ρόλο σε ασθενείς με το κύριο αλληλόμορφο HLA-Cw6 ιστοσυμβατότητας, καθώς οι αποκρίσεις CD8+ T κυττάρων και IFN-γ προκλήθηκαν από τα K17 και M6 πεπτίδια στους εν λόγω ασθενείς (27, 28).

Η φλυκταινώδης ψωρίαση χαρακτηρίζεται από την υπερέκφραση των IL-1β, IL-36α και IL-36γ σε σχέση με την κοινή ψωρίαση. Παρόλα αυτά, η σηματοδότηση της IL-17 εμπλέκεται επίσης στη φλυκταινώδη ψωρίαση και οι ασθενείς με γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση χωρίς μεταλλάξεις IL-36R ανταποκρίθηκαν σε θεραπείες που στοχεύουν την IL-17 (29, 30).

Στην ψωρίαση των ονύχων και στην ΨΑ, η αυξημένη έκφραση των TNF- $\alpha$ , NF $\kappa$ B, IL-6, και της IL-8 στους προσβεβλημένους όνυχες είναι κοινή με τους δείκτες φλεγμονής που υπάρχουν στο προσβεβλημένο ψωριασικό δέρμα. Η παθοφυσιολογία της ΨΑ και της ψωρίασης είναι κοινή καθώς ο αρθρικός ιστός στην ΨΑ εκφράζει προφλεγμονώδεις κυτοκίνες: IL-1, IFN- $\gamma$  και TNF $\alpha$ . Στην ΨΑ, τα διηθητικά κύτταρα στους ιστούς και στο αρθρικό υγρό έδειξαν μεγάλες κλωνικότητες των CD8+ T κυττάρων (31). Η παθολογία της άρθρωσης, συγκεκριμένα η καταστροφή των οστών, προκαλείται εν μέρει μέσω της σηματοδότησης IL-17A, η οποία επάγει τον υποδοχέα ενεργοποίησης του RANKL και με την σειρά του ενεργοποιεί τους οστεοκλάστες. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-1 $\beta$  και TNF- $\alpha$  δρουν σε συνέργεια με το τοπικό περιβάλλον (32).

### 1.1.3 Γενετική

Η ψωρίαση έχει γενετικό υπόβαθρο που υποστηρίζεται από ένα πρότυπο οικογενειακής συσσώρευσης. Οι συγγενείς πρώτου και δεύτερου βαθμού ασθενών με ψωρίαση έχουν αυξημένη συχνότητα εμφάνισης ψωρίασης, ενώ τα μονοζυγωτικά δίδυμα έχουν διπλάσιο έως τριπλάσιο κίνδυνο σε σύγκριση με τα διζυγωτικά (33, 34). Ο προσδιορισμός της ακριβούς επίδρασης της γενετικής στη διαμόρφωση της έμφυτης και της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης έχει αποδειχθεί προβληματική τόσο για την ψωρίαση όσο και για άλλα ανοσοεπαγώμενα νοσήματα (35). Γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με την ψωρίαση εμπλέκονται σε διαφορετικές βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένων του λειτουργιών του ανοσοποιητικού συστήματος,

όπως η παρουσίαση αντιγόνου, η φλεγμονή και η βιολογία των κερατινοκυττάρων (1). Αρκετές γενετικές μεταλλάξεις έχουν συσχετισθεί με την φλυκταινώδη ψωρίαση. Μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας στον ανταγωνιστή του υποδοχέα IL-36 (*IL36RN*) συσχετίζονται με την γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση (36, 37). Αυτές οι μεταλλάξεις οδηγούν σε υπερέκφραση της IL-36 και στην αύξηση της έκφρασης των ουδετερόφιλων χημειοκινών συμπεριλαμβανομένης της IL-8. Άλλες γενετικές μεταλλάξεις που έχουν εντοπιστεί ότι συμβάλλουν στις φλυκταινώδεις μορφές της ψωρίασης περιλαμβάνουν το *AP1S3* (38) και το *CARD14* (14). Το *AP1S3* κωδικοποιεί μία υποομάδα του μεταγραφικού παράγοντα AP-1(activating protein-1) και μέσω της μη φυσιολογικής συσσώρευσης του p62 επηρεάζει τη σηματοδότηση του NF-κB(nuclear factor-κB) και αυξάνει την έκφραση της IL-1B, της IL-36 και των ουδετερόφιλων χημειοκινών συμπεριλαμβανομένων του CXCL8 (39). Οι μεταλλάξεις του *CARD14* που σχετίζονται με την ψωρίαση σχετίζονται με αυξημένη ενεργοποίηση του NF-κB και αυξημένη έκφραση mRNA για το CXCL8 και τις κυτοκίνες IL-36. Από αυτά τα τρία γονίδια αυξημένου ρίσκου για φλυκταινώδη ψωρίαση μόνο το γονίδιο *CARD14* σχετίζεται επίσης με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιας ψωρίασης κατά πλάκας (14).

Genome-wide linkage αναλύσεις σε οικογένειες με ψωρίαση μέχρι στιγμής ανιχνεύουν τουλάχιστον 60 χρωμοσωμικούς τόπους που συνδέονται με την ψωριασική ευαισθησία, με τον σημαντικότερο τόπο να φαίνεται ότι είναι το *PSORS1*, που το αποδίδεται το 50% της κληρονομικότητας της νόσου (40). Το *PSORS1* βρίσκεται στο 6p21 χρωμόσωμα εντός του μείζονως συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC) το οποίο βρίσκεται στη τελομερική περιοχή της

τάξεως I του HLA-B και εκτείνεται περίπου στο 220 kb μακρύ τμήμα και αντιστοιχεί έως το HLA-Cw6 (C\*06:02). Το HLA-Cw6 είναι στενά συνδεδεμένο με την πρώιμη και οξεία έναρξη της ψωρίασης (41, 42) αφού το αλληλόμορφο HLA-C\*06:02 εμφανίζεται σε περισσότερους από το 60% των ασθενών και αυξάνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση ψωρίασης 9 έως 23 φορές. Ωστόσο, στην όψιμη έναρξη ψωρίασης ή της φλυκταινώδους ψωρίασης δεν έχει καταστεί δυνατό να διαπιστωθεί καμία συσχέση με το *PSORS1*, γεγονός που πιθανώς αντανακλά σε ένα ετερογενές γενετικό υπόβαθρο που σχετίζεται με τους διαφορετικούς κλινικούς φαινότυπους. Το *PSORS2* εκτείνεται στο γονίδιο *CARD14*, ενώ το *PSORS4* εδρεύει στο επιδερμικό σύμπλεγμα διαφοροποίησης (43-45). Τα αποτελέσματα μελετών συσχέτισης του γονιδιώματος στην ψωρίαση συμφωνούν με τον κυρίαρχο ρόλο του *PSORS1* ως παράγοντα κινδύνου και έχουν αναδείξει περισσότερους από 50 μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς συσχετιζόμενους με την ψωρίαση (46-49).

Η ανοσογενετική της ψωρίασης είναι στενά συνδεδεμένη με την IL-23. Η IL-23 είναι ένα διμερές που αποτελείται από μια ειδική υπομονάδα, p19, και μια υπομονάδα p40, η οποία είναι κοινή με την IL-12. Η IL-23 σηματοδοτεί μέσω ενός ετεροδιμερούς υποδοχέα που εκφράζεται τόσο από τα έμφυτα όσο και από τα επίκτητα ανοσοκύτταρα, τα οποία περιλαμβάνουν Th17, φυσικούς φονείς (NK) T, γδ T κύτταρα και RORγt+ έμφυτα λεμφοειδή κύτταρα. Ο υποδοχέας IL-23R σηματοδοτεί μέσω του JAK2/TYK2 και του STAT3 (50). SNPs στις περιοχές που κωδικοποιούν την κυτοκίνη IL-23 (τόσο η υπομονάδα p40 όσο και η p19) καθώς και η IL-23R έχουν αναγνωριστεί ότι εκφράζουν υψηλό ρίσκο για την εμφάνιση ψωρίασης. Επιπρόσθετα αυτές οι

παραλλαγές έχει φανεί ότι συσχετίζονται με την νόσο του Crohn, την ΨΑ και την αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα. Η IL-23 οδηγεί στην διέγερση των Th17 κυττάρων που με την σειρά τους παράγουν IL-17A/F, όπου και αυτές αποτελούν ένα σύνολο κυτοκινών των οποίων ο ρόλος στην παθογένεια της ψωρίασης είναι γνωστός. Μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν τόσο την κοινή p40 όσο και την ειδική p19 υποομάδα της IL-23 με αποδεδειγμένη κλινική αποτελεσματικότητα (51).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, το STAT3 βρίσκεται στη σηματοδότηση από την IL-23, και επομένως είναι απαραίτητο στην ανάπτυξη των T κυττάρων και στην πόλωση Th17. Το STAT3 έχει επίσης ανιχνευθεί σε μελετες GWAS της ψωρίασης και οι παραλλαγές του σχετίζονται με υψηλό ρίσκο εμφάνισης ψωρίασης. Επιπλέον, ο παράγοντας μεταγραφής Runx1 επάγει τη διαφοροποίηση των Th17 αλληλεπιδρώντας με το RORγt, και η αλληλεπίδραση του Runx1 με το Foxp3 οδηγεί σε μειωμένη έκφραση της IL-17 (52).

Χαρτογραφώντας το *CARD14* αποδείχθηκε ότι αντιστοιχεί στο *PSORS2*. Η οικογένεια *CARD* περιλαμβάνει πρωτεΐνες που ενεργοποιούν τον NF-κB. Προτάθηκε ότι σε ασθενείς με ψωρίαση με αντίστοιχες μεταλλάξεις *CARD14*, ένα συμβάν ενεργοποίησης μπορεί να οδηγήσει σε ανώμαλη υπερενεργοποίηση του NF-κB. Το *CARD14* εκφράζεται στα κερατινοκύτταρα και στο ψωριασικό δέρμα, αυξάνεται στα υπερβασικά επιδερμικά στρώματα και μειώνεται στα βασικά στρώματα. Στο υγιές δέρμα, το *CARD14* εντοπίζεται κυρίως στη βασική στοιβάδα. Οι μεταλλάξεις στο *CARD14* έχουν αποδειχθεί ότι σχετίζονται με την ψωρίαση, καθώς και με την οικογενή pityriasis rubra pilaris (53).

Το σηματοδοτικό μονοπάτι του NF-κΒ εμπλέκεται στην παραγωγή της IL-17 και του TNF-α και με αυτόν τον τρόπο συμμετέχει τόσο στην έμφυτη όσο και στην επίκτητη ανοσολογική απόκριση, αυξάνεται στις ψωριασικές βλάβες και ανταποκρίνεται στη θεραπεία (54). Γονιδιακές παραλλαγές σε NFKBIA, TNIP1 και TRAF3IP2 που επηρεάζουν τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες του NF-κΒ συνδέονται με την ψωρίαση μέσω των κωδικονίων TRAF3IP2 για την πρωτεΐνη προσαρμογέα ACT1 και τη συγκεκριμένη παραλλαγή TRAF3IP2 p. Το Asp10Asn συσχετίστηκε τόσο με την ψωρίαση όσο και με την ΨΑ (55).

Οι διαφορετικοί κλινικοί φαινότυποι της ψωρίασης μπορεί να έχουν και επιπλέον γενετικές διαφορές. Μετάλλάξεις στον ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-36, που ανήκει στην οικογένεια προ-φλεγμονωδών κυτοκινών IL-1, έχουν συσχετισθεί με την φλυκταινώδη ψωρίαση. Υπολειπόμενες μεταλλάξεις στο IL36RN κωδικοποιούν για τον ανταγωνιστή υποδοχέα της IL-36 έχουν συσχετισθεί με την γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση. Αυτές οι μεταλλάξεις ανιχνεύονται στην palmar plantar pustulosis και στην acrodermatitis continua of Hallopeau. Επιπλέον, οι ασθενείς με προϋπάρχουσα ψωρίαση κατά πλάκας και μετάλλαξη στο *CARD14*, p.Asp176H φάνηκε να αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την ανάπτυξη γενικευμένης φλυκταινώδους ψωρίασης (56, 57).

Παρά τα ισχυρά δεδομένα της γενετικής σχέσης στην παθογένεια της ψωρίασης, καμία γενετική παραλλαγή δεν φαίνεται να είναι επαρκής από μόνη της να εξηγήσει την ανάπτυξη της νόσου. Ως εκ τούτου, ένα πολυπαραγοντικό περιβάλλον που περιλαμβάνει πολλαπλές γενετικές μεταλλάξεις και περιβαλλοντικούς παράγοντες, στους οποίους έχει αποδοθεί

έως και το 30% του κινδύνου ανάπτυξης της ασθένειας, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη (57).

#### **1.1.4 Αυτοανοσία Στην Ψωρίαση**

Η ψωρίαση είναι μια ασθένεια όπου κάθε ένας από τους μεμονωμένους κλινικούς φαινότυπους αντιπροσωπεύει μια διαφορετική ισορροπία ανοσολογικών διεργασιών. Η μεγαλύτερη κατανόηση των μηχανισμών της νόσου που εμπλέκονται στην ψωρίαση και των κλινικών υποτύπων της και θα οδηγήσει σε νέους τρόπους αποτελεσματικής θεραπευτικής αντιμετώπισης (1).

Η ψωρίαση φαίνεται να έχει σχετιζόμενους αυτοάνοσους παθομηχανισμούς. Τα LL37 και ADAMTSL5 είναι ένα από τα δύο περισσότερο μελετημένα αυτοαντιγόνα T κυττάρων στην ψωρίαση. Τα CD4+ και τα CD8+ T κύτταρα, ειδικά για τα LL37, ανιχνεύονται στα 2/3 των ασθενών με μέτρια προς σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκας. Τα ειδικά LL37 T κύτταρα παράγουν IFN- $\gamma$  και τα CD4+ T κύτταρα παράγουν IL-17, IL-21 και IL-22. Τα LL37 ειδικά T λεμφοκύτταρα ανιχνεύονται τόσο στο προσβεβλημένο δέρμα όσο και στο αίμα των ασθενών και συσχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου (58). Τα CD8+ T κύτταρα που ενεργοποιούνται μέσω του LL37 εμπλέκονται στον επιδερμοτροπισμό, την αναγνώριση αυτοαντιγόνων και την περαιτέρω έκκριση των κυτταροκινών Th17. Η μελανοκυτταρική πρωτεΐνη ADAMTSL5 βρέθηκε ότι είναι ένα αυτοαντιγόνο παρουσιαζόμενο από το HLA-C\*06:02 για αναγνώριση από τα αυτοαντιδραστικά CD8+ T κύτταρα. Αυτή η διαπίστωση

καθιερώνει τα μελανοκύτταρα ως κύτταρα στόχους, χωρίς ωστόσο να αποκλείει και άλλους κυτταρικούς στόχους (59).

Άλλα υποψήφια αυτοαντιγόνα περιλαμβάνουν, λιπιδικά αντιγόνα που δημιουργούνται από την ομάδα IVD της φωσφολιπάσης A2 (PLA2) (PLA2G4D) και της κερατίνης 17 (60, 61) που προέρχεται από τον θύλακα της τρίχας. Η έκθεση σε κερατίνη 17 οδηγεί σε πολλαπλασιασμό των CD8+ T κυττάρων μόνο σε ασθενείς με το αλληλόμορφο HLA-Cw\*0602 (62).

### **1.1.5 Ψωρίαση και Συν-νοσηρότητες**

Η ψωρίαση συνήθως προσβάλλει το δέρμα, αλλά μπορεί να συνοδεύεται από προσβολές άλλων οργάνων και συστημάτων. Η φλεγμονή δεν περιορίζεται μόνο στο δέρμα αλλά επηρεάζει και διαφορετικά συστηματικά όργανα. Έτσι, αυτού η ψωρίαση θεωρείται μία συστηματική νόσος και όχι αποκλειστικά μία δερματική πάθηση. Σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό οι ασθενείς με ψωρίαση παρουσιάζουν υπερλιπιδαιμία, υπέρταση, στεφανιαία νόσο, σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καταθλιπτική συνδρομή και αυξημένο δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ). Το μεταβολικό σύνδρομο και είναι δύο φορές πιο συχνές στους ασθενείς με ψωρίαση σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό, ενώ μελέτες έχουν δείξει υψηλότερο επιπολασμό σακχαρώδους διαβήτη και καρδιαγγειακών παθήσεων που συσχετίζονται με την βαρύτητα της ψωρίασης. Παρότι οι απόψεις σχετικά με την συμβολή της ψωρίασης ως παράγοντα αυξημένου καρδιαγγειακού κινδύνου είναι διφορούμενες, τα περισσότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ψωρίαση αυξάνει τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικού επεισοδίου και θάνατο λόγω

καρδιαγγειακής νόσου. Επιπρόσθετα διαπιστώθηκε ότι ο κίνδυνος ισχύει και για μέτρια προς ήπια ψωρίαση (63-70).

Η φλεγμονή των αρθρώσεων σε ασθενείς ψωρίαση οδηγεί στην ΨΑ. Οι δερματικές εκδηλώσεις συνήθως προηγούνται της ΨΑ και απαιτεί συστηματική θεραπεία. Η ΨΑ αναπτύσσεται περίπου στο 20-40% των ασθενών με ψωρίαση και περίπου το 15% των ασθενών με ΨΑ είναι υποδιαγνωσμένοι (71-75). Η ΨΑ κλινικά εμφανίζεται με δακτυλίτιδα και ενθεσίτιδα, ολιγοαρθρίτιδα ή πολυαρθρίτιδα. Η πολυαρθρίτιδα και ιδιαίτερα η αρθριτιδα των άπω φαλαγγικών αρθρωσεων έχει συσχετισθεί με την ύπαρξη ψωριασικής ονυχίας (75). Η ψωρίαση των ονύχων μπορεί να επηρεάσει πάνω από το 50% των ασθενών με ψωρίαση και μπορεί να εμφανιστεί ως η μόνη εκδήλωση ψωρίασης σε 5-10% των ασθενών. Η προσβολή της μήτρας των ονύχων εμφανίζεται με λευκονυχία και ονυχοδυστροφία ενώ η φλεγμονή της κοίτης του ονύχα εμφανίζεται με αποχρωματισμένα στίγματα, αιμορραγίες και ονυχόλυση. Η ψωριασική προσβολή των ονύχων σχετίζεται με την προσβολή των αρθρώσεων, καθώς το 80% των ασθενών με ΨΑ έχουν και προσβολή των ονύχων (76, 77).

Επιπρόσθετα με την αύξηση του κινδύνου για ανάπτυξη καρδιομεταβολικών νοσημάτων η ψωρίαση συσχετίζεται επίσης με υψηλότερο επιπολασμό γαστρεντερικής προσβολής. Κοινά ανοσολογικά μονοπάτια που μοιράζονται μεταξύ τους η ψωρίαση και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου εδραιώνουν αυτήν την συσχέτιση, ιδίως όσον αφορά την νόσο του Crohn.

Συνολικά, η ψωρίαση με τις συν-νοσηρότητες έχει επιβαρυντική επίδραση τόσο στην ποιότητα ζωής των ασθενών όσο και στην βαρύτητα της νόσου. Στην ψωρίαση η διαταραχή της ψυχολογίας είναι ταυτόσημη με αυτή των

ασθενών με καρκίνο, εμφραγμα του μυοκαρδίου και κατάθλιψη. Η υψηλή επιβάρυνση πιστεύεται ότι οφείλεται στα επιπρόσθετα συμπτώματα της νόσου (πόνος, κνησμό, αιμορραγία διαταραχή του ύπνου κ.α.). Οι ασθενείς με ψωρίαση έχουν αυξημένο επιπολασμό κατάθλιψης (78, 79).

### **1.1.6 Θεραπεία**

Η ψωρίαση είναι μια χρόνια νόσος, και συχνά απαιτεί μακροχρόνια θεραπεία. Η επιλογή της θεραπείας για την ψωρίαση καθορίζεται από τη σοβαρότητα της νόσου, τις συννοσηρότητες και την πρόσβαση στην υγειονομική περίθαλψη. Οι ασθενείς με ψωρίαση μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες, σε αυτούς με ήπια ή μέτρια έως την σοβαρή ψωρίαση, ανάλογα με την κλινική βαρύτητα των βλαβών, το ποσοστό της προσβεβλημένης επιφάνειας του σώματος καθώς και τον δείκτη ποιότητας ζωής του ασθενούς. Η σοβαρότητα της κλινικής νόσου και η ανταπόκριση στη θεραπεία μπορούν να βαθμολογηθούν μέσω μιας σειράς διαφορετικών δεικτών. Ο δείκτης PASI έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς (80).

Η ήπια έως μέτρια ψωρίαση μπορεί να αντιμετωπιστεί με συνδυασμό τοπικών γλυκοκορτικοειδών, βιταμίνης D και φωτοθεραπείας. Η μέτρια έως σοβαρή ψωρίαση απαιτεί συχνά συστηματική θεραπεία. Η παρουσία συννοσηροτήτων όπως η ΨΑ είναι επίσης πολύ σημαντική στην επιλογή της θεραπευτικής κατεύθυνσης (5, 81).

#### **1.1.6.1 Θεραπείες με μικρά μόρια**

Τα τελευταία χρόνια, μια επιταχυνόμενη ανάπτυξη σε νέες θεραπείες στην ψωρίαση έχει οδηγήσει σε προηγμένα στοχευμένα βιολογικά φάρμακα. Η μεθοτρεξάτη (MTX), η κυκλοσπορίνη και τα ρετινοειδή είναι συμβατικά συστηματικά αντιρευματικά φάρμακα για την ψωρίαση.

Η απρεμιλάστη, είναι ένας αναστολέας της φωσφοδιεστεράσης-4 και έτσι αναστέλλει την υδρόλυση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP). Αυτό οδηγεί σε μειωμένη έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών TNF-α, IFN $\gamma$  και IL-12 και σε αύξηση των επιπέδων της IL-10. .

Τα συμβατικά συστηματικά φάρμακα είναι ανοσοτροποποιητικά, τα οποία εκτός από την απρεμιλάστη απαιτούν στενή κλινική παρακολούθηση για παρενέργειες από τους νεφρούς και το ήπαρ. Οι πιθανές παρενέργειες της απρεμιλάστης συνήθως δεν είναι απειλητικές για τη ζωή, αλλά μπορεί να είναι επαρκείς για να δικαιολογήσουν τη διακοπή (7).

### 1.1.6.2 Βιολογικοί Παράγοντες

Τα βιολογικά φάρμακα διαφέρουν από τις προαναφερθείσες συστηματικές θεραπείες στο ότι στοχεύουν σε συγκεκριμένες φλεγμονώδεις οδούς. Τα βιολογικά φάρμακα στοχεύουν σε μονοπάτια κρίσιμα για την ανάπτυξη και τη χρονιότητα της ψωριασικής πλάκας: τον άξονα IL-23/Th17 και τη σηματοδότηση του TNF-α (7).

- *TNF-α*

Αποτελούν την πρώτη γενιά βιολογικών παραγόντων και είναι αποτελεσματικοί τόσο στην ψωρίαση κατά πλάκας όσο και στην ΨΑ.

#### **Άξονας IL23/Th17**

Η IL-23 οδηγεί στην διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων των οποίων οι φλεγμονώδεις επιδράσεις με τη σειρά τους διαμεσολαβούνται από τις IL-17A, IL-17F και IL-22.

- *IL-23*

Η IL-23 είναι ένα διμερές που αποτελείται από την p40 και την p19 υποομάδα. Ο πρώτος βιολογικός παράγοντας που εγκρίθηκε για τη κοινή ψωρίαση μετά τους αναστολείς του TNF-α ήταν η ουστεκινουμάμπη, η οποία είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στρέφεται κατά της υποομάδας p40 που είναι υπάρχει και στην IL-23 και στην IL-12. Η κλινική αποτελεσματικότητα της ουστεκινουμάμπης και η περαιτέρω αποσαφήνιση του μηχανισμού δράσης του υπογράμμισαν τον κρίσιμο ρόλο της IL-23 στη διαμόρφωση της απόκρισης των Th17 κυττάρων. Από την άλλη πλευρά, η σηματοδότηση Th1 είναι σημαντική για την απόκριση έναντι παθογόνων και μια μελέτη έδειξε ότι η

σηματοδότηση της IL-12 έχει προστατευτική δράση σε ένα μοντέλο φλεγμονής που μοιάζει με αυτό της ψωρίασης. Από εκεί οδηγήθηκαν στην ανάπτυξη φαρμάκων που στοχεύουν την p19 υποομάδα, η οποία είναι αποκλειστική υπομονάδα της IL-23. Αυτή η πιο στοχευμένη προσέγγιση έχει επιφέρει επιτυχημένα κλινικά αποτελέσματα (82, 83).

- *IL-17*

Η σεκουκινουμάμπη ήταν ο πρώτος αναστολέας της IL-17A που εγκρίθηκε για την ψωρίαση το 2015. Ένα χρόνο αργότερα, η έγκριση επεκτάθηκε για την θεραπεία της αγκυλοποιητικής σπονδυλίτιδας και της ΨΑ. Η σεκουκινουμάμπη και η ιζεκιζουμάμπη έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές θεραπείες (84).

Η μπρουνταλουμάμπη είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τον υποδοχέα IL-17 τύπου A, αναστέλλοντας έτσι τη βιολογική δραστηριότητα της IL-17A, IL-17F, IL-17A/F και IL-17E (ονομάζεται επίσης IL-25). Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του αποκλεισμού της IL-17 περιλαμβάνουν ρινοφαρυγγίτιδα, πονοκέφαλο, λοίμωξη της ανώτερης αναπνευστικής οδού και αρθραλγίες. Επιπλέον, η σηματοδότηση της IL-17 είναι κρίσιμη για την άμυνα ενάντια στα εξωκυτταρικά βακτήρια και της μυκητιασικές λοιμώξεις. Τα αντι-IL-17 φάρμακα δεν ενδείκνυνται για τους ασθενείς με ψωρίαση που πάσχουν και από φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (85, 86).

- *Βιομοειδή στην Ψωρίαση*

Το βιομοειδές είναι ένα βιολογικό προϊόν που πρέπει να πληροί δύο απαιτήσεις: να είναι σχεδόν όμοιο με ένα εγκεκριμένο βιολογικό προϊόν και να μην έχει κλινικά σημαντικές διαφορές στην ασφάλεια, την καθαρότητα ή την

ισχύ σε σύγκριση με το προϊόν αναφοράς. Οδηγίες για την ανάπτυξη και έγκριση βιοομοειδών έχουν εκδοθεί από τον Ευρωπαϊκό Οργανισμό Φαρμάκων, τον FDA και τον Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας. Μειώνοντας το κόστος της συστηματικής θεραπείας για ασθενείς με ψωρίαση, τα βιοομοειδή μπορούν επίσης να αυξήσουν την πρόσβαση σε βιολογικές θεραπείες (7).

Η ψωρίαση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος για την οποία έχουν προκύψει διάφορες νέες θεραπείες τα τελευταία χρόνια. Παρά τις στοχευμένες θεραπείες, η ψωρίαση παραμένει μία θεραπεύσιμη αλλά μέχρι στιγμής μη ιάσιμη ασθένεια. Οι στοχευμένες θεραπείες αναστολής της IL-23 και της IL-17 δείχνουν υψηλή κλινική αποτελεσματικότητα. Παρά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των στοχευμένων θεραπειών, λόγω οικονομικών παραγόντων, δοσολογικών σχημάτων και προφίλ ανεπιθύμητων ενεργειών, τα φάρμακα ευρείας δράσης παραμένουν ο βασικός άξονας της συστηματικής θεραπείας της ψωρίασης. Ο ρόλος της γενετικής μένει να αποσαφηνιστεί όχι μόνο στο πλαίσιο της προδιάθεσης για την ανάπτυξη της νόσου, αλλά και στη διαμόρφωση διακριτών τύπων ψωρίασης με βάση τις κυτοκίνες και στον εντοπισμό δεικτών απόκρισης στη θεραπεία. Σαφώς, η ψωρίαση είναι επί του παρόντος μια από τις καλύτερες κατανοητές και θεραπεύσιμες χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους (85, 87).

## **1.2 ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ**

Η ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ) είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος που η εμφάνισή της εξαρτάται τόσο από την γενετική προδιάθεση όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες και ανήκει στις σπονδυλοαρθροπάθειες (88,

89). Χαρακτηρίζεται από ψωρίαση, αρθρίτιδα, ενθεσίτιδα, σπονδυλίτιδα και είναι πιθανό να σχετίζεται με εξωαρθρικές εκδηλώσεις και συνοσηρότητες. Η χρόνια φλεγμονή των ιστών μπορεί να οδηγήσει σε δομικές βλάβες και μείωση της λειτουργικότητας καθώς και μείωση στην ποιότητα ζωής (90). Η εξαιρετική αποτελεσματικότητα των αναστολέων του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF) στα διαφορετικά κλινικά χαρακτηριστικά της ΨΑ παρέχει έμμεση απόδειξη ενός κοινού παθογενετικού μηχανισμού, υποστηρίζοντας την άποψη μιας μοναδικής κατάστασης, εξού και ο όρος ψωριασική νόσος (91). Οι γενετικές έρευνες αποτελούν πρόκληση καθώς η ΨΑ είναι μια ετερογενής ασθένεια (92).

### **1.2.1 Επιπολασμός και συχνότητα εμφάνισης ΨΑ στο γενικό πληθυσμό**

Ο επιπολασμός της ΨΑ κυμαίνεται από 0.1% έως 1% στον γενικό πληθυσμό στον κόσμο (93, 94). Εμφανίζεται μεγάλη ετερογένεια στις διάφορες μελέτες οι οποίες σχετίζονταν εν μέρει με τη γεωγραφική περιοχή και τον ορισμό της ΨΑ. Ο εκτιμώμενος επιπολασμός της ΨΑ ήταν 1 ανά 100.000 στην Ιαπωνία (95) και 670 ανά 100.000 στη Νορβηγία (96). Επιπλέον, ο επιπολασμός ποικίλλει μεταξύ των χωρών μιας υποηπείρου. Ωστόσο, οι διαφορές που προκύπτουν μεταξύ των μελετών σχετίζονται πιθανώς με παράγοντες όπως το γενετικό υπόβαθρο, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (κλίμα και λοιμώξεις), ο τρόπος ζωής (κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ και παχυσαρκία) και διατροφικές συνήθειες (μεσογειακή διατροφή και κατανάλωση μωρουνέλαιου) (97).

### **1.2.2 Παθαγένεια της Ψωριασικής αρθρίτιδας**

Η εξαιρετική αποτελεσματικότητα των αναστολέων του TNFα στις διαφορές κλινικές εκδηλώσεις της ΨΑ παρέχει έμμεση απόδειξη ενός κοινού παθογενετικού μηχανισμού, υποστηρίζοντας την άποψη μιας κλινικής οντότητας, εξού και ο όρος ψωριασική νόσος (91). Οι γενετικές έρευνες αποτελούν πρόκληση καθώς η ΨΑ είναι μια ετερογενής ασθένεια (92).

Τα αυξανόμενα δεδομένα υποστηρίζουν τον ρόλο της έμφυτης ανοσίας, αυστηρά συνυφασμένη με την ενεργοποίηση του επίκτητου ανοσοποιητικού συστήματος, στην παθογένεια της ΨΑ (98).

Η ΨΑ εμφανίζεται σε ασθενείς με ψωρίαση (99, 100). Στις περισσότερες περιπτώσεις, υπάρχει μια λανθάνουσα περίοδος αρκετών ετών πριν από την ανάπτυξη της αρθρίτιδας, η οποία παρέχει την ευκαιρία να μελετηθούν οι παράγοντες κινδύνου για την ΨΑ. Οι μελέτες υποδεικνύουν ότι μια σύνθετη αλληλεπίδραση πολλαπλών παραγόντων εμπλέκονται στην μετάβαση αυτή και ένας μεμονωμένος παράγοντας μπορεί να μην είναι σε θέση να καθορίσει αποτελεσματικά τους ασθενείς με υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης ΨΑ. Μεταξύ αυτών των παραγόντων, είναι σημαντικό να ταξινομηθούν οι παράγοντες κινδύνου και οι προγνωστικοί παράγοντες (101).

Ορισμένοι παράγοντες που συσχετίζονται με την ψωρίαση, όπως η σοβαρότητα της νόσου, οι βλάβες των ονύχων και η προσβολή ορισμένων περιοχών του σώματος (μεσογλουτιαία αύλακα), έχουν συσχετιστεί με την ανάπτυξη της ΨΑ (101, 102). Μελέτες υποδεικνύουν ότι ορισμένοι τύποι ψωρίασης όπως η ψωριασική ονυχία, η ψωρίαση του τριχωτού της κεφαλής και η ανάστροφη ψωρίαση σχετίζονται με την ανάπτυξη της ΨΑ (103) και ψωριασικές βλάβες σε συγκεκριμένα σημεία, όπως οι αλλοιώσεις του

τριχωτού της κεφαλής και οι μεσογλουτιαίες ή περιπρωκτικές βλάβες (104). Όσον αφορά την συσχέτιση της ΨΑ με διαφόρους τύπους ψωρίασης, πέρα από την ανάστροφη ψωρίαση δεν έχει περιγραφεί κάποια άλλη συσχέτιση συγκεκριμένων τύπων ψωρίασης με ΨΑ. Τέλος, τα μη ειδικά μυοσκελετικά συμπτώματα όπως οι αρθραλγίες, η κόπωση και η δυσκαμψία στην πρόδρομη φάση της ΨΑ, σχετίζονται με την ανάπτυξη ΨΑ (105, 106) και μπορεί να υποδηλώνουν πρώιμη φλεγμονή της άρθρωσης ή της ένθεσης (107).

Η συσχέτιση του ψυχολογικού στρες με την έναρξη της ΨΑ, άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων και της ψωρίασης έχει περιγραφεί σε αρκετές μελέτες (108-110) όπως και η συσχέτιση με λοιμώξεις. Λοιμώξεις έχουν συσχετιστεί με την ΨΑ (111). Ομοίως, τόσο η ψωρίαση όσο και η ΨΑ βρέθηκε να είναι πιο συχνές σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) (112). Σε αυτές τις μελέτες, η ψωρίαση και η ΨΑ εμφανίζονταν συχνά ακριβώς πριν από την ανάπτυξη ευκαιριακών λοιμώξεων στον HIV. Ανάλογα αποτελέσματα φαίνεται να έχουν και άλλες μελέτες που συσχετίζουν την εμφάνιση ψωρίασης ή ΨΑ μετά από λοιμώξεις ιών ή βακτηρίων όπως είναι ο κυτταρομεγαλοϊός ή το Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού.

### **1.2.3 Γενετική της Ψωριασικής Αρθρίτιδας**

Είναι γνωστό ότι τόσο οι περιβαλλοντικοί όσο και γενετικοί παράγοντες συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ΨΑ. Το ποσοστό εμφάνισης ψωρίασης μεταξύ μονοζυγωτικών διδύμων είναι μεταξύ του 20% και 64%, υποδεικνύοντας ότι οι γενετικοί παράγοντες αντιπροσωπεύουν περίπου το

70% της προδιάθεσης για την εμφάνιση ψωρίασης. Τα τελευταία χρόνια, οι μελέτες συσχέτισης του γονιδιόματος βοήθησαν εντόπισαν 86 περιοχές περιοχές εκτός της περιοχής MHC που σχετίζονται με την ψωρίαση, αλλά μόνο ένα μέρος των θέσεων αυτών σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη ΨΑ (113).

Γενετικές παραλλαγές που σχετίζονται με την ΨΑ, ανεξάρτητα από αυτές που βρέθηκαν στην ψωρίαση βρέθηκαν κοντά στον IL23R και στο TNFAIP3 (Πρωτεΐνη 3 που προκαλείται από τον TNF $\alpha$ ). Η ΨΑ είναι μια ετερογενής ασθένεια με δερματική, αξονική και περιφερική προσβολή (114).

Η ψωρίαση και η ΨΑ έχουν πολυγονιδιακό υπόβαθρο, το οποίο επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την εμφάνιση και των δύο ασθενειών. Ο λόγος κινδύνου εκδήλωσης της νόσου στα αδέρφια έναντι του κινδύνου στο γενικό πληθυσμό της ΨΑ είναι μεγαλύτερος από 27, ο οποίος είναι ουσιαστικά υψηλότερος από τον λόγο κινδύνου υποτροπής για ψωρίαση ή ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA) (115). Οι GWAS έχουν αναγνωρίσει το HLA-C\*0602 ως το πιο πιθανό γονίδιο το PSORS1 (ευαισθησία ψωρίασης 1). Εννέα περιοχές ευαισθησίας για εμφάνιση ψωρίασης, που ονομάζονται PSORS1-9, ταυτοποιήθηκαν από τις οποίες μόνο 3 αντιγράφηκαν (PSORS1, 2 και 4). Τα PSORS 1 και 2 έχουν επίσης συνδεθεί με την ΨΑ, εντός του τόπου PSORS1, δύο γονίδια φαίνεται να καθορίζουν έναν εξαρτώμενο από το φύλο διαφορετικό κίνδυνο εμφάνισης για ψωρίαση (116). Περισσότερο από το 60% των ασθενών με ψωρίαση φέρουν το HLA-Cw6 (που αντιστοιχεί στο HLA-C\*0602), το οποίο θα μπορούσε να οδηγήσει από 9 έως 23 φορές σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Είναι ενδιαφέρον ότι οι αρνητικοί σε HLA-C\*0602 ασθενείς με

ψωρίαση ανταποκρίνονται σημαντικά στην θεραπεία με αντι-TNF παράγοντα απότι στην αγωγή με ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύει την υπομονάδα πρωτεΐνης p40, που μοιράζεται η IL-12 και η IL-23 (ουστεκινουμάμπη), αλλά δεν έχει καταγραφεί κανένα όφελος για τον αντι-TNF παράγοντα έναντι της ουστεκινουμάμπης σε HLA-C\*0602 θετικούς ασθενείς. Οι GWAS στην ΨΑ έχουν δείξει συσχέτιση με ορισμένους πολυμορφισμούς στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον IL-23R, μαζί με παραλλαγές στην έκφραση γονιδίου του NF-κB (TNFAIP3 αλληλεπιδρούσα πρωτεΐνη 1: TNIP1), την σηματοδότηση (TNFAIP3) και την έκφραση του TNF (117).

#### **1.2.4 Ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος και της αυτοανοσίας**

Η συσχέτιση της ψωρίασης και της ΨΑ με τα γονίδια του HLA υπογραμίζει τον παθογενετικό ρόλο των T κυττάρων και επιβεβαιώνεται περαιτέρω από την παρατήρηση ότι αυτοί οι ασθενείς εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) (118). Η έναρξη της ψωρίασης κατά τη διάρκεια του HIV θεωρείται παράδοξη αφού η εμφάνιση της ψωρίασης μεσολαβείται σε μεγάλο βαθμό από T λεμφοκύτταρα, ενώ ο HIV χαρακτηρίζεται από μείωση των T κυττάρων (119). Η ψωρίαση μπορεί να εμφανιστεί σε κάθε φάση της HIV λοίμωξης, ως αρχική εμφάνιση ή ως χαρακτηριστικό του συνδρόμου επίκτητης ανοσοανεπάρκειας και του φλεγμονώδους συνδρόμου ανοσοανασύστασης που σχετίζεται με τον HIV (IRIS). Ο HIV θα μπορούσε να διεγείρει άμεσα μια προ-φλεγμονώδη αντίδραση ως πηγή υπεραντιγόνων, καθώς ο αρνητικός ρυθμιστικός παράγοντας, μια πρωτεΐνη HIV, θα μπορούσε να λειτουργήσει ως αντιγόνο

από μόνο του. Επίσης, βακτηριακές και μυκητιασικές λοιμώξεις, οι οποίες μπορεί να εμφανιστούν κατά τις μεταγενέστερες φάσεις της μόλυνσης από τον HIV, θα μπορούσαν να ευνοήσουν την εξάπλωση του επιτόπου και την παραγωγή άλλων αντιγόνων.

Εκτός από τα μικροβιακά αντιγόνα, το LL-37, η πρωτεΐνη δισιντεγκρίνη A (disintegrin) και η περιοχή της μεταλλοπρωτεάσης που περιέχει θρομβοσπονδίνη τύπου 1 motif-like 5 (ADAMTSL5) μπορούν να λειτουργήσουν ως αυτοερεθίσματα για την αυτοανοσία (60, 120). Η ADAMTSL5, φυσιολογικά εκφράζεται σε επιθηλιακά κύτταρα, KCs και συνδετικούς ιστούς, παρουσιάζεται από το HLA-C\*0602 και ενεργοποιεί τα κύτταρα Th17. Η IL-17 μπορεί, με τη σειρά της, να αυξήσει την έκφραση των LL-37 και της ADAMTSL5, διαιωνίζοντας την αυτοάνοση απόκριση (60). Το LL-37 προάγει την παραγωγή του συνδετήρα χημειοκίνης μοτίβου C-X-C (CXCL1) motif chemokine ligand 1 (CXCL1), ο οποίος ενισχύει την επέκταση της ADAMTSL5, προκαλώντας πρόσθετη έκφραση της IL-17A και της IFN- $\gamma$  (120, 121). Έπειτα από την ενεργοποίηση των DC και των KCs και με την συνακόλουθη παραγωγή κυτοκινών, τα T κύτταρα μεταναστεύουν στην επιδερμίδα, όπου αναγνωρίζουν τα προαναφερθέντα αυτοαντιγόνα και παράγουν IL-17 και IL-22. Σε αυτό το σημείο, τα ενεργοποιημένα T κύτταρα επάγουν τον πολλαπλασιασμό των επιδερμικών κυττάρων ενεργοποιώντας τα KCs, τα οποία συνεχίζουν να απελευθερώνουν χημειοκίνες, υποστηρίζοντας την αυτοάνοση απόκριση (120).

Πιθανολογείται ότι κάθε κλινικός τύπος ψωρίασης έχει διαφορετική παθογενετική οδό. Πρόσφατα, μία συστοιχία από αντιγόνα που φέρει

υποτιθέμενα αυτοαντιγόνα, ακολουθούμενη από validation με χρήση μεμονωμένων ELISA, επέτρεψε τον εντοπισμό δυνητικά παθογενετικών αυτοαντισωμάτων IgG που στοχεύουν τα LL-37 και ADAMTS-L5 στον ορό ασθενών με ΨΑ (121). Λόγω του ότι τα επίπεδα στον ορό ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με αυτά που βρέθηκαν σε ασθενείς με ψωρίαση χωρίς ΨΑ, αυτά τα μόρια θεωρήθηκε ότι εμπλέκονται στην παθογένεση της ΨΑ (122). Αυτό επιβεβαιώνει προηγούμενα ευρήματα που έδειχναν ότι μπορεί να βρεθούν αυτοαντισώματα σε ασθενείς με ΨΑ. Τέλος, ένας πληθυσμός T-λεμφοκυττάρων που εκφράζουν IL-17 και περιλαμβάνουν κυρίως CD8+T κύτταρα χωρίς παραδοσιακούς κυτταροτοξικούς δείκτες (IL-17+CD4-T κύτταρα) βρέθηκε σε υψηλά επίπεδα σε ασθενείς με ΨΑ, αλλά όχι σε ασθενείς με RA (123). Τα κύτταρα αυτά συσχετίστηκαν με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους της ενεργότητας της νόσου και με την παρουσία διαβρώσεων σε ασθενείς με ΨΑ, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή στην παθογένεση της ΨΑ, παρέχοντας ένα εμφανές σημείο ότι η ΨΑ μπορεί να είναι ανοσολογικά παρόμοια με την αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα παρά με την RA (124).

Ένα στοιχείο στοιχείο που θα μπορούσε να έχει καθοριστική σημασία για τη συμμετοχή του επικτητού ανοσιακού συστήματος στην ΨΑ είναι η παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό (125). Τα περιφερικά B λεμφοκύτταρα βρέθηκαν να είναι χαμηλότερα σε ασθενείς με ΨΑ σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες, υποδηλώνοντας τον πιθανό ρόλο τους στα πολύπλοκα ανοσολογικά συμβάντα που οδηγούν στην έναρξη και την εξέλιξη της νόσου (126). Επιπλέον, η ανίχνευση έκτοπων λεμφοειδών δομών και νεογένεσης στους αρθρικούς ιστούς της ΨΑ υποστηρίζει την πιθανότητα τα αυτοαντιγόνα να πυροδοτήσουν τοπικά το σχηματισμό αυτοαντισωμάτων (127). Πράγματι,

αντισώματα κατά κοινών πεπτιδίων που εκφράζονται από τον αρθρικό υμένα, το δέρμα και τα ένθετα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που στρέφονται προς τη φιμπριλλίνη, τη δεσμοκολίνη, την κερατίνη και τη σχετιζόμενη με τη νεφελίνη πρωτεΐνη αγκύρωσης, έχουν ανιχνευθεί στο 85% των ασθενών με ΨΑ και σε σημαντικά μικρότερο αριθμό ασθενών με RA, αλλά όχι σε υγιείς μάρτυρες (128).

Αν και σπάνια, η κίτρουλίωση πρωτεΐνης και η θετικότητα των αντισωμάτων αντι-κίτρουλινωμένης πρωτεΐνης (ACPAs) μπορούν να βρεθούν σε ασθενείς με ΨΑ (122). Η παρουσία ACPAs, που βρέθηκε επίσης στην SF όπως προαναφέρθηκε, συσχετίζεται με ένα πολυαρθρικό υποσύνολο, το γυναικείο φύλο, την πιο επιθετική και διαβρωτική συμμετοχή των αρθρώσεων και την υψηλότερη χρήση συστηματικών θεραπειών (129-131). Τα ACPA βρέθηκαν σε περίπου 5% των περιπτώσεων σε μια μεγάλη ομάδα ασθενών με ΨΑ, ειδικά σε αυτούς με υψηλότερο αριθμό διογκωμένων αρθρώσεων και σημαντικά υψηλότερα ποσοστά διαβρωτικών αλλαγών και δακτυλίτιδας σε σύγκριση με ασθενείς με ACPA-αρνητικούς (132). Σε μια άλλη μελέτη, περίπου το 12% των ασθενών με ΨΑ ήταν θετικοί για ACPA. Σε σύγκριση με τους οροαρνητικούς ασθενείς με ΨΑ οι θετικοί σε ACPA ασθενείς είχαν πιο συχνά πολυαρθρίτιδα, και ελάμβαναν πιο συχνά βιολογική θεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορεί να συμβεί λανθασμένη διάγνωση ΨΑ έναντι RA με συνυπάρχουσα ψωρίαση (133). Η παρουσία των ACPAs σχετίζεται με οστική καταστροφή, οδηγώντας στην υπόθεση ενός οστεο-καταβολικού αποτελέσματος αυτών των αυτοαντισωμάτων και ως εκ τούτου ρόλο στην παθογένεση της οστικής βλάβης τόσο σε ασθενείς με ΨΑ όσο και σε ασθενείς με RA. Πρόσφατα, η παρουσία αντισωμάτων έναντι αντι-καρβαμυλιωμένης

πρωτεΐνης (anti-CarP) δείχθηκε επίσης σε ασθενείς με ενεργό ΨΑ που ήταν αρνητικοί για ACPA. Σε αυτήν την μελέτη, τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι του CarP αυξήθηκαν σημαντικά σε σύγκριση με αυτά των υγιών μαρτύρων και συσχετίστηκαν με ορισμένες παραμέτρους της ενεργότητας της νόσου (134).

Αν και η αρνητικότητα έναντι του ρευματοειδούς παράγοντα (RF) περιλαμβάνεται στα κριτήρια ταξινόμησης CASPAR για την ΨΑ, η παρουσία RF έχει παρατηρηθεί σε περίπου 2% των ασθενών με ΨΑ, κυρίως σε αυτούς με πολυαρθρική προσβολή (135). Τέλος, μια ποικιλία άλλων αυτοαντισωμάτων έχει ανιχνευθεί στο 1-3% των ασθενών με ψωρίαση ή ΨΑ, συμπεριλαμβανομένων των αντιπυρηνικών αντισωμάτων, anti-dsDNA αντισωμάτων, anti-snRNP και κυτταροπλασματικών αντισωμάτων RNP, αντισωμάτων έναντι των επιδερμικών κυττάρων και του αντιμικροβιακού πεπτιδίου. Αναφέραμε ήδη αντισώματα που στοχεύουν τα LL37, τα οποία βρέθηκαν να είναι αυξημένα στο πλάσμα των ασθενών με ψωρίαση και ΨΑ και στην ΨΑ SF σε σύγκριση με την οστεοαρθρίτιδα και συσχετίζονται με το PASI (135, 136).

### **1.2.5 Κλινικές εκδηλώσεις της ψωριασικής αρθρίτιδας**

Σε αντίθεση με τα κλασικά αυτοάνοσα νοσήματα που είναι πιο συχνά στις γυναίκες, η ΨΑ εμφανίζεται εξίσου συχνά και στα δύο φύλα, και οι άντρες είναι 2-3 φορές πιο επιρρεπείς στην ΨΑ με αξονική προσβολή (137). Ο επιπολασμός και τα ποσοστά επίπτωσης ανάλογα με το φύλο είναι ίδια, επιβεβαιώνοντας ότι η ΨΑ επηρεάζει εξίσου τους άνδρες και τις γυναίκες (138).

### **Αρθρίτιδα**

Η ΨΑ προσβάλλει περιφερικές αρθρώσεις και τον αξονικό σκελετό (σπονδυλοαρθροπάθεια). Η προσβολή των περιφερικών αρθρώσεων έχει την μορφή πολυαρθρίτιδας, ολιγοαρθρίτιδας και σπανίως ακρωτηριαστικής αρθρίτιδας (arthritis mutilans). Η ολιγοαρθρίτιδα είναι ασύμμετρη και συνήθως προσβάλλει τις άπω φαλαγγικές αρθρώσεις των χεριών. Η κλινική πορεία της περιφερικής και της αξονικής προσβολής στην ΨΑ είναι συνήθως λιγότερο σοβαρή από της RA και της ΑΣ (139). Η ΨΑ έχει συχνά απότομη έναρξη, και μπορεί να εμφανίσει αυθόρμητη ύφεση. Σε μια προοπτική μελέτη, η συχνότητα ύφεσης στην περιφερική ΨΑ ήταν υψηλότερη σε σύγκριση με τη RA και παρατεταμένη ύφεση σε ασθενείς με ΨΑ ακόμη και μετά τη διακοπή της θεραπείας (140). Παρόμοια με την αρθρίτιδα, έχει παρατηρηθεί αυθόρμητη ή επαγόμενη από θεραπεία ύφεση της ενθεσίτιδας, ακόμη και μετά από σύντομη διάρκεια θεραπείας (141, 142).

### **Ενθεσίτιδα**

Η ενθεσίτιδα αντιπροσωπεύει ένα κοινό χαρακτηριστικό του φάσματος των ΣΠΑ και είναι κοινή εκδήλωση στην ΨΑ (137, 143, 144). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι μια περιοχή που υπόκειται σε υψηλή μηχανική καταπόνηση και χρόνιο μικροτραύμα, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση προφλεγμονωδών μεσολαβητών που οδηγούν σε αρθρίτιδα (145), (146). Μαγνητικές τομογραφίες (MRI) ασθενών με ΨΑ έδειξαν μια σύνδεση μεταξύ ενθεσίτιδας και αρθρίτιδας με οίδημα μυελού των οστών στις ενθέσεις και διάχυτη φλεγμονή που περιλαμβάνει τον περιβάλλοντα μαλακό ιστό, συμπεριλαμβανομένου του αρθρικού ιστού, των συνδέσμων, των τενόντων,

της ρίζας και της μήτρα των ονύχων (147). Η ενθεσίτιδα συνδέεται με την προσβολή των ονύχων καθώς και με δακτυλίτιδα, όπου η ενθεσίτιδα εξελήχθη σε τενοντοελυτριτιδα καμπτηρων τενοντων και προσβολη παράπλευρων συνδέσμων (148). Η ενθεσίτιδα εμφανίζεται συνήθως με τοπικό πόνο, ευαισθησία και μερικές φορές οίδημα, με τα πιο συχνά εμπλεκόμενα σημεία να αποτελούν ο αχίλλειος τένοντας και η πελματιαία περιτονία, οι τένοντες του τετρακέφαλου και της επιγονατίδας, η λαγόνια ακρολοφία, το στροφικό πέταλο του ώμου και οι κονδύλοι του αγκώνα. Παρότι η ενθεσίτιδα έχει τεκμηριωθεί στο ένα τρίτο του πληθυσμού με ΨΑ, με τη χρήση υπερηχογραφικής εξέτασης, φάνηκε μία ανώμαλη ένθεση στο 95,5% των ασθενών με πρώιμη ΨΑ (149).

### **Φλεγμονή του εντέρου**

Η υποκλινική φλεγμονή του εντέρου έχει περιγραφεί έως και στο 60% των ασθενών με ΣΠΑ και η νόσος του Crohn (CD) φαίνεται να εμφανίζει ισχυρότερη συσχέτιση με την ΨΑ (150-152). Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η φλεγμονή του εντέρου είναι πιθανό να συμμετέχει στην παθοφυσιολογία της ΨΑ (137). Η απορρύθμιση του επιθηλιακού φραγμού του εντέρου θα μπορούσε να ρυθμίσει την τοπική και συστηματική φλεγμονή με την ενεργοποίηση και εξάπλωση των έμφυτων ανοσοκυττάρων που αποικούν τον βλεννογόνο του εντέρου και μπορούν να μεταναστεύσουν προς εξω-εντερικά σημεία. Αυτά τα ευρήματα συνάδουν με τον γνωστό ρόλο των μικροβίων στην ανάπτυξη ορισμένων μορφών ΣΠΑ όπως η αντιδραστική αρθρίτιδα. Απόδειξη της συμβολής της μικροχλωρίδας του εντέρου στην ανάπτυξη της νόσου των αρθρώσεων και του εντέρου προήλθε από ζωικά μοντέλα που μιμούνται τη

συμμετοχή των αρθρώσεων και του εντέρου στην ανθρώπινη ΣΠΑ. Η δυσβίωση του εντέρου μπορεί να διεγείρει τα Th17 κύτταρα προκαλώντας την τοπική ενεργοποίηση των εγγενών κυττάρων του ανοσοποιητικού με αποτέλεσμα να μεταναστεύσουν σε αρθρικές θέσεις, συμπεριλαμβανομένων των ενθέσεων, οδηγώντας σε φλεγμονή (153).

### ***Ραγοειδίτιδα***

Η ραγοειδίτιδα που εμφανίζεται σε ασθενείς με ψωριασική νόσο είναι πρόσθια, μη μολυσματική και συνήθως προσβάλλει και τα δύο μάτια. Εμφανίζεται στο 7%–20% των ασθενών με ψωρίαση και με υψηλότερη συχνότητα σε ασθενείς που πάσχουν από ΨΑ και σχετίζεται με την ύπαρξη του HLA-B27. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να έχει χρόνια και σοβαρή πορεία και οι ασθενείς με ΨΑ τείνουν να έχουν περισσότερες οφθαλμικές επιπλοκές από εκείνους με ψωρίαση (154-156).

Εκτός από την πρόσθια ραγοειδίτιδα, η φλεγμονή του οπίσθιου τμήματος του οφθαλμού και η πανραγοειδίτιδα παρατηρείται στο 22%-44% των ασθενών με ψωριασική νόσο (157). Σε σύγκριση με υγιή άτομα, τα μονοπύρηνια κυτταρα ασθενων με ΨΑ και ιστορικό πρόσθιας ραγοειδίτιδας παράγουν υψηλότερα επίπεδα TNF $\alpha$ , υποδηλώνοντας υψηλότερη έμφυτη ανοσολογική ανταπόκριση. Η κλινική πορεία (αιφνίδια έναρξη με υποτροπιάζουσα πορεία) και η προαναφερθείσα παθογενετική οδός υποστηρίζουν το ρόλο της αυτοφλεγμονής σε αυτή την εκδήλωση (154, 155, 157).

### **1.2.6 Συν-νοσηρότητες**

Αρκετές συννοσηρότητες όπως η παχυσαρκία, η υπερλιπιδαιμία, η κατάθλιψη, η νόσος του θυρεοειδούς και η ραγοειδίτιδα, έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΨΑ (101). Επιπλέον, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η μείωση του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) μετά από χειρουργική επέμβαση γαστρικής παράκαμψης συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ψωρίασης και ΨΑ (158-160). Επίσης, σε μία άλλη μελέτη φαίνεται ότι οι ασθενείς με ψωρίαση που έχασαν βάρος είχαν λιγότερες πιθανότητες να αναπτύξουν ΨΑ. Ο ρόλος των εξωαρθρικών εκδηλώσεων της ψωριασικής νόσου, όπως η ραγοειδίτιδα και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (IBD), στην ανάπτυξη της ΨΑ είναι περίπλοκος (161).

### **1.2.7 Θεραπεία της ψωριασικής αρθρίτιδας**

Η πολύπλοκη παθογένεια της ΨΑ που διατηρείται από την αλληλεπίδραση επίκτητης και έμφυτης ανοσίας έχει ωθήσει τη χρήση ανοσοκατασταλτικών για την αντιμετώπισή της. Πριν από την εποχή των βιολογικών παραγόντων, είχαν χρησιμοποιηθεί συμβατικά νοσοτροποποιητικά αντιρευματικά φάρμακα (csDMARDs) συμπεριλαμβανομένης της μεθοτρεξάτης (MTX), της σουλφασαλαζίνης, της κυκλοσπορίνης και της λεφλουνομίδης, παρά τις λίγες μελέτες υψηλής ποιότητας που υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά τους, κυρίως με βάση τα στοιχεία του σχετικού ρόλου των T κυττάρων στην παθογένεση της νόσου και της αποδεδειγμένης αποτελεσματικότητας στην RA (162-165). Μεταξύ των csDMARDs, η MTX χρησιμοποιείται πιο συχνά και μοιράζεται με τα άλλα csDMARD μια σημαντική αποτελεσματικότητα στην περιφερική αρθρίτιδα, καλή ανταπόκριση στην ψωρίαση και τη δακτυλίτιδα και

συνήθως χαμηλή αποτελεσματικότητα στην ενθεσίπδα και την αξονική προσβολή (166, 167).

Από το 2000, η έκβαση των διαφορετικών μορφών της ΨΑ έχει βελτιωθεί σημαντικά λόγω της διαθεσιμότητας βιολογικών DMARDs (bDMARDs) που εξουδετερώνουν τον TNFα και άλλους στόχους, όπως κυτταροκίνες IL-12 και IL-23, IL-17 και IL-23. Εκτός από τα csDMARDs και τα bDMARDs, τα στοχευμένα συνθετικά DMARDs που αναστέλλουν τις κινάσες Ιανου (Janus kinases, JAK), ή τη φωσφοδιεστεράση-4 αναστέλλοντας ταυτόχρονα αρκετές κυτοκίνες αντιπροσωπεύουν άλλες θεραπευτικές επιλογές στην ΨΑ (166, 167). Παρά την πρόοδο στη θεραπεία παραμένουν ασθενείς με ανεπαρκή ανταπόκριση στη θεραπεία (124).

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

### **2.1 Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ANA) στην ψωριασική νόσο**

Για την ψωρίαση και την ΨΑ δεν υπάρχει αξιόπιστος ανοσολογικός δείκτης και χαρακτηριστικά διαγνωστικά αυτοαντισώματα (168). Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία στις μέρες μας, καθώς το φάσμα των θεραπειών έναντι της ψωριασικής νόσου έχει βελτιωθεί σημαντικά με την χρήση των βιολογικών θεραπειών (168).

Τα αυτοαντισώματα είναι σημαντικοί βιοδείκτες για τη διάγνωση συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων (169). Τα ANA έχουν απασχολήσει τόσο τους κλινικούς ιατρούς όσο και τους ασθενείς, δεδομένης της

πιθανότητας να έχουν ή να κινδυνεύουν να αναπτύξουν συστηματικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, ακόμη περισσότερο, εάν υπάρχει συγγενής πρώτου βαθμού που έχει κάποιο αυτοάνοσο νόσημα (170).

Στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η παρουσία των ANA σε ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ. Η παρουσία των ANA σε αρκετές μελέτες έχει συσχετισθεί με την χρήση θεραπείας που στοχεύει τον παράγοντα νέκρωσης όγκου α (tumor necrosis factor, TNF-α). Ο TNF-α περιγράφηκε αρχικά ως λεμφοτοξίνη ή καχεκτίνη (171-173). Οι αντι-TNFα βιολογικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται από ετών σε διάφορες φλεγμονώδεις αρθρίτιδες και στην ψωριασική νόσο.

Οι πιο συχνά αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με την θεραπεία με αντι-TNF-α παράγοντες είναι η προσβολή από ευκαιριακές λοιμώξεις, η αναζωπύρωση του *Mycobacterium tuberculosis*, απομυελινωτικές παθήσεις, (174). Οι πρώτες κλινικές δοκιμές με ινφλιξimάμη στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας έδειξαν ότι μπορούν να εμφανιστούν ANA κατά τη διάρκεια της θεραπείας (175). Σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπεία με άλλους αντι-TNF παράγοντες, η συχνότητα δημιουργίας αντισωμάτων είναι μάλλον χαμηλότερη, αλλά έχει περιγραφεί. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ετανερσέπτη αξιολογείται σε 11–36% και με ανταλιμουμάμη στο 5,3% (176). Παρόλα αυτά υπάρχουν και μελέτες που υποστηρίζουν την ύπαρξη των ANA άκομα και σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει θεραπεία με κάποιον βιολογικό παράγοντα, και σχετίζουν την ύπαρξή τους με την νόσο. Οι Florent Silvy et al. βρήκαν ότι περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς και λιγότεροι από το 25% των υγιών μαρτύρων βρέθηκαν

θετικοί για ANA σε αραιώση ορού 1:160 σε μια σειρά 232 ασθενών με ΨΑ και 91 υγιών μαρτύρων (168).

## 2.2 Πρότυπα ανοσοφθορισμού

### 2.2.1 Πυρηνικά πρότυπα

Τα πυρηνικά πρότυπα ορίζονται από οποιαδήποτε χρώση των πυρήνων ενδιάμεσης φάσης HEp-2. Συνολικά παρατηρούμε 6 κύριες ομάδες προτύπων. Η ονοματολογία τους βασίζεται κυρίως στην αντιδραστικότητα που παρατηρείται στο νουκλεόπλασμα και στα πυρηνικά υποσυστατικά που αναγνωρίζονται (177). Με λεπτομέρεια έχει περιγραφεί από την Διεθνή Συναίνεση για τους τύπους ανοσοφθορισμού των Αντιπυρηνικών Αντισωμάτων (International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns, ICAP) <https://www.anapatterns.org/index.php>.

**Ομοιογενές Πρότυπο.** Το ομοιογενές πρότυπο αποτελεί την πρώτη μεγάλη ομάδα πυρηνικών προτύπων που θεωρείται ικανού επιπέδου όσον αφορά την αναγνώριση και την αναφορά. Χαρακτηρίζεται από διάχυτη και ομοιόμορφη χρώση ολόκληρου του πυρήνα. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με την ICAP το πρότυπο αφορά σε «ομοιογενή και συμμετρικά καταμεμημένο φθορισμό σε όλο το πυρηνόπλασμα. Τα πυρηνίδια μπορεί να χρωματίζονται ή όχι, ανάλογα με το υπόστρωμα των HEp-2 κυττάρων. Τέλος, τα κύτταρα σε μίτωση έχουν έντονα χρωματισμένη τη συμπυκνωμένη χρωματίνη με μορφή ομοιογενή και υαλώδη».

Το ομοιογενές πρότυπο σχετίζεται με αντισώματα που αφορούν συστατικά που εμπεριέχονται στον πυρήνα όπως, το dsDNA, οι ιστόνες και/ή τα νουκλεοσώματα και διαγνωστικά συσχετίζεται με ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο, αυτοάνοση ηπατίτιδα, και νεανική αρθρίτιδα (177).

**Στικτό Πρότυπο.** Το στικτό πρότυπο διαχωρίζεται σε αδρό στικτό και λεπτό στικτό. Το χαρακτηριστικό γνώρισμα του στίγματος είναι η κοκκώδης χρώση του πυρηνοπλάσματος των κυττάρων μεσοφάσεως. Το μοτίβο με μεγάλα/αδρά στίγματα χαρακτηρίζεται από πυκνές κηλίδες ενδιάμεσου μεγέθους στον πυρήνα που σχετίζονται με μεγαλύτερα στίγματα σε όλο το νουκλεόπλασμα των κυττάρων μεσόφασης ενώ το λεπτό στικτό πρότυπο δείχνει μια λεπτή κοκκώδη, μερικές φορές πολύ πυκνή, χρώση του πυρήνα σε ομοιόμορφη κατανομή. Αυτά τα πρότυπα φθορισμού αφορούν αυτοαντισώματα όπως αυτά κατά του SS-B/La, Ku ή τα αντισώματα κατά της DNA τοποϊσομεράσης I. Πρόκληση αποτελεί το μοτίβο dense fine speckled (DFS) τόσο από το ομοιογενές όσο και για το στικτό πρότυπο. Σύμφωνα με την ICAP, το μοτίβο DFS χαρακτηρίζεται από «στικτό τύπο κατανεμημένο σε ολόκληρο τον πυρήνα των κυττάρων στη μεσόφαση με χαρακτηριστική ετερογένεια ως προς το μέγεθος, την φωτεινότητα και την κατανομή των στίξεων» [https://www.anapatterns.org/view\\_pattern.php?pattern=2](https://www.anapatterns.org/view_pattern.php?pattern=2). Αυτό το πρότυπο θεωρείται μη διαγνωστικό αφού η παρουσία του έχει περιγραφεί σε διάφορα νοσήματα και σε υγιείς μάρτυρες (178-182).

**Πρότυπο κεντρομεριδίου.** Το πρότυπο κεντρομερούς δείχνει πολλαπλές, κάπως ομοιόμορφες, διακριτές κουκκίδες κατανεμημένες σε ολόκληρο τον

πυρήνα. Σύμφωνα με το ICAP πρόκειται για «ευδιάκριτες αδρές στίξεις (από 40-80 ανά κύτταρο) διάσπαρτες στον πυρήνα των κυττάρων στη μεσόφαση, οι οποίες διατάσσονται εν σειρά στον πυρήνα στην περιοχή της χρωματίνης στα μιτωτικά κύτταρα».

Τα αντισώματα που δίνουν αυτό το πρότυπο ανοσοφθορισμού αντιδρούν με πρωτεΐνες που εντοπίζονται στους κινητοχώρους των χρωμοσωμάτων π.χ. Centromeric protein (CENP)-A/B C και συσχετίζονται διαγνωστικά κυρίως με το περιορισμένο δερματικό σκληρόδερμα.

Τα υπόλοιπα διακριτά πρότυπα πυρηνικών κηλίδων διαχωρίζονται με βάση τον αριθμό και τον εντοπισμό των κηλίδων στους πυρήνες. Το πρότυπο των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων χαρακτηριστικά αποκαλύπτει κατά μέσο όρο 10 διακριτές κουκκίδες (συχνά κυμαίνονται από 6 έως 20 κηλίδες), μεταβλητού μεγέθους, στον πυρήνα. Οι χρωμοσωμικές πλάκες των μιτωτικών κυττάρων τυπικά δεν χρωματίζονται, αλλά μπορεί να παρατηρηθεί κυτταροπλασματική χρώση. Αυτές οι πυρηνικές κηλίδες είναι γνωστές ως πυρηνικά σώματα προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (PML) (183, 184). Μερικά από τα σχετικά αντιγόνα περιλαμβάνουν πρωτεΐνες PML, όπως το Sp100, και το αντιγόνο MJ/NXP-2. Το πρότυπο με τις λίγες πυρηνικές κηλίδες εμφανίζει μόνο 1-6 κηλίδες ανά πυρήνα, συχνά σε κοντινή απόσταση από πυρήνες γνωστές ως σωμάτια Cajal (ή σπειροειδή σωμάτια), π.χ. αντι-p80-coilin. (184).

**Πυρηνισκικό πρότυπο.** Η πυρηνική χρώση που περιορίζεται κυρίως στους πυρήνες των ενδοφασικών κυττάρων αναφέρεται ως πυρηνισκικό πρότυπο. Με βάση το πρότυπο χρώσης εντός των πυρήνων, μπορούν να διακριθούν τρεις υποτύποι σε εργαστήρια ειδικού επιπέδου. Το ομοιογενές πυρηνικό

μοτίβο χαρακτηρίζεται ως διάχυτος φθορισμός σε όλο το πυρηνίδιο. Η συμπυκνωμένη χρωματίνη στη μετάφαση δεν χρωματίζεται, π.χ. αντι-PM-ScI, αντι-Th/To. Η ακανόνιστη χρώση των πυρήνων, που αποκαλύπτει συγκεντρωμένους μεγάλους κόκκους, αναφέρεται ως συσσωρευμένο πυρηνικό σχέδιο. Το διάστικτο πυρηνιδίων πρότυπο χαρακτηρίζεται από πυκνά κατανεμημένους διακριτούς κόκκους στα πυρηνίδια των κυττάρων στη μεσόφαση. Στα κύτταρα στη μετάφαση μπορεί να ξεχωρίζουν έως πέντε λαμπερά ζεύγη των περιοχών οργάνωσης των πυρηνιδίων (Nucleolar Organizer Regions [NOR]), μέσα στην συμπυκνωμένη χρωματίνη. Το κυτταρόπλασμα των κυττάρων στη μίτωση μπορεί να είναι ασθενώς θετικό, π.χ. αντι-NOR-90, αντι-RNA πολυμεράση I.(177).

**Πρότυπο έναντι Πυρηνικού περιβλήματος.** Η χρώση του πυρηνικού περιβλήματος μπορεί να αποκαλύψει είτε μια συνεχή γραμμική ή σηματοδοτική χρώση των κυττάρων μεσοφάσεως. Το συγκεκριμένο πρότυπο παρουσιάζει περιορισμένη ανίχνευση αυτοαντισωμάτων με περιορισμένη κλινική σημασία (177).

**Πλειομορφικό πρότυπο.** Εκτός από το πρότυπο πυρηνικού αντιγόνου πολλαπλασιαζόμενου κυττάρου (PCNA) και το πρότυπο CENP-F θεωρούνται υποτύποι της κατηγορίας της πλειομορφικής πυρηνικής χρώσης, επειδή παρουσιάζουν μεταβλητά χαρακτηριστικά χρώσης σε διαφορετικά στάδια του κυτταρικού κύκλου (177).

### 2.2.2 Κυτταροπλασματικά πρότυπα

Τα κυτταροπλασματικά πρότυπα ορίζονται ως οποιαδήποτε χρώση του κυτταροπλάσματος ΗEr-2, ανεξάρτητα από θετική ή αρνητική χρώση πυρήνων ή μιτωτικών κυττάρων. Οι πέντε κύριες υποομάδες των κυτταροπλασματικών προτύπων αφορούν σε ινιδώδης, στικτός, μιτοχονδριακός, πολικά/προσωμοιάζον με το Golgi και ράβδοι και δακτύλιοι (RR). Η ονοματολογία βασίζεται κυρίως στην αντιδραστικότητα (χαρακτηριστικά χρώσης) που παρατηρείται στο κυτταρόπλασμα ή στην κυτταροπλασματική δομή που αναγνωρίζεται (177).

**Κυτταροπλασματικός γραμμικών ινιδίων.** Τα ινώδη κυτταροπλασματικά μοτίβα περιλαμβάνουν γραμμικά, νηματώδη και τμηματικά σχέδια. Τα αυτοαντιγόνα-στόχοι περιλαμβάνουν την ακτίνη. Τυπικά αντιγόνα περιλαμβάνουν βιμεντίνη και κυτοκερατίνες. Αυτός ο τύπος φθορισμού χαρακτηρίζεται από χρώση των ινιδίων του κυτταροσκελετού, μερικές φορές με μικρές, ασυνεχείς, κοκκώδεις εναποθέσεις. Η τυπική χρώση δείχνει τα γραμμωτά νημάτια ακτίνης να εκτείνονται κατά μήκος του επιμήκη άξονα των κυττάρων. Ο Κυτταροπλασματικός νηματοειδών ινιδίων φθορισμός περιλαμβάνει φθορισμό των μικροσωληνίσκων και των ενδιάμεσων νηματίων που εκφύονται περιμετρικά του πυρήνα προς το κυτταρόπλασμα,. Τα αυτοαντιγόνα περιλαμβάνουν άλφα-ακτινίνη, βινκουλίνη και τροπομουσίνη (185, 186).

**Στικτό κυτταροπλασματικό πρότυπο.** Στην κύρια κατηγορία των στικτών κυτταροπλασματικών προτύπων, μπορούν να διακριθούν τρία δευτερεύοντα

πρότυπα. Έχουν περιγραφεί αρκετά μοτίβα με διακριτές κυτταροπλασματικές κουκκίδες με βάση τον αριθμό και την κατανομή των κουκκίδων στο κυτταρόπλασμα. Αυτά τα μοτίβα έχουν κατηγοριοποιηθεί ως οι διακριτές κουκκίδες/μοτίβο που προσωμοιάζει με σωμάτια GW. Διακεκριμένες, μετρήσιμες εστίες, γνωστές ως σώματα GW, κατανέμονται ακανόνιστα σε όλο το κυτταρόπλασμα, αν και τείνουν να βρίσκονται σε πιο κοντινή απόσταση από το πυρηνικό περίβλημα. Άλλα διακριτά μοτίβα κυτταροπλασματικών κουκκίδων περιλαμβάνουν αυτοαντισώματα που χρωματίζουν πρώιμο ενδοσωμικό αντιγόνο 1 και την πρωτεΐνη κυτταροπλασματικού συνδέτη, CLIP 170.

Το κυτταροπλασματικό πυκνό λεπτό στικτό/ομοιογενές πρότυπο εμφανίζεται με στίγματα σε όλο το κυτταρόπλασμα και μερικές φορές αναφέρεται ως ομοιογενές κυτταροπλασματικό. Τα αυτοαντισώματα που σχετίζονται με αυτό το πρότυπο περιλαμβάνουν PL-7 ή PL-12 σε πολυμυοσίτιδα/δερματομυοσίτιδα, ριβοσωμικές πρωτεΐνες P στον Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), ειδικότερα, στον νεανικό και νευροψυχιατρικό ΣΕΛ, και στην αυτοάνοση ηπατίτιδα.

Τέλος στο κυτταροπλασματικό λεπτό στικτό πρότυπο, μικρές κηλίδες είναι διάσπαρτες στο κυτταρόπλασμα κυρίως με ομοιογενές ή πυκνό λεπτό στικτό υπόβαθρο. Πιθανά αυτοαντισώματα είναι κατά των αμινοακυλο-tRNA-συνθετάσης, κυρίως του Jo-1 (ιστιδυλο-tRNA συνθετάση) (185, 187).

**Δικτυωτό/Μιτοχονδριακό πρότυπο.** Το κυτταροπλασματικό δικτυωτό/όμοιο με μιτοχόνδριο πρότυπο αντιπροσωπεύεται ως αδρή, κοκκώδης, νηματοειδής

χρώση που επεκτείνεται σε όλο το κυτταρόπλασμα, π.χ. αντι-μιτοχονδριακά αντισώματα. (188).

**Πολικός/τύπου συμπλέγματος Golgi πρότυπο.** Αυτό το πρότυπο χαρακτηρίζεται από μια περιπυρηνική διάταξη χονδροειδών κόκκων ή ελασμάτων σε έναν πόλο του κυττάρου που αντιστοιχεί στις στοίβες του συμπλέγματος Golgi. Γνωστά αυτοαντιγόνα που αναγνωρίζονται σε αυτό το πρότυπο είναι τα giantin/macroglolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97 και golgin-245 (189, 190).

**Ραβδία και δαχτυλίδια κυτταροπλασματικό πρότυπο.** Οι δομές ραβδίωνων και δακτυλίων (RR) παρουσιάζονται σε δύο κύριες μορφές, διακριτές νηματοειδείς «ράβδους» μήκους 3–10 nm ή δακτυλιοειδείς «δακτυλίου» 2–5 nm σε διάμετρο (191). Και οι δύο μορφές παρατηρούνται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, αν και γενικά μικρότερες δομές βρίσκονται τακτικά στον πυρήνα υπό κυτταρικές συνθήκες που επιτρέπουν το σχηματισμό RR. Έχει αποδειχθεί ότι τα RR δεν σχετίζονται με κανένα γνωστό οργανίδιο. Η συντριπτική κλινική συσχέτιση είναι ο HCV υπό θεραπεία με α-ιντερφερόνη και ριμπαβιρίνη (191, 192).

### **2.2.3 Μιτωτικά πρότυπα**

Τα μοτίβα που απευθύνονται σε κυτταρικούς τομείς που σχετίζονται έντονα με τη μίτωση ταξινομούνται ως μιτωτικά πρότυπα (177).

**Μιτωτικό πρότυπο αντι-Κεντροσωματίου.** Το μοτίβο των αντισωμάτων κατά των πρωτεϊνών του κεντροσώματος επιβάλλεται πιο συχνά στα κύτταρα μετάφασης ως δύο φωτεινά σημεία στους πόλους της ατράκτου. Τα αυτοαντιγόνα-στόχοι μπορεί να είναι πολλαπλά συστατικά του κεντροσώματος συμπεριλαμβανομένων των ενολάσης (193), περικεντρίνης, PCM-1, εννεΐνης και Cep250 (194).

**Μιτωτικό πρότυπο έναντι ινών ατράκτου.** Στο μιτωτικό πρότυπο εμφανίζονται οι ίνες μεταξύ των πόλων της μιτωτικής ατράκτου χρωματίζοντας τα μιτωτικά κύτταρα μαζί με μια κωνοειδή χρώση των μιτωτικών πόλων. Οι ίνες της μιτωτικής ατράκτου καλύπτουν δύο είδη φθορισμού, τον τύπου NuMA και τον μη-NuMA φθορισμό. Ωστόσο, ο φθορισμός τύπου NuMA συνυπάρχει με έναν ευδιάκριτο, στικτό πυρηνικό φθορισμό. (195)

**Μιτωτικό πρότυπο έναντι μεσοκυττάριας γέφυρας.** Η κατηγορία μεσοκυττάρια γέφυρα περιλαμβάνει πολλά διακριτά μοτίβα που επηρεάζουν κυρίως δομές που αναφέρονται στις τελευταίες φάσεις της μίτωσης. Το μεσαίο σώμα είναι μια μιτωτική περιοχή που αναπτύσσεται κατά τον διαχωρισμό των δύο θυγατρικών κυττάρων στην κυτταροκίνηση. Τα αντιγόνα-στόχοι που αναγνωρίζονται από αυτά τα αυτοαντισώματα δεν έχουν πλήρως ταυτοποιηθεί, αλλά η aurora kinase B (196), ένα ένζυμο που εμπλέκεται στη σύνδεση των μιτωτικών ατράκτων στα κεντρομερή, είναι ένας πιθανός στόχος. Αρκετά μόρια, όπως CENP-E, MSA-2, KIF-14 και MKLP-1, αναφέρονται επίσης ως πρωτεΐνες του μέσου σώματος (197).

**Πρότυπο έναντι Μιτωτικού χρωμοσωμιακού φακέλου.** Τα κύτταρα σε προ- και μεταφάση παρουσιάζουν μια λεπτή κοκκώδη χρώση της χρωμοσωμικής επιφάνειας. Το εσωτερικό μέρος των συμπυκνωμένων χρωμοσωμάτων παραμένει άχρωμο καθώς και το νουκλεόπλασμα των ενδοφασικών κυττάρων. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα αυτοαντιγόνα δεν έχουν αναφερθεί, μένει να προσδιοριστεί ο πραγματικός επιπολασμός του αυτοαντισώματος (197-199).

## **2.2 Το DFS70 ως Αντιγόνο Στόχος**

Τα αντι- DFS αντισώματα στοχεύουν το πυρηνικό αυτοαντιγόνο DFS70/LEDGFp75 και έχουν προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον δεδομένης της σχετικά συχνής εμφάνισής τους σε ορούς ασθενών με διάφορες παθήσεις αλλά και σε υγιείς (181, 200, 201). Ενώ το DFS70/LEDGFp75 έχει αναδειχθεί ως πολυλειτουργική πρωτεΐνη απόκρισης του στρες υψηλής συνάφειας με το σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS), τον καρκίνο, την φλεγμονή και σε διάφορες άλλες συνθήκες (202-205), πολλά αναπάντητα ερωτήματα που αφορούν την κλινική και βιολογική σημασία τους εξακολουθούν να υπάρχουν (206).

Το αυτοαντιγόνο DFS70 εντοπίστηκε αρχικά τη δεκαετία του 1990 κατά τη διάρκεια έρευνας των ANA σε ασθενείς με διάμεση κυστίτιδα και σύνδρομο χρόνιας κόπωσης (200, 201). Η πλήρης ακολουθία DFS70 βρέθηκε ότι είναι πανομοιότυπη με ένα γονίδιο που ανακαλύφθηκε πρόσφατα και ονομάζεται συνενεργοποιητής μεταγραφής p75 (TCp75) και LEDGFp75 (200, 207, 208). Το LEDGFp75 αναγνωρίστηκε ως προερχόμενο από επιθυλιακά κύτταρα φακού (LEC) το αυτοαντιγόνο που στοχεύεται από αυτοαντισώματα σε

ασθενή με καταρράκτη. Οι αρχικές μελέτες πρότειναν ότι το LEDGFp75 ήταν παράγοντας ανάπτυξης στα LEC (208, 209), ωστόσο πλέον είναι γνωστό ότι αυτή η πρωτεΐνη είναι πανταχού παρούσα σε κύτταρα θηλαστικών, έχοντας ρόλο στην διεργασία του στρες και στην προστασία από τη λειτουργία του αυξητικού παράγοντα (210).

Αυτά τα αυτοαντισώματα είναι κυρίως IgG, που συχνά ανιχνεύονται σε υψηλούς τίτλους σε υγιή άτομα και σε πληθώρα από φλεγμονώδεις ασθένειες (200, 211-214). Τα αυτοαντισώματα αυτά αναγνωρίζουν μια πρωτεΐνη 70-75 kD σε ανοσοκηλίδες (προβλεπόμενο μοριακό μέγεθος 60 kD) που απεικονίζονται σε μικροσκοπία IIF ως πυκνές λεπτές κηλίδες στο πυρηνόπλασμα των κυττάρων σε ενδιάμεση φάση, τυπικά αποκλείοντας τον πυρήνα, με αυξημένη ένταση στα συμπυκνωμένα μιτωτικά χρωμοσώματα (181, 200, 201). Ο Muro και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι λίγοι ασθενείς με αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα έχουν αυτά τα αυτοαντισώματα, και συνήθως σε συνδυασμό με άλλα αυτοαντισώματα, ειδικά για αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα όπως το αντι-DNA, αντι-p80 coilin, και αντι-topo I (180, 215).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Υλικά και Μέθοδοι

### 3.1 Υλικά

#### 3.1.1 Πλαστικά και αναλώσιμα

Υλικό	Εταιρία
Ακρορύγχια πιπετών	Gilson Inc., Γουινσκόνσιν, ΗΠΑ
Απορροφητικό χαρτί τύπου Whatman	Bio-Rad Laboratories Inc., Καλιφόρνια, ΗΠΑ
Πιπέτες τύπου Pasteur 3 ml	Greiner Bio-One GmbH, Γερμανία
Πλακίδια 24 φρεατίων (24-well plate)	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Φορέας επώασης ταινιών δοκιμασίας ανοσοαποτύπωσης 30 καναλιών	Euroimmun AG, Γερμανία
Σύριγγα 20 ml με βελόνα 21 gauge	Webest Medical Product Co., Ltd., Κίνα
Σωληνάρια κρυοαποθήκευσης (cryovials) 1.5 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1.5 ml	FL medical, Ιταλία
Σωληνάρια τύπου Falcon 15 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Σωληνάρια τύπου Falcon 50 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ

### 3.1.2 Μηχανήματα και εργαλεία

Μηχάνημα/εργαλείο	Εταιρία
Αναδευτήρας τύπου Rocker	Heidolph Instruments, Γερμανία
Αναδευτήρας τύπου Vortex	Velp Scientifica, Ιταλία
Αυτόκαυστο αποστείρωσης	Daihan Labtech Co. Ltd, Νότια Κορέα
Δοχείο κατάψυξης κυττάρων «Mr. Frosty»	Nalge Nunc, Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Επιτραπέζια φυγόκεντρος Z400 (με ρότορες για σωληνάρια τύπου Falcon 15 ml και 50 ml)	HERMLE Labortechnik GmbH, Γερμανία
Εργαστηριακός απαγωγός αερίων	Daihan Labtech Co. Ltd, Νότια Κορέα
Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας	Velp Scientifica, Ιταλία
Καταψύκτης -20° C	Whirlpool, Μίσιγκαν, ΗΠΑ
Καταψύκτης -74° C	Daihan Labtech Co. Ltd, Νότια Κορέα
Κλίβανος επώασης κυττάρων με CO <sub>2</sub>	ThermoFisher Scientific Inc., Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
Κυτταρόμετρο Guava easyCyte 5	Merck Millipore Inc. Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
Μικροσκόπιο Ανοσοφθορισμού	Euroimmun AG,

	Λιούμπεκ, Γερμανία
Φωτόμετρο Multimode Plate Reader EnSpire	PerkinElmer Inc., Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
Ψυγείο 4° C	Whirlpool, Μίσιγκαν, ΗΠΑ

### 3.1.3 Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες (kit)

Δοκιμασία	Εταιρία
Anti-Helicobacter pylori ELISA (IgG)	Euroimmun AG
Antibodies against Helicobacter pylori (IgG) EUROLINE-WB	Euroimmun AG
Anti-EBV WESTERNBLOT (IgG)	Euroimmun AG
Anti-CMV WESTERNBLOT (IgG)	Euroimmun AG
IIF HEp20-10	Euroimmun AG
Antinuclear Antibody Test (ANA 23 Profile)	Euroimmun AG
RF IgG Elisa (Rheumatoid Factor)	Generic Assays GmbH Μπλάνγκεφελτ, Μάλου Γερμανία
Anti – CCP Elisa (Cyclic Citrullinated Peptides) Ref	Medizym Medipan GmbH, Μπλάνγκεφελτ, Μάλου Γερμανία

### 3.1.4 Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια, χημικά και μέσα καλλιέργειας

Αντιδραστήριο	Εταιρία
Fetal Bovine Serum (FBS), εμβρυικός ορός βοδινού	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc. Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
ODN2006, CpG ODN	Invinogen, Καλιφόρνια, ΗΠΑ
PBS (1X) pH 7.4	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc
PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate	Cayman Chemical, Μίσιγκαν, ΗΠΑ
Trypan blue stain 0.4%	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc.
Διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)	Sigma Aldrich, Μιζούρι, ΗΠΑ
Ηπαρίνη (5000 IU/ml)	LEO Pharma A/S, Δανία
Θρεπτικό μέσο RPMI-1640 (1X) με L-Glutamine	Gibco
Ιονομυκίνη	Cayman Chemical
Μπρεφελνίνη, Brefeldin A, GolgiPlug	BD Biosciences, Νιου Τζέρσεϊ, ΗΠΑ
Σαπωνίνη από Quillaja	Sigma Aldrich, Μιζούρι, ΗΠΑ
Παραφορμαλδεύδη, paraformaldehyde, PFA	Sigma Aldrich
Πενικιλίνη (10000 Units/ml)/Στρεπτομυκίνη (10000 µg/ml)	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc.
Φικόλη Lymphosep Lymphocyte Separation Media	Biosera, Σολέ Γαλλία

### 3.1.5 Αντισώματα

Αντίσωμα	Εταιρία
IgG mouse Alexa Fluor 647-anti-human IFN- $\gamma$	BD Biosciences
IgG mouse allophycocyanin (APC)-anti-human IL-10	BD Biosciences
IgG mouse fluorescein isothiocyanate (FITC)-anti-human CD3	BD Biosciences
IgG mouse phycoerythrin (PE)-anti-human CD19	BD Biosciences
IgG mouse FITC-anti-human CD27	BD Biosciences

### 3.1.6 Βιολογικό Υλικό

Περιφερικό αίμα από ασθενείς με ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα που παρακολουθούνταν στην Πανεπιστημιακή Κλινική Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας και στην Πανεπιστημιακή Δερματολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας και από υγιείς δότες (healthy controls, HCs) χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διατριβή.

## 3.2 Μέθοδοι

### 3.2.1 Διαχωρισμός παραγώγων αίματος σε φικόλη και κρυσταποθήκευση μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος

Είκοσι χιλιοστόλιτρα (ml) περιφερικού αίματος ελήφθησαν με αιμοληψία από κάθε ασθενή ή μάρτυρα χρησιμοποιώντας αποστειρωμένη και ηπαρινισμένη (τελική συγκέντρωση ηπαρίνης=2 U/ml) σύριγγα. Τα στάδια της διαδικασίας πραγματοποιήθηκαν σε απαγωγό αερίων. Το δείγμα αίματος επιστιβάχθηκε σε 10 ml LymphoPrep (Ficoll-Hyraque, τελική συγκέντρωση LymphoPrep=1,077 g/ml) σε σωληνάριο Falcon 50 ml και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στις 1800 στροφές ανά λεπτό (rounds per minute, rpm) σε θερμοκρασία δωματίου (room temperature, RT) για 20 λεπτά. Η στιβάδα του πλάσματος, η μεσοστιβάδα και η στιβάδα των ερυθροκυττάρων απομακρύνθηκαν με πιπέτα τύπου Pasteur και τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστά σωληνάκια Falcon 15 ml, ενώ το LymphoPrep απορρίφθηκε. Το πλάσμα αποθηκεύτηκε στους  $-20^{\circ}$  C. Στο δείγμα των PBMCs πραγματοποιήθηκε πλύση χρησιμοποιώντας θρεπτικό υλικό RPMI-1640 και φυγοκέντρηση στις 2200 rpm για 5 λεπτά σε RT. Αφού απομακρύνθηκε το υπερκείμενο, ο σβόλος (pellet) των PBMCs επαναδιαλύθηκε σε κρυοπροστατευτικό διάλυμα (70% ορός εμβρυϊκού βοδινού [fetal bovine serum, FBS], 20% θρεπτικό υλικό RPMI-1640, 10% DMSO) σε τελική συγκέντρωση κυττάρων  $\sim 10^6$  κύτταρα/ml. Η βιωσιμότητα των κυττάρων ξεπερνούσε το 95%, όπως υπολογίστηκε με τη χρήση Trypan blue. Τα κρυοσωληναρια (cryovials) τοποθετήθηκαν σε δοχείο κατάψυξης κυττάρων «Mr.Frosty» για τουλάχιστον 48 ώρες στους  $-74^{\circ}$  C, και τέλος μεταφέρθηκαν σε δεξαμενή υγρού αζώτου.

Ο ορός και τα PBMCs χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για το πειραματικό κομμάτι της διδακτορικής διατριβής.

### 3.2.2 Ανοσοπροσοφνητική δοκιμασία στερεάς φάσεως με σύνδεση

Η τεχνική της ELISA έγινε χρησιμοποιώντας κιτ των εταιριών που αναφέρονται στον πίνακα 2.1.4 με τα εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια, χημικά και μέσα καλλιέργειας και σύμφωνα με τις οδηγίες της εκάστοτε κατασκευάστριας εταιρίας. Και στα 3 κιτ χρησιμοποιήθηκε «τυφλό» δείγμα (blank) από ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος «Sample Buffer» για τον προσδιορισμό του θορύβου υποκείμενης απορρόφησης (background noise). Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης στο διάλυμα προς εξέταση, χρησιμοποιήθηκαν τρία διαλύματα βαθμονομητές γνωστής πρωτεϊνικής συγκέντρωσης (calibrators). Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα θετικού και αρνητικού ελέγχου (positive & negative controls) για την επιβεβαίωση της σωστής πειραματικής εκτέλεσης. Όλα τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν και τα πλακίδια 96 φρεατίων επώασης που περιείχαν το αντιγόνο (ή τα αντιγόνα) προς εξέταση ήταν σε RT. Επίσης, όλα τα διαλύματα καθώς και τα δείγματα ορού που χρησιμοποιούνται αναδεύτηκαν καλά πριν τη χρήση. Τέλος, όλα τα δείγματα ορού εξετάστηκαν εις τριπλούν. Αρχικά, τα δείγματα ορού αραιώθηκαν 1:101 σε «Sample Buffer». 100 μικρόλιτρα (microliter,  $\mu\text{l}$ ) αραιωμένου ορού, 100  $\mu\text{l}$  από τα calibrators 1-3 και 100  $\mu\text{l}$  controls μεταφέρθηκαν το καθένα σε ξεχωριστό φρεάτιο του πλακιδίου της ELISA. Τα δείγματα επώαστηκαν υπό ανάδευση σε RT για 30 λεπτά για τον προσδιορισμό του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού και 60 λεπτά για τον προσδιορισμό του ρευματοειδή παράγοντα και των αντι-CCP αντισωμάτων και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. Τα δείγματα ξεπλύθηκαν τρεις φορές με 300  $\mu\text{l}$  ρυθμιστικού διαλύματος

έκπλυσης (Wash Buffer) υπό ανάδευση σε RT για 1 λεπτό και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. 100 µl διαλύματος ενζυμικού συμπλόκου (Enzyme conjugate: peroxidase-labelled anti-human IgG) προστέθηκαν σε κάθε φρεάτιο του πλακιδίου της ELISA. Τα δείγματα επώαστηκαν υπό ανάδευση σε RT για 30 λεπτά και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. Τα φρεάτια ξεπλύθηκαν τρεις φορές με 300 µl Wash Buffer υπό ανάδευση σε RT για 1 λεπτό και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. Εκατό µl διαλύματος χρωμογόνου/υποστρώματος (Chromogen/Substrate Solution: διάλυμα 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) προστέθηκε σε κάθε φρεάτιο του πλακιδίου της ELISA. Τα δείγματα επώαστηκαν στο σκοτάδι σε RT για 15 λεπτά. Η αντίδραση χρώσης σταμάτησε με την προσθήκη 100 µl διαλύματος τερματισμού (Stop Solution: (0,5 M θειικό οξύ). Ο φωτομετρικός προσδιορισμός της έντασης του χρωμογόνου αντίδρασης πραγματοποιήθηκε με μέτρηση της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων σε μήκος κύματος 450 nm χρησιμοποιώντας φωτόμετρο Multimode Plate Reader EnSpire ειδικό για πλακίδια 96 φρεατίων. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς που υπολογίστηκε με βάση τις απορροφήσεις των 3 calibrators. Το όριο της θετικότητας ορίστηκε στο  $\geq 21$  RU/ml για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού ενώ στο  $\geq 30$  RU/ml για τον ρευματοειδή παράγοντα και τα αντι-CCP αντισώματα, σύμφωνα με τις οδηγίες της εκάστοτε εταιρίας.

### **3.2.3 Ανοσοαποτύπωση πρωτεϊνών κατά Western (Western blotting)**

Η τεχνική της ανοσοαποτύπωσης κατά Western έγινε χρησιμοποιώντας προτυποποιημένα kit της εταιρίας Euroimmun, σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας.

Όλα τα διαλύματα και οι ταινίες (strips) ήταν σε RT. Επίσης, όλα τα διαλύματα καθώς και τα δείγματα ορού που χρησιμοποιούνται αναδεύτηκαν καλά πριν τη χρήση. Αρχικά, τα strips τοποθετήθηκαν προσεκτικά σε φρεάτιο ειδικού πλαστικού πλακιδίου προμηθευόμενο από την κατασκευάστρια εταιρία και εξισορροπήθηκε με 1,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος (Universal Buffer). Έπειτα, τα δείγματα ορού αραιώθηκαν 1:51 σε Universal Buffer. Τα strips επώαστηκαν με 1,5 ml αραιωμένου ορού υπό ανάδευση σε RT για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν πλύσεις τρεις φορές με 1,5 ml «Universal Buffer» υπό ανάδευση σε RT για 5 λεπτά και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. Τα strips επώαστηκαν σε RT με 1,5 ml διαλύματος ενζυμικού συμπλόκου «Enzyme Conjugate» υπό ανάδευση για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, ξεπλύθηκαν τρεις φορές με 1,5 ml «Universal Buffer» υπό ανάδευση για 5 λεπτά και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνθηκε. Η εμφάνιση του σήματος έγινε με επώαση των strips με 1,5 ml διαλύματος υποστρώματος «Substrate Solution» (nitro-blue tetrazolium chloride, NBT/5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate, BCIP) υπό ανάδευση σε RT για 10 λεπτά. Η αντίδραση χρώσης σταμάτησε με απομάκρυνση του «Substrate Solution» και επώαση των strips με νερό σε RT για 1 λεπτό και τα strips σαρώθηκαν με σαρωτή-scanner. Η ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση της μεμβράνης έγινε με το λογισμικό πυκνομετρικής σάρωσης EUROLineScan της κατασκευάστριας εταιρίας. Ζώνες με ένταση εικονοστοιχείων  $\geq 23$  arbitrary units (AU) χαρακτηρίστηκαν θετικές, ζώνες με

ένταση  $<23$  και  $\geq 13$  χαρακτηρίστηκαν οριακά θετικές και ζώνες με ένταση  $<13$  χαρακτηρίστηκαν ως αρνητικές, σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών.

### **3.2.3.1 Γραμμική Ανοσοαποτύπωση (Line blotting)-Πρωτόκολλο EUROIMMUN**

Η τεχνική της γραμμικής ανοσοαποτύπωσης γίνεται χρησιμοποιώντας κιτ της εταιρίας EUROIMMUN και σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας. Τα κιτ Line blotting της EUROIMMUN προμηθεύουν με ξεχωριστές, λωρίδες (strips), οι οποίες έχουν μεμβράνες στις οποίες έχουν καθηλωθεί τα επιθυμητά αντιγόνα σε σειρά. Όλα τα διαλύματα καθώς και οι μεμβράνες με τα αντιγόνα προς εξέταση είναι σε RT. Επίσης, όλα τα διαλύματα καθώς και τα δείγματα ορού που χρησιμοποιούνται αναδεύονται καλά πριν τη χρήση. Αρχικά, η μεμβρανική λωρίδα τοποθετείται προσεκτικά σε φρεάτιο ειδικού πλαστικού πλακιδίου (βάρκα) προμηθευόμενο από την κατασκευάστρια εταιρία και εξισορροπείται με 1,5 ml «Sample Buffer». Έπειτα, τα δείγματα ορού αραιώνονται 1:101 σε «Sample Buffer». Για ένα δείγμα, χρησιμοποιείται 1,5 ml Sample Buffer και 15  $\mu$ l ορού. Η μεμβράνη επωάζεται με το 1,5 ml αραιωμένου ορού υπό ανάδευση σε RT για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, η μεμβράνη ξεπλένεται τρεις φορές με 1,5 ml αραιωμένου «Wash Buffer» υπό ανάδευση για 5 λεπτά και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνεται. Για ένα δείγμα, το αραιωμένο Wash Buffer παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας 9 ml απιονισμένου νερού και 1 ml Wash Buffer. Η μεμβράνη επωάζεται με 1,5 ml αραιωμένο «Enzyme Conjugate» υπό ανάδευση σε RT για 30 λεπτά. Για ένα δείγμα, το αραιωμένο «Enzyme Conjugate» παρασκευάζεται

χρησιμοποιώντας 1,35 ml «Sample Buffer» και 0,15 ml Enzyme Conjugate. Στη συνέχεια, η μεμβράνη ξεπλένεται τρεις φορές με 1,5 ml Sample Buffer υπό ανάδευση για 5 λεπτά και έπειτα το υπερκείμενο απομακρύνεται. Η εμφάνιση του σήματος γίνεται με επώαση της μεμβράνης με 1,5 ml Substrate Solution (NBT/BCIP) υπό ανάδευση σε RT για 10 λεπτά. Η αντίδραση χρώσης σταματάει με την απομάκρυνση του «substrate Solution και την επώαση της μεμβράνης τρεις φορές με νερό σε RT για 1 λεπτό. Η ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση της μεμβράνης γίνεται με το λογισμικό πυκνομετρικής σάρωσης EUROLinScan, προμηθευόμενο από την κατασκευάστρια εταιρία. Ζώνες με ένταση εικονοστοιχείων  $\geq 11$  AU χαρακτηρίζονται θετικές (positive), ζώνες με ένταση  $< 11$  και  $\geq 6$  χαρακτηρίζονται οριακά θετικές (borderline positive) και ζώνες με ένταση  $< 6$  χαρακτηρίζονται ως αρνητικές (negative), σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρίας.

### **3.2.4 Κυτταρομετρία ροής**

#### **3.2.4.1 Εισαγωγή**

Η κυτταρομετρία ροής είναι μια αυτοματοποιημένη μέθοδος μέτρησης και ανάλυσης μεμονωμένων κυττάρων σημασμένων με φθορίζοντα αντισώματα με τη χρήση ενός κυτταρόμετρου. Το κυτταρόμετρο χρησιμοποιεί τρία επιμέρους συστήματα, ένα υδραυλικό, ένα οπτικό και ένα ηλεκτρονικό, για να μετράει και να αναλύει τα φυσικά χαρακτηριστικά ξεχωριστών, άθικτων κυττάρων μεγέθους 0,2-50  $\mu$  σε εναιώρημα καθώς αυτά διέρχονται σε ροή

από μια δέσμη laser. Το υδραυλικό σύστημα του κυτταρόμετρου μεταφέρει τα κύτταρα από το εναιώρημα ενός μικτού πληθυσμού σε εστιασμένη ροή κυττάρων και φροντίζει ώστε να κύτταρα να διέρχονται ένα προς ένα από το κέντρο της δέσμης laser. Το οπτικό σύστημα αποτελείται από τις laser συγκεκριμένου μήκους κύματος, οπτικά πρίσματα και φακούς που κατευθύνουν τις δέσμες laser, καθώς και ανιχνευτές φωτονίων. Οι δέσμες laser έχουν την ικανότητα να διεγείρουν φθορίζουσες χρωστικές ουσίες, οι οποίες είναι προσδεμένες σε αντισώματα που χρησιμοποιούμε για να σημάνουμε κατάλληλα τα κύτταρα του εναιωρήματος και εκπέμπουν φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, διαφορετικό από το μήκος κύματος του φωτός της πηγής, όταν διεγείρονται. Κάθε φορά που ένα κύτταρο διέρχεται από την δέσμη laser, το εκπεμπόμενο φως συλλέγεται από τους ανιχνευτές φθορισμού. Παράλληλα, η σκέδαση της δέσμης laser από τα κύτταρα προκαλεί την αλλαγή της πορείας της και την ανάκλαση της από ανιχνευτές πρόσθιας και πλάγιας σκέδασης, οι οποίοι καταγράφουν τη διακοπή της ακτίνας laser. Το φως της πρόσθιας σκέδασης (forward scatter channel, FSC) παρέχει πληροφορίες για το μέγεθος του κυττάρου και μπορεί να ξεχωρίσει κυτταρικά υπολείμματα ή νεκρά κύτταρα από τα ζώντα. Το φως της πλάγιας σκέδασης (side scatter channel, SSC) παρέχει πληροφορίες για την κοκκίωση και την εσωτερική πολυπλοκότητα του κυττάρου. Ο συνδυασμός της πρόσθιας και της πλάγιας σκέδασης μπορεί να διακρίνει τους διάφορους λευκοκυτταρικούς πληθυσμούς σε εναιώρημα PBMCs. Το ηλεκτρονικό σύστημα του κυτταρόμετρου μετατρέπει το οπτικό σήμα που ανιχνεύεται αρχικά σε ηλεκτρικό ρεύμα και στη συνέχεια σε ψηφιακό σήμα. Το ψηφιακό σήμα χρησιμοποιείται για τη δημιουργία γραφικών παραστάσεων που

απεικονίζουν τον αριθμό των κυττάρων, την ένταση του φθορισμού, την ένταση της πρόσθιας ή την ένταση της πλάγιας σκέδασης. Στην ανοσολογία με την κυτταρομετρία ροής είναι δυνατή η φαινοτύπωση ενός κυτταρικού πληθυσμού μέσω σήμανσης επιφανειακών αντιγόνων, η μελέτη της επαγωγής και έκφρασης ενδοκυττάρων κυτταροκινών από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, η μελέτη σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στους ανοσοποιητικούς μηχανισμούς και ο διαχωρισμός κυττάρων σύμφωνα με το πρότυπο φθορισμού τους. Στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, η κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιήθηκε για τη φαινοτυπική τυποποίηση λεμφοκυττάρων μέσω σήμανσης των επιφανειακών αντιγόνων CD, B κυττάρων, B κυττάρων μνήμης, πλασμοβλαστών, follicular B κυττάρων και follicular T κυττάρων αντίστοιχα, ύστερα από ενεργοποίηση.

Τα απομωνομένα PBMC επώαστηκαν στους 4°C για 30 λεπτά με επισημασμένο με φθορίζουσα χρωστική αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα από ποντίκι (MoAbs) έναντι CD19 (BioLegend, PE; clone HIB19), CD27 158 (BioLegend, FITC; clone M-T271), CD38 (BD Biosciences, APC; clone HIT2), CD24 159 (BioLegend, PerCP; clone ML5), CD3 (BioLegend, PE-Cy7; clone UCHT-1), CD4 160 (BioLegend, APC; clone RPA-T4) και CD185 (CXCR-5) (BioLegend, FITC, clone J252D4). Η ανάλυση διεξήχθη σε ένα Guava® EasyCyte8 (Merck-Millipore, Burlington, MA, USA) κυτταρόμετρο ροής με χρήση λογαριθμικής ενίσχυσης με βάση την πρόσθια και πλευρική σκέδαση για το συνολικό πληθυσμό των λεμφοκυττάρων. Το υπόβαθρο φθορισμού υπολογίστηκε με ισοδύναμα αντι-ανθρώπινα MoAbs ποντικού

ισοτύπου και αποτέλεσε τη βάση για το όριο θετικότητας της κυτταρικής διάκρισης.

### **3.2.5 Προσδιορισμός ANA με την μέθοδο έμμεσου ανοσοφθορισμού (indirect immunofluorescence, IIF)**

#### **3.2.5.1 Εισαγωγή**

Ο έμμεσος ανοσοφθορισμός αποτελεί μία απλή, ευαίσθητη αλλά μη ειδική μέθοδο προσδιορισμού. Αποτελεί την αρχική εξέταση ρουτίνας (screening test) για κάθε άρρωστο με υπόνοια αυτοάνοσου ρευματικού νοσήματος, δυνητικά θετικού για αυτοαντισώματα. Ένα θετικό αποτέλεσμα θα οδηγήσει σε μία πιο ειδική διερεύνηση ή θα επισφραγίσει την διάγνωση, ενώ στην αντίθετη περίπτωση ο περαιτέρω ανοσολογικός έλεγχος μπορεί να κριθεί περιττός, εκτός εξαιρέσεων όπου οι κλινικές ενδείξεις ή τα άλλα εργαστηριακά ευρήματα (αιματολογικά, ακτινολογικά, παθολογοανατομικά κ.α) θέτουν ισχυρή υποψία διάγνωσης. Καίριο πρόβλημα της ανίχνευσης των αυτοαντισωμάτων με IIF είναι η χαμηλή ειδικότητα και τα «ψευδώς θετικά» ή χαμηλού/οριακού τίτλου θετικά τεστ, η διαγνωστική και κλινική σημασία των οποίων ερμηνεύεται δύσκολα (216). Η τεχνική αποτελείται από ένα υπόστρωμα επιθηλιακών κυττάρων καρκίνου λάρυγγα (Human Epithelial type 2 cells, HEp-2) σε αντικειμενοφόρο πλάκα όπου επωάζεται με το αραιωμένο προς εξέταση δείγμα ορού/πλάσματος αίματος. Τα αντιπυρηνικά αντισώματα θα συνδεθούν με τα πυρηνικά ή τα κυτταροπλασματικά αντιγόνα που αναγνωρίζουν με την ιδιότητα αντιγόνου-αντισώματος. Αφού ξεπλυθεί η περίσσεια του ορού, το υπόστρωμα επωάζεται με αντιανθρωπίνη IgG ανοσοσφαιρίνη, συνδεδεμένη με φθοριόχρωμα (π.χ. ισοθειοκυανούχο φλουορεσκεΐνη ή ροδαμίνη) αυτή, θα

αναγνωρίσει την ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη και θα δημιουργήσει σύμπλοκο. Η περίσσεια της συζευγμένης ανοσοσφαιρίνης ξεπλένεται και το υπόστρωμα εξετάζεται στο μικροσκόπιο φθορισμού. Η ύπαρξη φθορισμού θα αντανακλά έμμεσα την παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) ή αντισωμάτων κατά κυτταροπλασματικών αντιγόνων. Ως αρνητικό αποτέλεσμα χαρακτηρίζεται εκείνο το οποίο χαρακτηρίζεται από απουσία μιας σαφούς χρώσης οποιασδήποτε υποκυτταρικής δομής ή εκείνο στο οποίο ο τίτλος είναι κατώτερος του ορίου (πχ.  $<1/80$ ). Χρειάζεται να τονιστεί ότι η προσέγγιση αυτή είναι στην καλύτερη περίπτωση υποκειμενική και ημιποσοτική και εξαρτάται από τον εργαστηριακό που χρησιμοποιεί το μικροσκόπιο και καταγράφει τα αποτελέσματα.

Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος κατά την αρχική αραιώση (συνήθως  $1/80$ ) γίνεται τιτλοποίηση (διαδοχικές υποδιπλάσιες αραιώσεις μέχρι να σταματήσουμε να βλέπουμε φθορισμό δηλαδή  $1/160$ ,  $1/320$ ,  $1/640$ ,  $1/1280$  κλπ), ενώ παράλληλα καταγράφονται και τα πρότυπα φθορισμού που παρατηρήθηκαν.

Τα υποστρώματα από καλλιέργειες ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων πλεονεκτούν έναντι των ιστικών τομών από όργανα πειραματοζώων μιας και η ανθρώπινη προέλευσή τους διασφαλίζει καλύτερη ειδικότητα, οι πυρήνες είναι αρκετά μεγάλοι και ευδιάκριτοι με αποτέλεσμα την καλύτερη αναγνώριση των διαφορετικών προτύπων, επίσης έχουν αρκετούς πυρηνίσκους και τα διάφορα κύτταρα μπορούν να βρίσκονται σε διαφορετική φάση του κυτταρικού κύκλου έτσι ώστε να μπορούμε να συλλέγουμε επιπλέον πληροφορίες για το πρότυπο ανοσοφθορισμού και για το πιθανό αντιγόνο στόχο. Τέλος

υπερτερούν ως προς την ποσοτική και ποιοτική αντιγονική τους σύσταση. Από την άλλη τα HEp-2 κύτταρα έχουν μεγαλύτερο πυρήνα και επιτρέπουν τον ευκρινέστερο προσδιορισμό των ANA και των προτύπων τους (214).

Η χρήση των διαφόρων τύπων κυττάρων αύξησε σημαντικά την ευαισθησία αλλά και την ειδικότητα της μεθόδου και οδήγησε στην ανακάλυψη νέων προτύπων φθορισμού άρα και νέων αντιγόνων στόχων.

### **3.2.5.2 Πρωτόκολλο**

Τα προς εξέταση δείγματα ορού αρχικά αραιώθηκαν σε τίτλο 1/80 σε PBS. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες επωάστηκαν με 25 ml αραιωμένου ορού σε RT για 30 λεπτά. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν πλύσεις εμβαπτίζοντας τρεις φορές σε PBS την αντικειμενοφόρο πλάκα σε RT. Στη συνέχεια οι αντικειμενοφόροι πλάκα επωάστηκε με 25 ml διαλύματος ενζυμικού συμπλόκου «Enzyme Conjugate» με αντιανθρωπίνη IgG ανοσοσφαιρίνη, συνδεδεμένη με φθοριόχρωμα FITC πράσινου χρώματος σε RT για 30 λεπτά. Έπειτα πραγματοποιήθηκαν πλύσεις εμβαπτίζοντας τρεις φορές σε PBS την αντικειμενοφόρο πλάκα σε RT και τέλος προστέθηκε μικρή ποσότητα γλυκερόλης και αντικειμενοφόρος πλάκα.

Τα πλακίδια εξετάστηκαν σε μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού και όπου χρειάστηκε έγιναν υποδιπλάσιες αραιώσεις.

### **3.2.6 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση έγινε λαμβάνοντας υπόψιν διεθνείς οδηγίες ανάλυσης δεδομένων όπως αυτά έχουν ακολουθηθεί σε δημοσιευμένες εργασίες της

ερευνητικής ομάδας στην οποία εκπονείται η διατριβή (214). Τα κατηγορικά δεδομένα παρουσιάζονται ως απόλυτες τιμές περιπτώσεων και ως συχνότητες εμφάνισης με τη μορφή εκατοστιαίου ποσοστού. Οι διαφορές ανάμεσα σε ανεξάρτητες κατηγορικές μεταβλητές προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson's Chi-Square), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων μικρού μεγέθους χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test). Η παρουσίαση των αριθμητικών δεδομένων γίνεται με τη μορφή μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση (mean  $\pm$  standard deviation). Οι διαφορές ανάμεσα σε ανεξάρτητες αριθμητικές μεταβλητές με κανονική κατανομή προσδιορίστηκαν με τη δοκιμασία t του Student (Student's t-test, two-tailed, equal variances not assumed), ενώ για την ανάλυση ανεξάρτητων, μη παραμετρικών μεταβλητών έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία των Mann-Whitney (Mann-Whitney test). Η ανάλυση της συσχέτισης μεταξύ αριθμητικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το γραμμικό συντελεστή R του Pearson (Pearson's correlation R). Ως στατιστικά σημαντικές χαρακτηρίστηκαν όλες οι διαφορές με τιμή σημαντικότητας (p-value)  $<0,05$ , ενώ διαφορές με  $0.1 > p \geq 0.05$  χαρακτηρίστηκαν πως έχουν τάση να είναι στατιστικά σημαντικές. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το πρόγραμμα στατιστικών αναλύσεων SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Όλα τα γραφήματα δημιουργήθηκαν με το SPSS και με το πρόγραμμα γραφημάτων και στατιστικής ανάλυσης GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA), εκτός από τα διαγράμματα τύπου Venn, τα οποία έγιναν με τη χρήση του προγράμματος InteractiVenn (214).

### 3.2.7 Εκτέλεση πειραματικής διαδικασίας και στατιστικής ανάλυσης

Στην εκπόνηση της διατριβής με βοήθησαν οι ιατροί της Κλινικής Ρευματολογίας και κλινικής Ανοσολογίας και της Δερματολογικής Κλινικής του ΠΓΝΛάρισας με τη συλογή βιολογικού υλικού, δημογραφικών στοιχείων και κλινικών πληροφοριών των ασθενών. Ο κ. Χ.Λιάσκος με βοάθησε στον προσδιορισμό των ANA.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

#### ΤΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΣΥΓΚΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗ ΝΟΣΟ

##### 4.1 Εισαγωγή

Το ένα τρίτο των ασθενών με ψωρίαση θα εμφανίσει ΨΑ (89, 217). Κοινά ανοσολογικά μονοπάτια είναι υπεύθυνα και για τα δύο νοσήματα, όπως του TNF- $\alpha$ , IFN $\gamma$  και/ή ο άξονας IL-23/IL-17, όπου και οδήγησαν στην ανάπτυξη βιολογικών θεραπειών για την ψωρίαση και την ΨΑ (31, 218, 219). Οι αναστολείς του TNF- $\alpha$  έχουν συσχετισθεί με την επαγωγή αυτοαντισωμάτων, συγκεκριμένα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), και σε μικρότερο βαθμό εμφανείς αυτοάνοσες κλινικές εκδηλώσεις (220-223).

Αναστολείς της IL-17 χρησιμοποιούνται για την θεραπευτική αντιμετώπιση και των δύο ασθενειών (31). Η IL-17 μπορεί να αυξήσει την παραγωγή αυτοαντισωμάτων *in vitro* σε μονοπύρηννα κύτταρα περιφερικού αίματος σε ασθενείς με νεφρίτιδα του συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου (129), όμως η *in vivo* επίδραση, των αναστολέων της IL-17 στα ANA δεν έχει μελετηθεί. Τόσο στην ψωρίαση όσο και στην ΨΑ έχει δειχθεί ότι ανιχνεύονται ANA σε IIF, κυρίως σε χαμηλούς τίτλους σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει βιολογικό παράγοντα ως θεραπεία και η συχνότητα ή οι τίτλοι τους αυξάνονται μετά από συγκεκριμένη βιολογική θεραπεία (221, 223-226). Ωστόσο, οι προσπάθειες για την αποσαφήνιση των ANA έναντι συγκεκριμένων πυρηνικών αντιγόνων

στόχων που έχουν ανιχνευθεί είναι μέχρι στιγμής περιορισμένες. Αν και ο αριθμός των πυρηνικών αντιγόνων που αναγνωρίζονται από τα ANA είναι μεγάλος, τα πιο συχνά ανιχνευόμενα είναι σχετικά λίγα και ενσωματώνονται σε ελέγχους ρουτίνας, μετά από ένα θετικό τεστ ANA με IIF κυρίως σε ασθενείς με αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα και θετικά ANA (227, 228). Δοκιμασίες γραμμικής ανοσοαποτύπωσης που επιτρέπουν την ταυτόχρονη αναγνώριση αντισωμάτων κατά πολλών πυρηνικών αντιγόνων χρησιμοποιούνται σε ελέγχους ρουτίνας (229, 230).

Μια τέτοια μέθοδο χρησιμοποιήσαμε σε έναν καλά καθορισμένο πλυθησμό ασθενών με ψωρίαση και ΨΑ και αξιολογήσαμε την *in vivo* επίδραση της σεκουκινουμάμπης στα επίπεδα των ANA για να απαντήσουμε στο ερώτημα αν και κατά πόσο ο αναστολέας αυτός της IL-17 επιδρά στην παραγωγή των ANA.

## **4.2 Υλικά και Μέθοδοι**

### **4.2.1 Ασθενείς και Υγιείς**

Στη μελέτη περιελήφθηκαν 201 ασθενείς με ψωρίαση (n=101), (39 γυναίκες, 38,6%, μέση ηλικία 52,4±15,2 έτη) και ΨΑ (n=100), (61 γυναίκες, 61%, μέση ηλικία 51,9± 11,7 έτη), που παρακολουθούνταν στα Εξωτερικά Ιατρεία της Κλινικής Ρευματολογίας και κλινικής Ανοσολογίας, και της Κλινικής Δερματολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Η διαγνώση των ασθενών με ΨΑ έγινε σύμφωνα Κριτήρια ταξινόμησης για την ψωριασική αρθρίτιδα CASPAR (Classification criteria for Psoriatic Arthritis)

(231). Η ψωρίαση βαθμονομήθηκε σύμφωνα με τον δείκτη PASI (psoriasis area severity index). Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών αναλύονται στον πίνακα 1 και πίνακα 2. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε έλεγχο για ANA με IIF, IgG ρευματοειδή παράγοντα (RF) και IgG αντι-CCP αντισώματα (έναντι του κυκλικού κιτρολλιωμένου πεπτιδίου). Μόνο ασθενείς που ήταν αρνητικοί για αντισώματα έναντι του CCP συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη (RF θετικοί ή αρνητικοί).

Ενενήντα επτά ασθενείς ήταν ANA-θετικοί, (50 με ψωρίαση και 47 με ΨΑ) και ένας συγκρίσιμος αριθμός ήταν ANA αρνητικοί (n=104), ( 51 με ψωρίαση και 53 με ΨΑ), με τίτλο θετικότητας  $\geq 1/80$ . Πενήντα δημογραφικά αντιστοιχισμένοι, υγιείς μάρτυρες, όλοι ANA, RF και αντι-CCP αρνητικοί συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη σαν μάρτυρες ελέγχου. Λήφθηκε γραπτή συγκατάθεση από όλους τους ασθενείς και τους υγιείς αιμοδότες σύμφωνα με την επικαιροποιημένη Διακήρυξη του Ελσίνκι. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Τοπική Επιτροπή Δεοντολογίας του Επιστημονικού Συμβουλίου του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Πρωτόκολλο έγκρισης #19/14-11-2019).

**Πίνακας 1.** Κυριότερα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά 101 ασθενών με ψωρίαση (Ψω) που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

<b>ΨΩ</b>	<b>n=101</b>
Φύλο (άρρεν/θήλυ)	62/39
Ηλικία (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	52,4 ± 15,2
Διάρκεια Ψω (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	17,3 ± 11,4
PASI score μέση τιμή ± ΤΑ	10,5 ± 7,9
Ύψος (μέση τιμή ± ΤΑ)(cm)	171 ± 7,9
Βάρος (μέση τιμή ± ΤΑ)(Kgr)	87,4 ± 17,1
ΔΜΣ (μέση τιμή ± ΤΑ)	33,9 ± 3,4
Τύπος ψωρίασης*: Κατά πλάκας/άλλος**	52/42
Αρθραλγίες (Ναι/Όχι)***	43/48
Προσβολή ονύχων (Ναι/Όχι) *	46/48
Καπνιστές (Ναι/Όχι)****	34/50
sDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι) *	68/26
bDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι) *	30/64
sDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι) *	32/62
bDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι) *	34/60
Άλλο αυτοάνοσο νόσημα (Ναι/Όχι) ***	16/75

Υποσημείωση: PASI: (Psoriasis Area Severity Index) δείκτης σοβαρότητας Ψωρίασης, ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος, bDMARD: (biologic Disease- modifying anti-rheumatic drugs) βιολογικοί παράγοντες- Αντιρευματικά φάρμακα τροποποιητικά νόσου (DMARDs); sDMARD: (synthetic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) συνθετικά τροποποιητικά νόσου Αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs). \* Διαθέσιμα δεδομένα σε 94 από τους 101 ασθενείς,\*\* περιλαμβάνονται 18 ασθενείς με σταγονοειδή Ψω, 10 ασθενείς με ανάστροφη, 11 ασθενείς με Ψω τριχωτού και 3 ασθενείς με ερυθροδερμική ψωρίαση \*\*\* Διαθέσιμα δεδομένα σε 91 από τους 101 ασθενείς \*\*\*\* Διαθέσιμα δεδομένα σε 84 από τους 101 ασθενείς.

**Πίνακας 2.** Κυριότερα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά 100 ασθενών με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ) που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη.

ΨΑ	n=100
Φύλο (άρρεν/θήλυ)	39/61
Ηλικία (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	51,9 ± 11,7
Διάρκεια Ψω (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	13,8 ± 11
Διάρκεια συμπτωμάτων ΨΑ (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	8,7 ± 7,5
Ενθεσίτιδα (Ναι/Όχι)	11/89
Δακτυλίτιδα (Ναι/Όχι)	17/83
Διογκωμένες αρθρώσεις (μέση τιμή ± ΤΑ)	2,4 ± 4
Ευαίσθητες αρθρώσεις (μέση τιμή ± ΤΑ)	3,7 ± 4,9
VAS score (μέση τιμή ± ΤΑ)(1-10)	2,3 ± 2,2
CRP (μέση τιμή ± ΤΑ) (mg/dl)	1,1 ± 1,9
ΤΚΕ (μέση τιμή ± ΤΑ)	21,5 ± 17
DAS28 (μέση τιμή ± ΤΑ)	2,7 ± 1,2
BSA*: <1%/1-3%/3-10%/>10%	63/12/10/1
Χρήση κορτικοστεροειδών (Ναι/Όχι)	18/82
MTX προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	65/35
Άλλα sDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	60/40
bDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	42/58
MTX παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	51/49
Άλλα sDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	37/63
bDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	51/49
Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (Ναι/Όχι)	17/83

Υποσημείωση: bDMARD: (biologic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) βιολογικοί παράγοντες- Αντιρευματικά φάρμακα τροποποιητικά νόσου (DMARDs), sDMARD: (synthetic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) συνθετικά Αντιρευματικά φάρμακα τροποποιητικά νόσου (DMARDs), MTX: μεθοτρεξάτη, Διογκωμένες αρθρώσεις (0-66), Ευαίσθητες αρθρώσεις (0-68), VAS: (Visual Analogue Scale) οπτική αναλογική κλίμακα, CRP: c-αντιδρώσα πρωτεΐνη, ΤΚΕ: Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών, BSA: (body surface area) προσβεβλημένη έκταση σώματος. \* Διαθέσιμα δεδομένα σε 86 από τους 100 ασθενείς.

## 4.2.2 Μέθοδος

### 4.2.2.1 Ανίχνευση αυτοαντισωμάτων

Αρχικά, η αξιολόγηση των ANA έγινε με συμβατικό IIF σε υπόστρωμα HEp-2010 κυττάρων (τίτλος θετικότητας  $\geq 1/80$ ). Τα IgG RF και αντι-CCP αντρώματα ήταν γνωστά από τον έλεγχο των ορών των ασθενών για διαγνωστικούς σκοπούς. Ωστόσο, δοκιμάστηκαν εκ νέου ειδικά για τους σκοπούς αυτής της μελέτης όλα τα δείγματα, με εμπορικά διαθέσιμη ELISA [IgG RF: cut off 20 RU/ml; IgG αντι-CCP (CCP, 2nd generation) cut off: 6 RU/ml]. Επιβεβαιώθηκαν τα αρνητικά αντι-CCP αντισώματα και διασταρώθηκαν τα αποτελέσματα έναντι του RF. Δεκαοχτώ ασθενείς με ψωριασική νόσο (8,95%), συμπεριλαμβανομένων 3 ασθενών με ψωρίαση και (2,98% του συνόλου με ψωρίαση) και 15 ασθενείς με ΨΑ (15% του συνόλου με ΨΑ) ήταν θετικοί στο IgG RF (μέση τιμή  $66,68 \pm 90,42$  TA RU/ml).

Τα ANA έναντι συγκεκριμένων πυρηνικών αντιγόνων στόχων ανιχνευθηκαν με γραμμική ανοσοαποτύπωση που περιλαμβάνει 23 διαφορετικά αντιγόνα: dsDNA, nucleosomes, histones, SS-A, Ro-52, SS-B, ηRNP/Sm, Sm, Mi-2a, Mi-2β, Ku, CENP-A, CENP-B, Sp100, PML, Scl-70, PM-Scl100, PM-Scl75, RP11, RP155, gp210, PCNA και DFS70, τα οποία αντιπροσωπεύουν τα κύρια πυρηνικά αντιγόνα που αντιστοιχούν στα αντίστοιχα πρότυπα ANA (AC) κατά ICAP ([www.anapatterns.org](http://www.anapatterns.org)). Η ανίχνευση έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, με αραίωση 1:101 (232, 233). Οι ταινίες αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό EUROLinScan (Euroimmun) και τα

απατελέσματα εκφράστηκαν σε arbitrary units (AU/ml) (<5 AU: αρνητικά, οριακά θετικά 5-11 AU, και θετικά: >11 AU) (232, 233).

#### **4.2.2.2 Ανίχνευση αντισωμάτων έναντι παθογόνων**

Η αντιδραστικότητα έναντι ειδικών αντιγόνων του Epstein-Bar (EBV), του cytomegalovirus (CMV) και του *H. pylori* (*H. Pylori*, Hp), ανιχνεύθηκε με την μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης (234, 235) σε επιλεγμένους ασθενείς που ήταν θετικοί για αυτοαντισώματα στην αρχική μας προσέγγιση. Τα δείγματα εξετάσθηκαν κατά την έναρξη, στους 3 και στους 12 μήνες από την θεραπεία (εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά). Μεμβανώδεις ταινίες που περιέχουν ηλεκτροφοριστικά διαχωρισμένα αντιγόνα από EBV, CMV, ή *H. Pylori*, επωάστηκαν με μεμονωμένα δείγματα ορού αραιωμένα 1/51 για 30 λεπτά. Μετά από τις πλύσεις που ακολούθησαν, οι μεμβράνες επωάστηκαν με αλκαλική φωσφατάση (ALP)-συζευγμένο αντίσωμα αντι-ανθρώπινο IgG για άλλα 30 λεπτά. Ακολούθησαν εκ νέου πλύσεις και τέλος οι μεμβράνες επωάστηκαν για 10 λεπτά με το έτοιμο προς χρήση υπόστρωμα (NBT/BCIP). Η περιοχή αντίδρασης στη μεμβράνη αναγνωρίστηκε από το λογισμικό EUROLine Scan για τη λήψη ποσοτικών δεδομένων ως AU, όπως έχει περιγραφεί λεπτομερώς προηγουμένως όπως προβλεπουν οι οδηγίες του κατασκευαστή (235, 236).

#### **4.2.2.3 Κυτταρομετρία ροής**

Μαζί με την απόκριση αντισωμάτων, αξιολογήσαμε επίσης υποπληθυσμούς λεμφοκυττάρων και αποκρίσεις κυταροκινών (237, 238). Τα PBMCs απομονώθηκαν με φυγοκέντρηση σε ασυνεχή βαθμίδα χρησιμοποιώντας ως μέσω διαχωρισμού το LymphoPrep (Axis-Shield). Στα PBMCs έγινε δύο φορές πλύση με RPMI-1640 (GIBCO™ -Thermo Fisher Scientific) καταμετρήθηκαν και η βιωσιμότητά τους, προσδιορίστηκε με την χρήση χρώσης trypan blue. Τα κύτταρα επαναιωρήθηκαν σε κρυοπροστατευτικό διάλυμα (freezing medium) που περιέχει 10% DMSO και 90% ορό από βοοειδή (FCS), και διαμοιράστηκαν σε cryogenic vials (Corning™, Thermo Fisher Scientific), διατηρήθηκαν για μία ημέρα στους  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  και αποθηκεύτηκαν σε δεξαμενή υγρού αζώτου μέχρι να χρησιμοποιηθούν. Τα απομονωμένα PBMCs επωάστηκαν στους  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  για 30 λεπτά με συζευγμένα με φθορίζουσες χρωστικές αντι-ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα μύος (monoclonal antibodies, MoAbs) έναντι CD19 (BioLegend, PE; clone H1B19), CD27 158 (BioLegend, FITC; clone M-T271), CD38 (BD Biosciences, APC; clone HIT2), CD24 159 (BioLegend, PerCP; clone ML5), CD3 (BioLegend, PE-Cy7; clone UCHT-1), CD4 160 (BioLegend, APC; clone RPA-T4) και CD185 (CXCR-5) (BioLegend, FITC, clone J252D4). Η ανάλυση διεξήχθη σε κυτταρόμετρο ροής Guava® EasyCyte8 (Merck-Millipore) με πρωτόκολλα που έχουν περιγραφεί αναλυτικά (239).

Αναλύσαμε κύτταρα που σχετίζονται με την παραγωγή αντισωμάτων όπως B κύτταρα, B κύτταρα μνήμης, πλασμοβλάστες, follicular B κύτταρα και follicular T κύτταρα. Τα B κύτταρα ορίζονται ως CD3-CD19+ κύτταρα και τα B κύτταρα μνήμης ως CD3-CD19+CD27+ κύτταρα. Οι πλασμοβλάστες ορίζονται ως CD3-CD19+CD27hiCD38hi και/ή CD3-CD19+CD38hiCD24- κύτταρα (240,

241). Το ποσοστό των λεμφοκυττάρων που εκφράζουν υποδοχείς χημειοκίνης (CXCR5) προσδιορίστηκε με διαδοχική προεπιλογή πύλης (gating), χρησιμοποιώντας CD19 σε συνδυασμό με CD27 για υποπληθυσμούς B λεμφοκυττάρων ή CD3 σε συνδυασμό με CD4 για υποπληθυσμούς T λεμφοκυττάρων. Επομένως, τα ώριμα B κύτταρα που κατευθύνονται σε θυλάκια προσδιορίζονται ως CD19+CXCR5+ 29 κύτταρα και τα follicular T βοηθητικά κύτταρα ορίζονται ως CD3+CD4+CXCR5+ κύτταρα (242).

### **4.2.3 Στατιστική Ανάλυση**

Όλα τα δεδομένα είναι καταγεγραμμένα ως ποσοστά επί τις 100 (%). Οι διακύμανσεις των επιπέδων καθορίστηκαν ως μέση (mean) και τυπική απόκλιση (standard deviation, SD). Οι διαφορές ανάμεσα στις ομάδες υπολογίστηκαν με chi-square, two-tailed t-test και μη παραμετρικό Mann-Whitney test.  $p$ -values  $\leq 0.05$  θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το λογισμικό SPSS Statistics 20.

## **4.3 Αποτελέσματα**

### **4.3.1 Συχνότητα προτύπων ANA**

Οι πίνακες 3α και 3β συνοψίζουν τα αποτελέσματα από τον IIF σύμφωνα με το πρότυπο φθορισμού και τον τίτλο των ANA στους ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ.

**Πίνακας 3α:** Επιπολασμός προτύπων ανοσοφθορισμού σε Hep2010 κύτταρα σε ANA θετικούς ασθενείς με Ψω (n=50) και ΨΑ (n=47).

ANA πρότυπα	Θετικοί ασθενής με Ψω (n=50)	Ψω (% στο σύνολο των ασθενών με Ψω)	Ψω (% στο σύνολο των ANA + ασθενών)	Θετικοί ασθενείς με ΨΑ (n=47)	ΨΑ (% στο σύνολο των ασθενών με ΨΑ)	ΨΑ (% στο σύνολο των ANA + ασθενών)
Στικτό	24	24	48	8	8	17
Ομοιογενής	9	9	18	17	17	36,1
Πυρηνιδιακός	12	12	24	20	20	42,6
RLM	1	1	2	0	0	0
Πυρηνικές κουκίδες	2	2	4	1	1	2,1
Κεντριολίων	2	2	4	0	0	0
Μιτωτικής ατράκτου	0	0	0	1	1	2,1

Υποσημείωση: ANA: Αντιπυρηνικά αντισώματα, ΨΩ: Ψωρίαση, ΨΑ: Ψωριασική αρθρίτιδα, RLM (rim like membranous).

**Πίνακας 3β:** Επιπολασμός της ANA θετικότητας σύμφωνα με τον τίτλο στον IIF σε κύτταρα Hep2010 σε ANA θετικούς ασθενείς με Ψω (n=50) και ΨΑ (n=47).

ANA τίτλος (≥1/80)	Θετικοί ασθενής με Ψω (n=50)	Ψω (% ασθενών με Ψω)	Ψω (% των ANA+ ασθενών)	Θετικοί ασθενείς με ΨΑ (n=47)	ΨΑ (% ασθενών με ΨΑ)	ΨΑ (% ANA+ ασθενών)
1/80	18	18	36	20	20	42,6
1/160	8	8	16	5	5	10,6
1/320	14	14	28	14	14	29,8
1/640	7	7	14	2	2	4,3
1/1280	1	1	2	5	5	10,6
1/2560	2	2	4	1	1	2,1

Υποσημείωση: ANA: Αντιπυρηνικά αντισώματα, ΨΩ: Ψωρίαση, ΨΑ: Ψωριασική αρθρίτιδα.

#### 4.3.2 Επιπολασμός της αντιδραστικότητας των αυτοαντισωμάτων

Οι πίνακες 4α και 4β συνοψίζουν τα αποτελέσματα των αυτοαντισωμάτων των θετικών ασθενών με ψωριασική νόσο και ο πίνακας 5 δείχνει την αντιδραστικότητα έναντι των πυρηνικών αντιγόνων στους υγιείς μάρτυρες. Συνολικά τα οριακά θετικά και/ή τα θετικά έναντι σε τουλάχιστον ένα πυρηνικό αντιγόνο που ανιχνεύθηκαν ήταν 41/201 (20,4%) των ασθενών με ψωριασική νόσο [26/101, (25,7%) με ψωρίαση και 15/100 (15%) με ΨΑ] σε σχέση με 7/50 (14%) στους υγιείς μάρτυρες ( $p=ns$ ). Τα θετικά σε τουλάχιστον ένα πυρηνικό αντιγόνο που ανιχνεύθηκαν ήταν 28/201 (13,9%) των ασθενών με ψωριασική νόσο [19/101, (18,8%) με ψωρίαση και 9/100, (9%) ΨΑ] σε σύγκριση με 4/50 (8%) των υγιών μαρτύρων ( $p=ns$ ).

**Πίνακας 4A:** Πρότυπο IIF και αποκρίσεις μεμονωμένων αντισωμάτων (ab) έναντι 23 πυρηνικών αντιγόνων σε 26 ασθενείς με ψω με τουλάχιστον ένα θετικό αυτοαντίσωμα από συνολικά 101 ασθενείς. Τα δεδομένα από τους 75 ασθενείς χωρίς αντιδραστικότητα δεν απεικονίζονται.

	IIF Πρότυπ ο, τίτλος	DFS 70	PCNA	gp210	RP 155	RP 11	PM 75	PM 100	Sci -70	PML	Sp 100	CENP -B	CENP -A	Ku	Mi- 2β	Mi- 2α	Sm	RNP/ Sm	SSB	Ro-52	SSA	HI	NUC	dsDNA	Συν. Abs/ασθ
Θετ.μάρ τυρας		0	1	0	0	0	0	0	44	0	0	0	1	1	1	0	0	108	0	20	0	1	2	0	
Ψω4	1/80 πυρηνιδι ακός	1	0	0	1	2	1	0	1	1	0	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	10	1
Ψω5	1/2560 λεπτός στικτός	0	1	0	1	1	2	3	1	1	0	65	112	1	1	1	0	57	2	50	57	0	3	5	5
Ψω12	αρνητικό	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	7	1	1	0	1	0	1	0	0	2	3	1
Ψω22	1/320 λεπτός στικτός	62	0	1	1	1	1	0	0	3	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	3	0	1
Ψω23	1/160 λεπτός στικτός	31	0	2	1	1	0	0	0	2	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	3	5	1
Ψω25	1/320 ομοιογεν ής	1	1	1	2	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	2	0	0	1	17	47	0	0	3	2
Ψω28	1/320 λεπτός στικτός	24	0	2	4	1	1	0	1	2	0	1	0	3	2	1	0	0	0	0	0	0	2	5	1
Ψω30	1/1280 λεπτός στικτός	89	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	2	2	2	1	0	0	0	0	0	2	5	1
Ψω35	1/80	1	1	1	1	1	2	49	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1



	στικτός																								
<b>Ψω78</b>	Αρνητικά	1	0	0	1	1	1	0	2	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	8	1
<b>Ψω80</b>	1/160 πυρηνικές κουκίδες	1	0	4	2	1	1	12	0	1	1	1	1	2	2	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1
<b>Ψω100</b>	1/80 λεπτός στικτός	2	0	1	2	3	2	1	1	1	1	0	1	2	1	3	2	2	1	10	1	1	1	1	1
<b>Ψω99</b>	1/80 λεπτός στικτός	60	5	2	0	1	2	0	1	2	2	1	1	4	4	3	3	2	0	1	1	0	0	0	1
<b>Ψω101</b>	1/320 λεπτός στικτός	80	1	2	2	3	1	0	0	2	1	2	1	2	2	1	1	1	1	0	31	2	1	2	2
<b>Αρ. θετικών ασθενών</b>		6	1	0	4	1	0	3	0	0	0	1	1	2	2	0	0	1	2	5	4	1	0	2	

Υποσημείωση: Οι τιμές παρουσιάζονται ως arbitrary units (AU), <5: αρνητικά, 5-11 οριακά θετικά (απαλό μωβ), >11 AU θετικά (σκούρο μωβ). Στην κορυφή του πίνακα είναι οι τιμές σε AU από ένα θετικό μάρτυρα με γνωστή αντιδραστικότητα έναντι Scl-70, RNP/Sm και Ro-52. DFS70: (dense fine speckled) πυκνός λεπτός στικτός 70 kDa, PCNA: proliferating cell nuclear antigen, gp-210: (glycoprotein) γλυκοπρωτεΐνη 210 kDa, RP155: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 155, RP11: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 11, Scl-70: (DNA topoisomerase I) DNA τοποισομεράση I, PML: (promyelocytic leukemia antigen) αντιγόνο προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας; Sp100: (soluble nuclear protein) διαλυτή πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa; CENP-B: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου B, CENP-A: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου A, Sm: πρωτεΐνη Smith; RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, HI:ιστόνες, NUC: νουκλεοσώματα, dsDNA: διπλή-έλικα.

**Πίνακας 4β:** Πρότυπο IIF και αποκρίσεις μεμονωμένων αντισωμάτων (ab) έναντι 23 πυρηνικών αντιγόνων σε 15 ασθενής με ΨΑ με τουλάχιστον ένα θετικό αυτοαντίσωμα από συνολικά 100 ασθενείς. Τα δεδομένα από τους 85 ασθενείς χωρίς αντιδραστικότητα δεν απεικονίζονται.

	IIF Πρότυπο, τίτλος	DFS 70	PCNA	gp210	RP155	RP11	PM75	PM100	Sci- 70	PML	Sp100	CENP- B	CENP- A	Ku	Mi- 2β	Mi- 2α	Sm	RNP/Sm	SSB	Ro- 52	SSA	HI	NUC	dsDNA	Συν. Abs/ασθ
Θετ.μάρτυρας		0	1	0	0	0	0	0	44	0	0	0	1	1	1	0	0	108	0	20	0	1	2	0	
Ψα3	1/80 Ομοιογενής	0	0	0	1	0	1	0	0	1	10	6	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Ψα6	1/1280 πυρηνιδιακός	1	0	0	2	2	17	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	3	1
Ψα10	1/80 ομοιογενής	1	0	0	1	8	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	2	1	0	0	1	0	0	1
Ψα12	1/320 λεπτός στικτός	113	0	1	1	1	3	1	1	1	0	0	1	1	1	2	2	1	1	1	0	0	2	0	1
Ψα14	1/320 πυρηνιδιακός	46	0	1	1	1	1	1	1	3	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1
Ψα16	1/2560 ομοιογενής	1	1	1	6	2	12	0	1	8	1	0	1	1	2	1	1	0	2	0	5	0	3	1	2
Ψα18	1/320 πυρηνιδιακός	1	1	0	1	1	1	0	10	1	1	1	0	2	8	1	0	0	0	1	0	0	2	4	2
Ψα19	1/320 ομοιογενής	2	0	1	1	2	1	1	0	2	1	0	1	15	1	1	0	0	1	0	0	0	1	3	1
Ψα21	Αρνητικά	7	0	1	3	1	1	1	1	3	1	0	0	1	1	1	0	0	1	96	0	0	2	4	2
Ψα22	1/80 λεπτός στικτός	2	1	1	3	1	1	1	1	5	1	1	0	2	1	2	1	0	0	0	0	0	1	17	1
Ψα29	1/80 πυρηνιδιακός	1	0	1	1	1	1	0	0	2	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	20	1

Ψα31	Αρνητικά	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2	1	0	0	45	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1
Ψα63	1/80 λεπτός στικτός	1	1	1	0	0	1	1	1	3	2	2	1	0	2	1	1	1	1	1	11	2	1	1	2	1
Ψα75	1/80 λεπτός στικτός	13	2	1	2	2	1	0	1	1	1	0	2	2	2	1	0	0	2	0	0	1	1	2	1	
Ψα97	1/320 πυρηνιδιακός	2	0	5	3	1	3	1	1	1	1	5	2	4	3	5	2	1	4	1	10	1	3	4	1	
Αρ. θετικών ασθενών		4	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	2	1	0	0	0	0	2	1	0	0	2		

Υποσημείωση: Οι τιμές παρουσιάζονται ως arbitrary units (AU), <5: αρνητικά, 5-11 οριακά θετικά (απαλό μωβ), >11 AU θετικά (σκούρο μωβ). Στην κορυφή του πίνακα είναι οι τιμές σε AU από ένα θετικό μάρτυρα με γνωστή αντιδραστικότητα έναντι Scl-70, RNP/Sm και Ro-52. DFS70: (dense fine speckled) πυκνός λεπτός στικτός 70 kDa, PCNA: proliferating cell nuclear antigen, gp-210: (glycoprotein) γλυκοπρωτεΐνη 210 kDa, RP155: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 155, RP11: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 11, Scl-70: (DNA topoisomerase I) DNA τοποισομεράση I, PML: (promyelocytic leukemia antigen) αντιγόνο προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας; Sp100: (soluble nuclear protein) διαλυτή πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa; CENP-B: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου Β, CENP-A: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου Α, Sm: πρωτεΐνη Smith; RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, HI:ιστόνες, NUC: νουκλεοσώματα, dsDNA: διπλή-έλυκα.

**Πίνακας 5:** Αποκρίσεις μεμονωμένων αντισωμάτων (ab) έναντι 23 πυρηνικών αντιγόνων σε 8 υγιείς μάρτυρες (NC) με τουλάχιστον ένα θετικό αυτοαντίσωμα από συνολικά 50 μάρτυρες. Τα δεδομένα από τους 42 μάρτυρες χωρίς αντιδραστικότητα δεν απεικονίζονται.

	DFS 70	PCNA	gp210	RP155	RP11	PM75	PM100	Scl-70	PML	Sp100	CENP-B	CENP-A	0Κυ	Mi-2β	Mi-2α	Sm	RNP/Sm	SSB	Ro-52	SSA	HI	NUC	dsDNA	Συν. Abs/ασθ	
Θετ.μάρτυρας	1	0	0	0		1	0	51	0	0	0	1	1	0	0	0	112	0	25	0	1	1	0		
NC11	1	0	22	1	1	2	0	0	1	0	0	0	1	1	0	2	0	2	0	0	0	4	0	1	
NC14	116	0	1	1	1	2	0	0	2	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	2	1	
NC20	1	1	6	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	
NC22	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1	8	2	0	3	2	1	
NC30	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	2	1	14	0	0	0	1	0	0	2	0	1	
NC33	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	19	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	4	1	
NC37	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	10	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	
Αρ. θετικών μαρτύρων	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	

Υποσημείωση: Οι τιμές παρουσιάζονται ως arbitrary units (AU), <5: αρνητικά, 5-11 οριακά θετικά (απαλό μωβ), >11 AU θετικά (σκούρο μωβ). Στην κορυφή του πίνακα είναι οι τιμές σε AU από ένα θετικό μάρτυρα με γνωστή αντιδραστικότητα έναντι Scl-70, RNP/Sm και Ro-52. DFS70: (dense fine speckled) πυκνός λεπτός στικτός 70 kDa, PCNA: proliferating cell nuclear antigen, gp-210: (glycoprotein) γλυκοπρωτεΐνη 210 kDa, RP155: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 155, RP11: (RNA polymerase III) RNA πολυμεράση III υπομονάδα 11, Scl-70: (DNA topoisomerase I) DNA τοποισομεράση I, PML: (promyelocytic leukemia antigen) αντιγόνο προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας; Sp100: (soluble nuclear protein) διαλυτή πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa; CENP-B: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου B, CENP-A: (Centromere protein) πρωτεΐνη κεντρομεριδίου A, Sm: πρωτεΐνη Smith; RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, HI:ιστόνες, NUC: νουκλεοσώματα, dsDNA: διπλή-έλυκα.

Ο επιπολασμός της αντιδραστικότητας έναντι αντιγονικών στόχων σε κάθε έναν από τους ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ συνοψίζεται στον πίνακα 6.

Η συσχέτιση μεταξύ των προτύπων ανοσοφθορισμού των ANA και των ειδικών πυρηνικών αντιδραστικότητων με γραμμική ανοσοαποτύπωση φαίνεται στον πίνακα 7. Συνολικά 23 από τους 41 (56%) ασθενείς με ψωριασική νόσο με αντιδραστικότητα έναντι πυρηνικών αντιγόνων είχε συμβατικό πυρηνικό πρότυπο ανοσοφθορισμού [16/26, (61,5%) με ψωρίαση και 7/15 (46,7%) με ΨΑ. Από τους εναπομείναντες 18 ασθενείς, 12 (66,7%) είχαν χαμηλή αντιδραστικότητα (<20AU) και χαμηλό τίτλο ανοσοφθορισμού (1/80, n=2) ή αρνητικό ανοσοφθορισμό (<1/80, n=10). Μεταξύ των υπολοίπων 6, οι 2 είχαν αυξημένη αντιδραστικότητα αντιπυρηνικών αντιγόνων (1 με αντι-Ku και 1 ένα αντι-PM100) χωρίς συμβατό πρότυπο ανοσοφθορισμού, και 4 με χαμηλή αντιδραστικότητα πυρηνικών αντιγόνων με IIF δεν είχαν αντιστοίχιση στην ειδικότητα του πυρηνικού τους αντιγόνου (Πίνακας 7).

Το πιο συχνά αυτοαντισώματα ήταν εκείνα του αντι-DFS70, τα οποία ανιχνεύθηκαν στους 13/201 (6,5%) των ασθενών με ψωριασική νόσο έναντι του 1/50 (2%) των υγιών μαρτύρων. Δέκα από τους 13 (76,92%) αντι-DFS70 θετικούς ασθενείς είχαν αντιπροσωπευτικό πυκνό λεπτό στικτό (DFS) πρότυπο (AC-2 per ICAP). Καμία διαφορά στην συχνότητα των αυτοαντισωμάτων δεν βρέθηκε μεταξύ ασθενών με ψωρίαση και ΨΑ, μεταξύ ασθενών με ψωρίαση και υγιείς μάρτυρες ή μεταξύ ΨΑ και υγιών μαρτύρων.

**Πίνακας 6.** Αντιδραστικότητα αντισωμάτων (αριθμός θετικών περιπτώσεων και επιπολασμός) έναντι μεμονωμένων πυρηνικών αντιγόνων με γραμμική ανοσοαποτύπωση σε ασθενείς με Ψω (n=101) και ΨΑ (n=100).

Αυτοαντισώματα	Ψω θετικοί: n=26 (% του συνόλου)	Ψω (% των θετικών)	ΨΑ θετικοί : n=15 (% του συνόλου)	ΨΑ (% των θετικών)
αντι-DFS70	9 (9%)	34,6	4 (4%)	26,7
αντι-PCNA	1 (1%)	3,8	0 (0%)	0
αντι-grp210	0 (0%)	0	0 (0%)	0
αντι-RP155	4 (4%)	15,4	0 (0%)	0
αντι-RP11	1 (1%)	3,8	1 (1%)	6,7
αντι-PM75	0 (0%)	0	1 (1%)	6,7
αντι-PM100	3 (3%)	11,5	0 (0%)	0
αντι-ScI-70	0 (0)	0	1 (1%)	6,7
αντι-PML	0 (0)	0	1 (1%)	6,7
αντι-sp100	0 (0%)	0	1 (1%)	6,7
αντι-CENP-B	1 (1%)	3,8	0 (0%)	0
αντι-CENP-A	1 (1%)	3,8	0 (0%)	0
αντι-Ku	2 (2%)	7,7	2 ( 2%)	13,3
αντι-Mi-2β	2 (2%)	7,7	1 (1%)	6,7
αντι-Mi-2α	0 (0%)	0	0 (0%)	0
αντι-Sm	0 (0%)	0	0 (0%)	0
αντι-RNP/Sm	1 (1%)	3,8	0 (0%)	0
αντι-SSB	2 (2%)	7,7	0 (0%)	0
αντι-Ro-52	5 (5%)	19,2	2 ( 2%)	13,3
αντι-SSA	4 (4%)	15,4	1 (1%)	6,7
αντι-HI	1 (1%)	3,8	0 (0%)	0
αντι-NUC	0 (0%)	0	0 (0%)	0
αντι-dsDNA	2 (2%)	7,7	2 ( 2%)	13,3

Υποσημείωση: Θετικότητα αυτοαντισωμάτων με γραμμική ανοσοαποτύπωση, όριο θετικότητας  $\geq 6$  AU/ml. Ψω: ψωρίαση, ΨΑ: Ψωριασική αρθρίτιδα, DFS70: dense fine speckled 70 kDa, PCNA: proliferating cell nuclear antigen, gr-210: γλυκοπρωτεΐνη 210 kDa, RP155: RNA πολυμεράση III υπομονάδα 155, RP11: RNA πολυμεράση III υπομονάδα 11, ScI-70: DNA τοποισομεράση I, PML: promyelocytic leukemia antigen , Sp100: διαλυτή πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa; CENP-B: πρωτεΐνη κεντρομεριδίου B, CENP-A: πρωτεΐνη κεντρομεριδίου A, Sm: πρωτεΐνη Smit, RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, HI: ιστόνες, NUC: νουκλεοσώματα, dsDNA: διπλή-έλυκα.

**Πίνακας 7.** Συσχέτιση μεταξύ προτύπων IIF σε κύτταρα Hep2010 και αντιδραστικότητα έναντι ειδικών πυρηνικών αντιγόνων με γραμμική ανοσοαποτύπωση σε ασθενείς με ψωριασική νόσο (n=201).

IIF πρότυπο	Αρνητικά n, (%)	Στικτός n, (%)	Ομοιογενής n, (%)	Πυρηνδιακός n, (%)	RLM n, (%)	Πυρηνικές κουκίδες n, (%)	Κεντριολίων n, (%)	Μιτωτικής ατράκτου n, (%)
Μεμονομένες αντοδραστικότητες με γραμμική ανοσοαποτύπωση								
Αρνητικά (n=160)	91(56,9%)	22(13,8%)	19 (11,9%)	23(14,4%)	1 (0,6%)	2 (1,2%)	1 (0,6%)	1 (0,6%)
Τουλάχιστον 1 θετικό (n=41)	12(29,3%)	11(26,8%)	7 (17,1%)	9 (22%)	0	1 (2,4%)	1 (2,4%)	0
<b>αντι-DFS70 (+) (n=13)</b>	1 (7,7%)	10(76,9%)	0	2 (15,4%)	0	0	0	0
<b>αντι-PCNA (+) (n=1)</b>	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-RP155 (+) (n=4)</b>	0	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	0	0	0	0
<b>αντι-RP11 (+) (n=2)</b>	0	1 (50%)	1(50%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-PM75 (+) (n=)</b>	0	0	0	1 (100%)	0	0	0	0
<b>αντι-PM100 (+) (n=3)</b>	0	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0	0	0	0
<b>αντι-Scl-70 (+) (n=1)</b>	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-PML (+) (n=1)</b>	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-Sp100 (+) (n=1)</b>	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	0
<b>αντι- CENP-B (+) (n= 1)</b>	0	1 (100%)	0	0	0	0	0	0
<b>αντι- CENP-A (+) (n= 1)</b>	0	1 (100%)	0	0	0	0	0	0
<b>αντι-Ku (+) (n=4)</b>	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-Mi-2b (+) (n=3)</b>	0	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0	0	0	0	0
<b>αντι-RNP_Sm (+) (n=1)</b>	0	1 (100%)	0	0	0	0	0	0
<b>SSB (+) (n=2)</b>	0	1 (50%)	0	1 (50%)	0	0	0	0
<b>αντι-Ro-52 (+) (n=7)</b>	2 (28,6%)	3 (42,9%)	1 (14,3%)	1 (14,3%)	0	0	0	0
<b>SSA (+) (n=5)</b>	0	2 (40%)	1 (20%)	2 (40%)	0	0	0	0
<b>αντι-HI (+) (n=1)</b>	1 (100%)	0	0	0	0	0	0	0
<b>αντι-dsDNA (+) (n=9)</b>	3 (33,3%)	1 (11,1%)	1 (11,1%)	4 (44,4%)	0	0	0	0

Υποσημείωση: Θετικότητα αυτοαντισωμάτων με γραμμική ανοσοαποτύπωση  $\geq 6$  AU/ml. Θετικότητα με IIF  $\geq 1/80$  αρραίωση δείγματος. DFS70: dense fine speckled 70 kDa, PCNA: proliferating cell nuclear antigen, gp-210: γλυκοπρωτεΐνη 210 kDa, RP155: RNA πολυμεράση III υπομονάδα 155, RP11: RNA πολυμεράση III υπομονάδα 11, Scl-70: DNA τοποισομεράση I, PML: promyelocytic leukemia antigen, Sp100: διαλυτή πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa; CENP-B: πρωτεΐνη κεντρομεριδίου B, CENP-A: πρωτεΐνη κεντρομεριδίου A, Sm: πρωτεΐνη Smith; RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, HI: ιστόνες, NUC: νουκλεοσώματα, dsDNA: διπλή-έλικα.

### **4.3.3 Κλινική σημασία της θετικότητας των αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με ψωριασική νόσο**

Οι πίνακες 8 και 9 συνοψίζουν τις κλινικές συσχετίσεις των ασθενών με ψωρίαση και ΨΑ αντίστοιχα σύμφωνα με τα αντι-DFS70 αντισώματα, που αποτελούν τον πιο συχνό πυρηνικό αντιγονικό στόχο. Η αντιδραστικότητα έναντι του DFS70 σε ασθενείς με ψωρίαση φαίνεται να έχει σημαντική συσχέτιση με την επικράτηση στις γυναίκες, με χαμηλότερο PASI και στο ιστορικό με μη χρήση βιολογικής θεραπείας στο παρελθόν ή στην παρούσα (Πίνακας 8). Επιπρόσθετα, η θετικότητα έναντι του DFS70 στην ΨΑ συσχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα CRP, την παρουσία ενθεσίτιδας και με την προηγούμενη λήψη βιολογικής αγωγής (πίνακας 9). Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά για κάθε έναν ασθενή με ψωριασική αθρίτιδα που είναι θετικός για αντι-DFS70 είναι στον πίνακα 10.

**Πίνακας 8.** Κλινικά, δημογραφικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά ασθενών με ψωρίαση σύμφωνα με την αντιδραστικότητα έναντι του DFS70.

N=101	Αντι-DFS70 (+) (n=9)	Αντι-DFS70 (-) (n=92)	p
Φύλο (άρρεν/θήλυ)	2 (22,2%)/7 (77,8%)	60 (65,2%)/32 (34,8%)	0,026**
Ηλικία (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	51,1 ± 12,7	52,5 ± 15,5	ns*
Διάρκεια Ψω (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	17 ± 14,3	17,3 ± 11,1	ns*
PASI score μέση τιμή ± ΤΑ)	6,7 ± 4,1	10,9 ± 8,1	0,041*
Ύψος (μέση τιμή ± ΤΑ)(cm)	163,8 ± 7,6	171,6 ± 7,7	ns*
Βάρος (μέση τιμή ± ΤΑ)(Kgr)	87,3 ± 15,2	87,4 ± 17,4	ns*
ΔΜΣ (μέση τιμή ± ΤΑ)	32,7 ± 6,2	34 ± 36	ns*
Τύπος ψωρίασης <sup>x</sup> :			
Κατά πλάκας/άλλος	5 (62,5%)/ 3 (37,5%)	47 (54,7%)/ 39 (55,3%)	ns**
Αρθραλγίες (Ναι/Όχι) <sup>xx</sup>	4 (50%)/4 (50%)	39 (47%)/44 (53%)	ns**
Προσβολή ονύχων (Ναι/Όχι) <sup>x</sup>	3 (37,5%)/ 5 (62,5%)	43 (50%)/43 (50%)	ns**
Καπνιστές (Ναι/Όχι) <sup>xxx</sup>	1 (14,3%)/6 (85,7%)	33 (42,9%)/ 44 (57,1%)	ns**
sDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι) <sup>x</sup>	7 (87,5%)/ 1 (12,5%)	61 (70,9%)/ 25 (29,1%)	ns**
bDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι) <sup>x</sup>	0(0%) /9 (100%)	30 (34,9%)/ 56 (65,1%)	p=0,052**
sDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι) <sup>x</sup>	4 (50%)/4 (50%)	28 (32,6%)/ 58 (67,4%)	ns**
bDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι) <sup>x</sup>	0 (0%)/8 (100%)	34 (39,5%)/ 52 (60,5%)	p=0,047**
Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα **: (Ναι/Όχι)	0 (0%)/8 (100%)	34 (39,5%)/ 52 (60,5%)	p=0,047**

Υποσημείωση: \*οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για τις μέσες τιμές, ίσες διακυμάνσεις δεν συμπεριληφθηκαν. \*\*οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας Pearson's Chi-square ή Fisher's Exact Test (2-sided) μετά από διόρθωση. Συντομογραφίες: Ψω: Ψωρίαση, PASI: (Psoriasis Area Severity Index) δείκτης σοβαρότητας Ψωρίασης, ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος, bDMARD: (biologic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) βιολογικοί παράγοντες-τροποποιητικά νόσου Αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs); sDMARD: (synthetic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) συνθετικά τροποποιητικά νόσου Αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs), ns: στατιστικά μη σημαντικό, \*\* Διαθέσιμα δεδομένα σε 94 από τους 101 ασθενείς; \*\*\* Διαθέσιμα δεδομένα σε 84 από τους 101 ασθενείς.

**Πίνακας 9.** Κλινικά, δημογραφικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά ασθενών με Ψωριασική αρθρίτιδα σύμφωνα με την αντιδραστικότητα έναντι του DFS70.

<b>N=100</b>	<b>Αντι-DFS70 (+) (n=4)</b>	<b>Αντι-DFS70 (-) (n= 96)</b>	<b>p</b>
Φύλο (άρρεν/θήλυ)	0(0%)/4 (100%)	39 (40,6%)/57 (59,4%)	ns**
Ηλικία (μέση τιμή ± TA)(έτη)	48,7 ± 14,6	52 ± 11,7	ns*
Διάρκεια Ψω (μέση τιμή ± TA)(έτη)	8 ± 7,9	14 ± 11,1	ns*
Διάρκεια συμπτωμάτων ΨΑ (μέση τιμή ± TA)(έτη)	1 (25%)/3 (75%)/0 (0%)	32 (33,7%)/51(53,7%) /12 (12,6%)	ns**
Ενθεσίτιδα (Ναι/Όχι)	2 (50%)/2 (50%)	9 (9,4%)/87 (90,6%)	0,059**
Δακτυλίτιδα (Ναι/Όχι)	0 (0%)/4 (100%)	79 (82,3%)/17 (17,7%)	ns**
Διογκωμένες αρθρώσεις (μέση τιμή ± TA)	3,7 ± 6,2	2,3 ± 3,9	ns*
Ευαίσθητες αρθρώσεις (μέση τιμή ± TA)	4,7 ± 8,2	3,7 ± 4,8	ns*
VAS score (μέση τιμή ± TA)(1-10)	2,5 ± 3,1	2,3 ± 2,1	ns*
CRP (μέση τιμή ± TA) (mg/dl)	0,3 ± 0,2	1,2 ± 1,9	0,001
TKE (μέση τιμή ± TA)	27 ± 24,3	21,5 ± 16,9	ns*
DAS28 (μέση τιμή ± TA)	2,5 ± 1,6	2,7 ± 1,2	ns*
BSA*: <1%/1-3%/3-10%/>10%	3 (75%)/1 (25%)/ 0(0%)/0(0%)	60 (73,2%)/11 (13,4%)/10 (12,2%)/1 (1,2%)	ns**
Χρήση κορτικοστεροειδών (Ναι/Όχι)	1 (25%)/3 (75%)	17 (17,7%)/79 (82,3%)	ns**
MTX προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	2 (50%)/2 (50%)	63 (65,6%)/33 (34,4%)	ns**
Άλλα sDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	3 (75%)/1 (25%)	57 (59,4%)/39 (40,6%)	ns**
bDMARDs προηγούμενη θεραπεία (Ναι/Όχι)	4 (100%)/0 (0%)	38 (39,6%)/58 (60,4%)	0,029
MTX παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	1 (25%)/3 (75%)	50 (52,1%)/46 (47,9%)	ns**
Άλλα sDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	1 (25%)/3 (75%)	36 (37,5%)/60 (62,5%)	ns**
bDMARDs παρούσα θεραπεία (Ναι/Όχι)	4 (100%)/0 (0%)	47 (49%)/49 (51%)	ns**

Υποσημείωση: \*οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για τις μέσες τιμές, ίσες σιακυμάνσεις δεν συμπεριληφθηκαν. \*\*οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας Pearson's Chi-square ή Fisher's Exact Test (2-sided) μετά από διόρθωση. Συντομ: VAS: Visual Analogue Scale), CRP: c-αντιδρώσα πρωτεΐνη, TKE: Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών, BSA: (body surface area) προσβελημένη έκταση σώματος, ns: στατιστικά μη σηματικό, bDMARD: (biologic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) βιολογικοί παράγοντες-τροποποιητικά Αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs), sDMARD: (synthetic Disease-modifying anti-rheumatic drugs) συνθετικά τροποποιητικά νόσου Αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs), MTX: μεθοτρεξάτη. \*Διαθέσιμα δεδομένα για 86 από τους 100 ασθενείς.

**Πίνακας 10.** Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά αντιπροσωπευτικών ασθενών με πολλαπλή αντιδραστικότητα αυτοαντισωμάτων ή αντιδραστικότητα έναντι του DFS70.

Αρ.Ασθενούς	Αυτοαντίσωμα	Φύλο Α/Θ	Ηλικία (έτη)	Διάρκεια (έτη)	PASI score	DAS28	Θεραπεία	Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα
Ψω15	SS-A, αντι-Ro-52 και SS-B	Θ	45	na	9,5		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω22	SS-A και αντι-Ro-52	Θ	57	35	2,2		Προηγούμενη θεραπεία με αντι-IL12/23	Πολλαπλή σκλήρυνση όχι
Ψω5	SS-A, αντι-Ro52, αντι-CENPA, αντι-CENPB και αντι-RNP/Sm	Θ	57	28	na		αντι-TNF παράγοντας	όχι
ΨΑ14	αντι-RP11 και αντι-PML	Θ	36	12		2,05	Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
ΨΑ19	αντι-scl70 και αντι-Mi-2β	A	40	33		1,75	αντι-TNF παράγοντας	όχι
Ψω20	αντι-DFS70	Θ	53	43	6		Χωρίς βιολογική θεραπεία	Αυτοάνοση ηπατίτιδα
Ψω25	αντι-DFS70	Θ	63	24	na		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι (αλκολική κίρρωση)
Ψω29	αντι-DFS70	Θ	36	11	11,5		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω45	αντι-DFS70 και αντι-RP155	Θ	40	17	8,7		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω48	αντι-DFS70	Θ	70	35	4		Χωρίς βιολογική θεραπεία	Υπο-θυρεοειδισμός
Ψω6	αντι-DFS70	A	67	4	12		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω62	αντι-DFS70 και SSB	Θ	44	2	2,3		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω99	αντι-DFS70	Θ	40	12	na		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
Ψω101	αντι-DFS70 και SSA	Θ	47	5	2,3		Χωρίς βιολογική θεραπεία	όχι
ΨΑ74	αντι-DFS70	Θ	52	3		2,67	Προηγούμενη θεραπεία με αντι-TNF	όχι
ΨΑ11	αντι-DFS70	Θ	33	19		0,96	Προηγούμενη θεραπεία με αντι-TNF	όχι
ΨΑ21	αντι-DFS70	Θ	40	1		2,88	Προηγούμενη θεραπεία με αντι-TNF	όχι
ΨΑ5	αντι-DFS70 και αντι-Ro52	Θ	64	8		1,47	Προηγούμενη θεραπεία με αντι-TNF	όχι

Υποσημείωση: Ψω: ψωρίαση, ΨΑ: ψωριασική αρθρίτιδα, PASI: Psoriasis Area Severity Index, DAS28: Disease Activity Score-28, DFS70: dense fine speckled 70 kDa, RP155: RNA πολυμεράση III υποομάδα 155, RP11: RNA πολυμεράση III υποομάδα 11, Scl-70: DNA τοποισομεράση I, PML: promyelocytic leukemia antigen, CENP-B, A: πρωτεΐνη κεντρομεριδίου B,A, RNP/Sm: χαμηλού μοριακού βάρους, na: μη διαθέσιμο.

#### 4.3.4 Η σεκουκινουμάμπη μειώνει τα ANA ενώ δεν επηρεάζει τα αντισώματα έναντι των παθογόνων

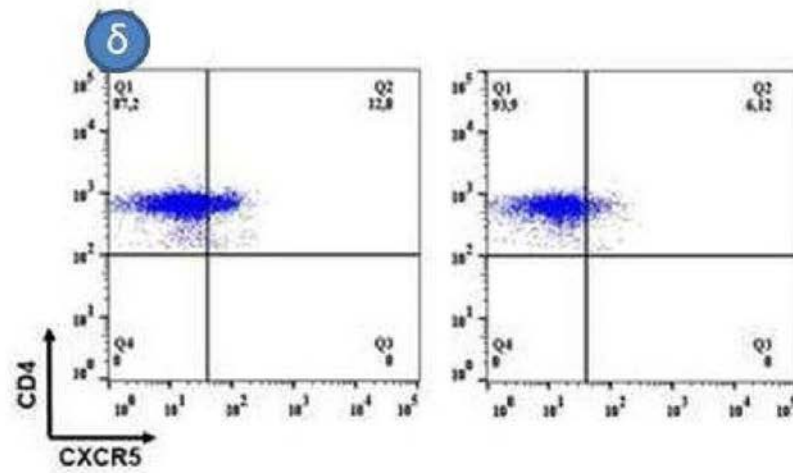
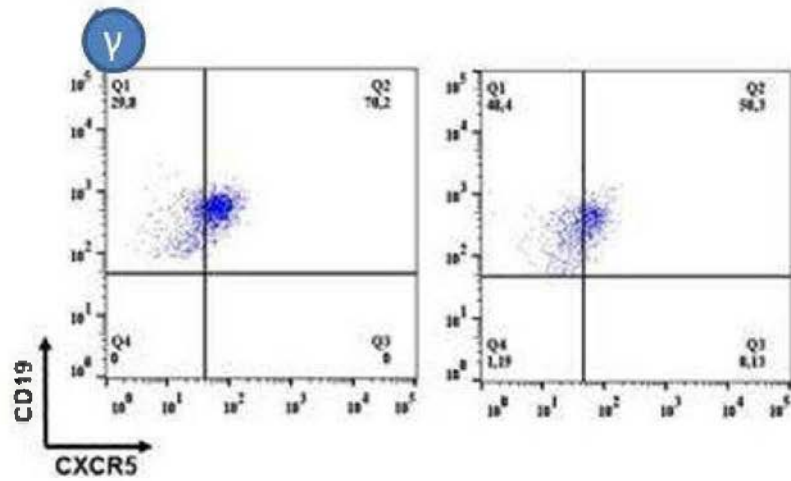
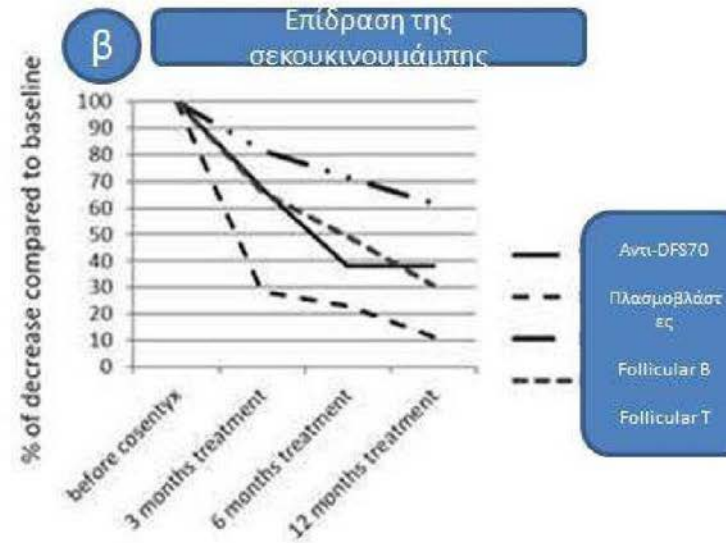
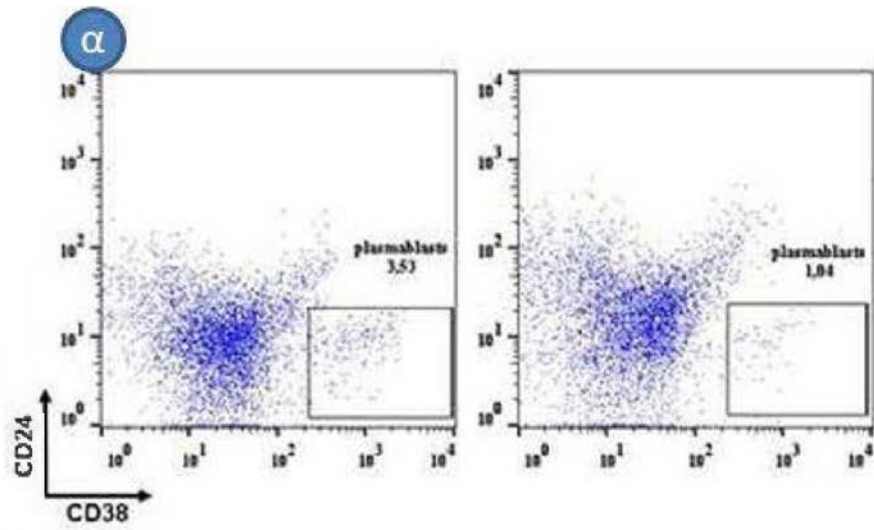
Σε τέσσερις ασθενείς, θετικούς για αυτοαντισώματα, είχαμε διαθέσιμο δείγμα κατά την διάρκεια έναρξης της θεραπείας με σεκουκινουμάμπη και σε περίοδο 12-19 μήνες (μέση τιμή ορών 3, εύρος 3-5). Υπήρξε μία δοσοεξαρτώμενη μείωση του τίτλου των αυτοαντισωμάτων και στους 4 ασθενείς (μέση μείωση: 41,8%, εύρος 23-93,3%). Ενδιαφέρον έχει ότι η μείωση του τίτλου των αυτοαντισωμάτων από την σεκουκινουμάμπη δεν συνοδεύτηκε από παρόμοια μείωση των ειδικών IgG αντισωμάτων έναντι των EBV, CMV και *Hp* ειδικών αντισωμάτων. Μετά την σεκουκινουμάμπη τα επίπεδα των αντι-EBV αντισωμάτων κυμάνθηκε μεταξύ του -10% και του 19,9% σε σχέση με την έναρξη, στα αντι-CMV αντισώματα κυμάνθηκε μεταξύ -18,1 και +37,1% σε σύγκριση με την έναρξη και στα αντι-*Hp* κυμάνθηκε μεταξύ -31,8 και +26,1% σε σύγκριση με την έναρξη. Τα δεδομένα φαίνονται στον πίνακα 11. Η αντιδραστικότητα των αντισωμάτων έναντι των ειδικών αντιγόνων των παθογόνων σε αντιπροσωπευτική περίπτωση (ασθενής Ps30) στα διάφορα χρονικά σημεία της θεραπείας φαίνεται στην εικόνα 1.

**Πίνακας 11.** Αλλαγές των επιπέδων έναντι αυτοαντιγόνων, παθογόνων (CMV, EBV and *H. pylori*) και % των κυτταρικών υποσυνόλων σε 4 ασθενείς (2 με ψω και 2 με ΨΑ) αξιολογήθηκαν με την πάροδο του χρόνου κατά τη διάρκεια της θεραπείας με σεκουκινουμάμπη.

Ασθενής	Χρονική στιγμή στην θεραπεία	Αυτοαντισώματα	τίτλος (AU/ml)	πλάσμα βλάστες	follicular B κύτταρα	follicular T κύτταρα	CMV Abs (AU/ml)						EBV (AU/ml)								
							P28	P38	P52	P55	P65	P130	P22	P33	P40	P41	P65	P125	P43	P45	P79
Ψω25	0 μήνες	αντι-Ro52	17				0	0	0	0	27	0	137	36	90	0	0	0	30	17	74
Ψω25	12 μήνες	αντι-Ro52	13				0	0	0	0	12	0	132	27	0	78	0	0	27	13	65
Ψω30	0 μήνες	αντι-DFS70	89	3,5	70,2	12,4	22	14	0	32	10	27	119	21	0	67	10	0	10	0	38
Ψω30	3 μήνες	αντι-DFS70	60	1	57,2	8,2	21	14	0	30	10	34	131	23	0	77	12	0	14	0	49
Ψω30	6 μήνες	αντι-DFS70	34	0,8	50	6,1	20	14	0	30	9	34	126	26	0	81	10	0	14	0	47
Ψω30	12 μήνες	αντι-DFS70	34	0,4	43,3	3,8	18	14	0	27	0	37	132	24	0	77	9	0	12	0	42
ΨΑ31	0 μήνες	αντι-Ku	45	4	67,2	14,3	9	17	18	11	33	42	85	8	51	0	0	0	10	0	46
ΨΑ31	3 μήνες	αντι-Ku	5	3,51	57,1	11,2	8	15	11	10	25	36	127	9	59	0	0	0	13	0	36
ΨΑ31	19 μήνες	αντι-Ku	3	1,91	37,6	8,58	14	20	12	9	30	41	112	0	0	42	0	0	7	0	30
ΨΑ12	0 μήνες	αντι-DFS70	113	3,4	64	11	0	0	0	0	19	0	13	23	0	0	0	0	0	0	24
ΨΑ12	12 μήνες	αντι-DFS70	33	1,2	38,4	5,27	0	0	0	0	12	0	32	34	0	0	0	0	0	0	32

Ασθενής	Χρονική στιγμή στην θεραπεία	<i>H. pylori</i> (AU/ml)														
		P17	P19	P26	p29	P30	P33	P41	P50	P54	P57	p66	p67	P75	P95	P120
Ψω25	0 μήνες	0	10	16	19	0	0	0	15	43	107	48	18	0	0	0
Ψω25	12 μήνες	0	0	13	11	0	0	8	10	46	98	63	11	0	0	0
Ψω30	0 μήνες	0	0	6	8	0	0	6	16	7	26	24	0	12	0	0
Ψω30	3 μήνες	0	0	0	0	5	0	0	5	0	20	12	0	16	0	0
Ψω30	6 μήνες	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	11	5	20	0	0
Ψω30	12 μήνες	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	3	0	15	0	0
ΨΑ31	0 μήνες	0	0	13	23	0	0	0	6	23	103	36	24	0	0	22
ΨΑ31	3 μήνες	0	13	0	27	0	0	0	0	21	102	39	21	0	0	16
ΨΑ31	19 μήνες	0	7	0	25	0	32	0	0	29	117	37	27	0	0	15
ΨΑ12	0 μήνες	0	10	12	17	2	0	0	3	18	88	48	17	0	0	0
ΨΑ12	12 μήνες	0	8	9	18	0	0	0	3	19	79	52	14	0	0	0

Υποσημείωση: AU, arbitrary units, Πλασμαβλάστες: (CD27++ CD38++) % του συνόλου CD19+ κυττάρων; follicular B κύτταρα: CXCR5+ B κύτταρα (% του συνόλου CD19+ κυττάρων); follicular T κύτταρα: CXCR5+ follicular T κύτταρα (% του συνόλου CD4 T κυττάρων).



**Εικόνα 1α:** Αντιπροσωπευτική απεικόνιση κυτταρομετρίας ροής της σύνθεσης κυττάρων πλασμαβλαστών περιφερικού αίματος σε ασθενή με ψωρίαση και θετικά αντι-DFS70 πριν τη θεραπεία με σεκουκινουμάμπη και 6 μήνες μετά. Τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος περιορίστηκαν αρχικά με βάση τη διάκριση SSC/FSC εξαιρουμένων των διπλών και των νεκρών κυττάρων. Τα CD19+ CD3- κύτταρα περιορίστηκαν ως ολικά B κύτταρα και οι πλασμαβλάστες στη συνέχεια ταυτοποιήθηκαν εντός του ολικού κλάσματος B κυττάρων ως κύτταρα CD38hiCD24- και/ή κύτταρα CD38hiCD27hi.

**Εικόνα 1β:** Συσσωρευμένα δεδομένα που εμφανίζονται σε έναν αντιπροσωπευτικό θετικό ασθενή έναντι του DFS70 με ψω, τη σημαντική πτώση των αυτοαντισωμάτων, των πλασματοβλαστών και των follicular B και T κυττάρων σε περίοδο 12 μηνών ύφεσης που προκαλείται από τη σεκουκινουμάμπη.

**Εικόνα 1γ:** Αντιπροσωπευτική απεικόνιση κυτταρομετρίας ροής των B κυττάρων του περιφερικού αίματος που κατευθύνονται στη σύνθεση των follicles σε έναν αντι-DFS70 θετικό ασθενή με ψωρίαση πριν και 6 μήνες μετά τη θεραπεία με σεκουκινουμάμπη. Τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος περιορίστηκαν αρχικά με βάση τη διάκριση SSC/FSC εξαιρουμένων των διπλών και των νεκρών κυττάρων. Τα CD19+ CD3- κύτταρα περιορίστηκαν ως ολικά B κύτταρα και τα follicular B κύτταρα ταυτοποιήθηκαν στη συνέχεια ως κύτταρα CD19+CXCR5+.

**Εικόνα 1δ:** Αντιπροσωπευτική απεικόνιση κυτταρομετρίας ροής σύνθεσης follicular T βοηθητικών κυττάρων περιφερικού αίματος σε ασθενή με ψωρίαση

θετικό σε αντι-DFS70 πριν και 6 μήνες μετά τη θεραπεία με σεκουκινουμάμπη. Τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος αρχικά περιορίστηκαν με βάση τη διάκριση SSC/FSC εξαιρουμένων των διπλών και των νεκρών κυττάρων. Τα κύτταρα CD3+CD4+ περιορίστηκαν και τα follicular T βοηθητικά κύτταρα ταυτοποιήθηκαν στη συνέχεια ως κύτταρα CD4+CXCR5+.

#### 4.3.5 Η σεκουκινουμάμπη μειώνει τους πλασμοβλάστες, τα follicular B κύτταρα και τα follicular T βοηθητικά κύτταρα

Στη συνέχεια μετρήσαμε την παραγωγή IgG πλασμοβλαστών, follicular B κύτταρα και follicular T βοηθητικά κύτταρα (Tfh). Τα Tfh κύτταρα είναι ένα ξεχωριστό υποσύνολο από CD4+ T λεμφοκύτταρα, εξειδικευμένα στην βοήθεια προς τα B λεμφοκύτταρα και στη ρύθμιση των αποκρίσεων των αντισωμάτων. Υποθέσαμε ότι η απότομη μείωση των αυτοαντισωμάτων οφείλεται στη μείωση αυτών των κυτταρικών υποσυνόλων.

Σε 3 ψωριασικούς ασθενείς με θετικά αυτοαντισώματα (2 με ψωρίαση, 1 με ΨΑ) η μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση % των κυκλοφορούντων πλασμοβλαστών στην έναρξη ήταν  $5,1 \pm 1,1\%$  και μειώθηκε σε  $1 \pm 0,5\%$  (μέση τιμή  $\pm$  SD) μετά από ύφεση που προκαλείται από τη σεκουκινουμάμπη (Πίνακας 11). Παρόμοια ευρήματα με την μείωση των πλασμοβλαστών που σχετίζονται με αυξημένα αυτοαντισώματα περιγράφηκαν σε αντι-CCP θετικούς ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (243).

Από τρεις ασθενείς θετικούς για αυτοαντισώματα που δοκιμάστηκαν σε ύφεση που προκαλείται από τη σεκουκινουμάμπη και μελετήθηκαν και οι τρεις υποομάδες, οι πλασμοβλάστες, και τα follicular B και T κύτταρα, αντίστοιχα μειώθηκαν από 3,5% σε 0,4% (1<sup>ος</sup> ασθενής-Ps30), από 3,4 σε 1,2% (2<sup>ος</sup> ασθενής-ΨΑ 12), από 4% σε 1,91% (3<sup>ος</sup> ασθενής-ΨΑ31) για τους πλασμοβλάστες τα ποσοστά που αναφέρονται (CD27++ /CD38++) % από το σύνολο των CD19+ κυττάρων, από 70,2% σε 43,3% (1<sup>ος</sup> ασθενής), από 64% σε 38,4% (2<sup>ος</sup> ασθενής), από 67,2% σε 37,6% (3<sup>ος</sup> ασθενής), για τα follicular B

κύτταρα, τα ποσοστά μείωσης (CXCR5+ B cells) % του συνόλου των CD19+ κυττάρων από 12,4% σε 3,8% (1<sup>ος</sup> ασθενής), από 11% σε 5,27% (2<sup>ος</sup> ασθενής), από 14,3% σε 8,58% (3<sup>ος</sup> ασθενής) για τα follicular T κύτταρα CXCR5+ % κύτταρα από το σύνολο των CD4 T κυττάρων.

#### 4.4 Συζήτηση

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αξιολογεί τα ANA έναντι 23 πυρηνικών αντιγόνων στόχων σε ασθενείς με ψωριασική νόσο. Επιβεβαιώνουμε την παρουσία ANA σε αυτούς τους ασθενείς και αποδείξαμε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των οροθετικών περιπτώσεων ANA στοχεύει το DFS70. Τεκμηριώθηκε επίσης η παρουσία και άλλων αντισωμάτων έναντι ειδικών πυρηνικών αντιγόνων, αλλά όχι σε βαθμό που θα μπορούσε να δικαιολογήσει τη διενέργεια συστηματικής ανίχνευσής τους. Ωστόσο, ένα σημαντικό ποσοστό ANA θετικών δειγμάτων δεν αναγνώρισε κανένα από τα 23 πυρηνικά αντιγόνα που δοκιμάστηκαν, οδηγώντας μας στο συμπέρασμα ότι άλλα πυρηνικά αντιγόνα δεν έχουν ακόμη ανακαλυφθεί.

Το πιο σχετικό εύρημα της μελέτης μας, ωστόσο, ήταν ότι η σεκουκινουμάμπη μειώνει την αντιδραστικότητα των αυτοαντισωμάτων έναντι των διαφόρων πυρηνικών αντιγόνων τόσο στην ψωρίαση όσο και στην ΨΑ. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με την επαγωγή της παραγωγής των ANA στην ψωρίαση και την ΨΑ από άλλους βιολογικούς παράγοντες όπως οι αντι-TNF $\alpha$ , ειδικά η ινφλιξιμάμπη που προάγει την παραγωγή ANA, ανεξάρτητα από το υποκείμενο νόσημα (220, 221, 223, 226, 244). Επισπρόσθετα, η παρουσία των ANA ή η παραγωγή των ANA ή των αντι-dsDNA αντισωμάτων κατά την

διάρκεια της θεραπείας με αντι-TNF $\alpha$  στην ψωρίαση έχει συσχετισθεί με την έλλειψη αποτελεσματικότητας της αγωγής (221, 245). Ωστόσο, άλλοι διαπίστωσαν ότι η αύξηση των συχνοτήτων ANA από 12,2% σε 37,5% στην εταναρσέπτη και από 25% στο 50% στην ανταλιμουμάμπη στην ψωρίαση δεν συσχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της αγωγής (246). Η μεταβολή των ANA συνέβη πιο συχνά κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους της θεραπείας με αντι-TNF $\alpha$  και τα επίπεδα των ANA αυξήθηκαν, αλλά η δυναμική των ANA δεν συσχετίστηκε με το PASI (245). Στην ΨΑ μία μικρή μελέτη κατέγραψε την δημιουργία ANA στο 50% των ασθενών μετά την 54<sup>η</sup> εβδομάδα θεραπείας με ινφλιξιμάμπη (34). Άλλοι αναφέρουν την συχνότητα θετικότητας από 14% έως 48% σε ασθενείς που δεν είχαν λάβει βιολογική θεραπεία (247). Σε άλλη μελέτη αντι-dsDNA ανιχνεύεται στο 3%, αντι-Ro αντισώματα στο 2% και αντι-RNP αντισώματα στο 1% των ασθενών με ΨΑ (135). Σε άλλη μελέτη, κανένα αντι-dsDNA, αντι-Ro/SSA, αντι-La/SSB ή αντι-ιστονών αντίσωμα δεν βρέθηκε, που σε μεγάλο βαθμό συμφωνεί με τα δικά μας δεδομένα (248). Μία αναδρομική μελέτη βρήκε ότι σε ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ σε αντι-TNF $\alpha$  αγωγή ο ομοιογενής, ο σπικτός και ο φθορισμός έναντι πυρηνίσκου είναι το πρότυπο ανοσοφθορισμού που συναντάμε πιο συχνά (249). Τέλος μία πολυκεντρική μελέτη από την Βραζιλία, προσδιόρισε σε 286 ασθενείς με ποικίλες ρευματικές και φλεγμονώδεις νόσους την παρουσία ANA στην διάρκεια της θεραπείας με αντι-TNF $\alpha$  (249). Η θετικότητα των ANA αυξήθηκε από 31,4% που ήταν πριν την έναρξη της αγωγής σε 64% κατά την διάρκεια της θεραπείας με τον ομοιογενή και έναντι πυρηνίσκου τα πιο συχνά πρότυπα ANA, και τα δύο τόσο πριν όσο και κατά την διάρκεια της αγωγής (250). Στην μελέτη που μικρό ποσοστό ασθενών είχε παλλαπλή αντιδραστικότητα έναντι

πυρηνικών αντιγόνων, με πιο συχνά τα SSA και Ro-52 και 2 ασθενείς που αντέδρασαν σε αντιγόνα που σχετίζονται με την συστηματική σκλήρυνση, χωρίς να υπάρχει ανάλογη συμπτωματολογία.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι ο προς μελέτη πλυθισμός επιλέχθηκε με βάση την προκαθορισμένη θετικότητα ANA με IIF καθώς σκοπός μας ήταν να ορίσουμε αντιγονοειδικά ANA στην ψωρίαση και την ΨΑ. Στην μελέτη μας τα αντι-DFS70, που δίνουν πυκνό λεπτό σικτικό πρότυπο φθορισμού, ήταν τα κυρίαρχα ANA πριν και μετά την θεραπεία με βιολογικό παράγοντα σε ασθενείς με ψωριασική νόσο. Τα αντι-DFS70 αναγνωρίζουν μία πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 70kDa, γνωστή ως lens epithelium-derived growth factor p75 (LEDGF/p75) (200, 209) η οποία είναι μια πρωτεΐνη απόκρισης στο στρες που εκφράζεται σε όλα τα κύτταρα και τους ιστούς των θηλαστικών. Το *PSIP1/LEDGF* γονίδιο μετρίως εκφράζεται, τόσο σε επίπεδο μεταγραφής όσο και σε επίπεδο πρωτεΐνης στο δέρμα ([https://www.proteinatlas.org/ENSG00000164985-](https://www.proteinatlas.org/ENSG00000164985-PSIP1/tissue#gene_information)

*PSIP1/tissue#gene\_information*). Τα αντι-DFS70/LEDGFp75 αυτοαντισώματα έχουν ανιχνευθεί σε ρευματικές και μη αυτοάνοσες ασθένειες και σε φαινομενικά υγιή άτομα, σε διάφορες συχνότητες και τίτλους (202, 209, 251). Κανένας από τους ασθενείς, συμπεριλαμβανομένων και των 7 με ομοιογενή πρότυπο ανοσοφθορισμού δεν είχε αντι-dsDNA αντισώματα, τον πιο συχνό πυρηνικό αντιγονικό στόχο που δίνει αυτό το μοτίβο, υποδηλώνοντας ότι ένα άλλο πυρηνικό αντιγόνο είναι υπεύθυνο για αυτήν την αντιδραστικότητα στους ασθενείς μας με ψωρίαση και ΨΑ.

Ένα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης μας ήταν η απότομη μείωση των αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με ύφεση που προκαλείται από τη

σεκουκινουμάμπη. Η σεκουκινουμάμπη είναι ένα ανθρώπινο IgG1k μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο δεσμεύει και εξουδετερώνει την IL-17A. Η σεκουκινουμάμπη δεν επηρεάζει την παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων από τον εμβολιασμό έναντι της γρίπης και έναντι του μηνιγγιτιδοκκοκού (252). Αν και ο αριθμός των ασθενών που αξιολογήθηκαν ήταν πολύ μικρός και τα δεδομένα μπορούν να θεωρηθούν προκαταρκτικά, η καθολική μείωση των αυτοαντισωμάτων, ανεξάρτητα από την ειδικότητά τους στο πυρηνικό αντιγόνο, υποδηλώνει ότι ο βιολογικός παράγοντας μπορεί να μειώσει τα αυτοαντισώματα. Τα αντι-ιακά και τα αντι-μικροβιακά IgG αντισώματα παρέμειναν ανεπηρέαστα υποδηλώνοντας ότι η επίδραση της σεκουκινουμάμπης είναι προσαρμοσμένη στα αντιγονοειδικά αυτοαντιδραστικά B λεμφοκύτταρα (253). Για περαιτέρω διερεύνηση με την μείωση αυτή των αυτοαντισωμάτων, αξιολογήσαμε παράλληλα και τις αλλαγές στον αριθμό των λεμφοκυττάρων στα πλασματοκύτταρα, τα B κύτταρα, τα follicular B κύτταρα και τα follicular T βοηθητικά κύτταρα, μιας και αυτά τα κύτταρα είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των αυτοαντισωμάτων. Τα Tfh κύτταρα απαιτούνται για τη δημιουργία αντιδράσεων βλαστικού κέντρου, όπου λαμβάνει χώρα η επιλογή των B κυττάρων που παράγουν αντισώματα υψηλής συγγένειας και η ανάπτυξη των B κυττάρων μνήμης. Για παράδειγμα, τα Tfh κύτταρα αυξάνονται και έχουν έναν ενεργό φαινότυπο στους ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο. Αυτός ο ενεργός φαινότυπος συσχετίζεται με τον αριθμό των κυκλοφορούντων πλασμοβλαστών και με τα επίπεδα των παθογενετικών αυτοαντισωμάτων (254). Βρήκαμε ότι οι πλασμοβλάστες, τα follicular B και T λεμφοκύτταρα μειώθηκαν σημαντικά στους ασθενείς μετά τη θεραπεία με σεκουκινουμάμπη. Στην βιβλιογραφία

έχει περιγραφεί μία περίπτωση ενός 69χρονου άντρα με ιστορικό ψωρίασης ο οποίος ανέπτυξε πέμφυγα και έλαβε αγωγή με σεκουκινουμάμπη όπου κατάστηλλε στον ορό τα αντι-BP180-NC16a αντισώματα. Σε PBMCs από ασθενή με νεφρίτιδα του ΣΕΛ η καλλιέργεια με αντι-IL-17 αντίσωμα εμπόδισε πλήρως την *in vitro* αύξηση IgG αντι-dsDNA αντισωμάτων με δοσοεξαρτώμενο τρόπο (255). Τα ευρήματά μας παρέχουν τα πρώτα κλινικά δεδομένα που υποστηρίζουν την *in vivo* μείωση της παραγωγής αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με ψωριασική νόσο από τη σεκουκινουμάμπη. Εν κατακλείδι, η μελέτη μας προτείνει ότι τα ANA σε ασθενείς με ψωρίαση και ΨΑ εμφανίζονται με 3 τρόπους, τα ANA που έχουν ως κύριο στόχο το DFS70, ένας αντιγονικός στόχος που περιγράφεται για πρώτη φορά και η κλινική του σημασία δεν έχει πλήρως ξεκαθαριστεί, δεύτερον αυτά κατά διάσπαρτων πυρηνικών αυτοαντιγόνων που σχετίζονται με αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, τα οποία μπορεί να είναι επιφαινόμενα ή θα μπορούσαν να υποδεικνύουν μελλοντική ανάπτυξη έκδηλης νόσου και τέλος, αυτά έναντι μη αναγνωρισμένων πυρηνικών αντιγόνων στόχων (που περιλαμβάνουν περίπου τα δύο τρίτα των συνολικών δειγμάτων θετικών ANA). Η σεκουκινουμάμπη φαίνεται να μπορεί να μειώσει την ανάπτυξη αυτοαντισωμάτων, και αν αυτό αληθεύει αυτός ο βιολογικός παράγοντας είναι από τους λίγους που ασκεί τέτοια επιρροή (256). Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο η θεραπεία με αντι-IL-17 μειώνει τα ειδικά αυτοαντισώματα για το πυρηνικά αντιγόνα εγγυάται περαιτέρω διερεύνηση σε μεγαλύτερους πλυθισμούς, αλλά η σημαντική μείωση των πλασματοβλαστών και των follicular B και T κυττάρων που σημειώσαμε μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην μείωση των αυτοαντισωμάτων.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟ ΚΑΙ Η ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΝΤΙΓΟΝΟΕΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΟΥ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ

#### 5.1 Εισαγωγή

Πως εμφανίζονται αυτοαντισώματα σε νοσήματα όπως η ψωρίαση και η ΨΑ δεν είναι πλήρως κατανοητό. Εκτός από την γνωστή συσχέτιση με την επαγωγή από βιολογικούς παράγοντες, τα ANA στην ψωριασική νόσο μπορεί να είναι αποτέλεσμα διαταραχής της ανοσοανοχής προκαλούμενης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως οι χρόνιες λοιμώξεις με παθογόνα που προάγουν την αυτοανοσία. Είναι γνωστό ότι τα δερμα των ψωριασικών βλαβών φιλοξενεί αυξημένο αριθμό Gram+ μικροβίων. Ένας μολυσματικός παράγοντας που έχει συσχετιστεί με την αυτοανοσία και την παραγωγή αυτοαντισωμάτων είναι το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*, H<sub>p</sub>). Το H<sub>p</sub> είναι ένα βακτήριο που συχνά προσβάλλει από την παιδική ηλικία και σταδιακά το σύνολο των ανθρώπων στην ενήλικη ζωή, αποικίζοντας το βλεννογόνο του γαστρικού επιθηλίου. Η λοίμωξη από H<sub>p</sub> είναι συχνή, με τον επιπολασμό να είναι περίπου 50% παγκοσμίως (257, 258) και είναι ευρέως γνωστή για τον αιτιολογικό της ρόλο στη γαστρίτιδα και το πεπτικό έλκος (259). Είναι σημαντικό ότι το H<sub>p</sub> έχει αναπτύξει μια ποικιλία τακτικών ανοσοδιαφυγής, συμπεριλαμβανομένης της παράκαμψης της αναγνώρισης από το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, της αναστολής της φαγοκυτταρικής

θανάτωσης, της τροποποίησης των λειτουργιών των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και του χειρισμού των αποκρίσεων των T-κυττάρων του ξενιστή (260). Χωρίς αντιβιοτική θεραπεία, η λοίμωξη από το Ηρ μπορεί να παραμείνει για πολλά χρόνια, αν όχι για ολόκληρη τη ζωή του ατόμου, καθώς η λοίμωξη είναι συχνά ασυμπτωματική (259).

Προηγούμενες μελέτες έχουν εξετάσει τον ρόλο του Ηρ στα αυτοάνοσα νοσήματα λόγω της συχνής εμφάνισής του και της αλληλεπίδρασής του με το ανοσοποιητικό σύστημα (261). Ωστόσο, η σχέση μεταξύ του Ηρ και των ANA στην ψωριασική νόσο δεν έχει μελετηθεί ακόμα.

Είναι γνωστό ότι στους ασθενείς με ψωριασική νόσο, τα ANA εντοπίζονται συχνά ακόμη και πριν από την έναρξη βιολογικών θεραπειών, οι οποίες μπορούν να θεωρηθούν μηχανισμοί ενεργοποίησης των ANA, και η προέλευσή τους στην ψωρίαση και την ΨΑ παραμένει ασαφής. Στην παρούσα διατριβή θεωρήσαμε ότι η λοίμωξη με Ηρ θα μπορούσε να αποτελεί παράγοντα επαγωγής των ANA (262). Βάσει αυτών σκοπός της μελέτης μας ήταν η αξιολόγηση της απόκρισης των αντιγονοειδικών αντισωμάτων έναντι του Ηρ σε ANA θετικούς και ANA αρνητικούς ασθενείς με ψωριασική νόσο.

## 5.2 Υλικά Και Μέθοδοι

Συνολικά μελετήθηκαν 87 ασθενείς με ψωριασική νόσο (51 ασθενείς με ψωρίαση, και 36 με ΨΑ). Από αυτούς τους ασθενείς οι 28 ήταν ANA θετικοί (15 με ΨΑ) και οι 59 ασθενείς ήταν ANA αρνητικοί (21 με ΨΑ). Η αντιδραστικότητα έναντι ειδικών αντιγόνων του Ηρ ανιχνεύθηκε με την μέθοδο

της ανοσοαποτύπωσης (Western immunoblotting) όπως περιγράφηκε παραπάνω (234, 235).

### 5.3 Αποτελέσματα

Συνολικά, η αντιδραστικότητα ειδικών αντισωμάτων έναντι του Ηρ δεν διέφερε μεταξύ ANA θετικών και ANA αρνητικών. Αντισώματα έναντι των αντιγόνων p120-CagA, p95-VacA, p75, p67-FSH, p66-UreB, p57, p54-flagellin, p50, p41, p33, p30-OMP, p29-UreA, p26, p19-OMP και p17 βρέθηκαν σε p120-CagA: 53,8%, p95-VacA: 0%, p75: 30,8%, p67-FSH: 84,6%, p66-UreB: 92,3%, p57: 100%, p54-fagellin: 76,9%, p50: 30,8%, p41: 53,8%, p33: 23,1%, p30-OMP: 23,1%, p29-UreA: 100%, p26: 53,8%, p19-OMP: 30,8% και p17: 23,1% σε ANA θετικό σε σύγκριση με p120- CagA: 60%, p95-VacA: 8%, p75: 28%, p67-FSH: 56%, p66-UreB: 100%, p57: 92%, p54-flagellin: 72%, p50: 36%, p41: 48%, p33: 28%, p30-OMP: 24%, p29-UreA: 92%, p26: 64%, p19-OMP: 16% και p17: 16% σε ANA αρνητικούς ασθενείς με ψωριασική νόσο, αντίστοιχα ( $p > 0,05$ , για όλες τις συγκρίσεις). Σε ασθενείς με ψωρίαση, αντισώματα έναντι p120-CagA, p95-VacA, p75, p67-FSH, p66-UreB, p57, p54-flagellin, p50, p41, p33, p30-OMP, p29-UreA, p26, p19-OMP και p17 αντιγόνα του Ηρ βρέθηκαν στο p120-CagA:50%, p95-VacA: 0, p75: 16,7%, p67-FSH: 83,3%, p66-UreB: 100%, p57: 100%, p54-fagellin: 83,3% , p50: 0, p41: 33,3%, p33: 33,3%, p30-OMP: 0, p29-UreA: 100%, p26: 16,7%, p19-OMP: 16,7% και p17: 33,3% σε ANA θετικό σε σύγκριση με p120 -CagA: 46,7%, p95-VacA: 0, p75: 6,7%, p67-FSH: 40%, p66-UreB: 100%, p57: 93,3%, p54-fagellin: 73,3%, p50: 20%, p41: 40%, p33: 33,3%, p30-OMP: 6,7%, p29-UreA: 86,7%, p26: 60%, p19-

OMP: 6,7 και p17: 20% ANA αρνητικούς ασθενείς, αντίστοιχα ( $p>0,05$ , για όλες τις συγκρίσεις).

Σε ασθενείς με ΨΑ, τα αντισώματα έναντι p120-CagA, p95-VacA, p75, p67-FSH, p66-UreB, p57, p54-flagellin, p50, p41, p33, p30-OMP, p29-UreA, p26, p19-OMP και p17 αντιγόνα του Ηρ βρέθηκαν στο p120-CagA: 57,1%, p95-VacA: 0, p75: 42,9%, p67-FSH: 85,7%, p66-UreB: 85,7%, p57: 100%, p54-μαστιγγιλή: 71. , p50: 57,1%, p41: 71,4%, p33: 14,3%, p30-OMP: 42,9%, p29-UreA: 100, p26: 85,7%, p19-OMP: 42,9% και p17: 14,3% στο ANA θετικό p120-CagA: 80%, p95-VacA: 20%, p75: 60%, p67-FSH: 80%, p66-UreB: 100%, p57: 90%, p54-fagellin: 70%, p50: 60%, p41: 60%, p33: 20%, p30-OMP: 50%, p29-UreA: 100%, p26: 70%, p19-OMP: 30% και p17: 10% ANA αρνητικούς ασθενείς, αντίστοιχα ( $p>0,05$ , για όλες τις συγκρίσεις). Επίσης, καμία συσχέτιση δεν προέκυψε μεταξύ αντι-Ηρ οροθετικότητας του προτύπου ANA και του τίτλου ANA ή. Τέλος, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της αντιδραστικότητας έναντι του Ηρ και των κλινικών χαρακτηριστικών μεταξύ θετικών και αρνητικών ANA ασθενών Πίνακες 12, 13 και 14.

**Πίνακας 12:** Συσχέτιση των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών καθώς και της θετικότητας έναντι του Ελικοβακτηριδίου του πυλωρού μεταξύ 28 ANA (+) και 59 ANA (-) ασθενών με ψωριασική νόσο.

<b>N=87</b>	<b>ANA (+) (2,2%)</b>	<b>ANA (-) 59 (67,8%)</b>	<b>p</b>
Νόσος:			ns**
Ψωρίαση	13 (25,5%)	38 (74,5%)	
ΨΑ	15 (41,7%)	21 (58,3%)	
Φύλο:			ns**
Άρρεν	14 (26,9%)	38 (73,1%)	
Θήλυ	14 (40%)	21 (60%)	
Ηλικία (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη):	56,1±15,8	54,5±13,5	ns*
Διάρκεια νόσου (μέση τιμή ± ΤΑ)(έτη)	15,8±11,7	18,2±13,7	ns*
DAS28	3,2±1,3	3,1±1,2	ns*
PASI	9,1±8	9,6±7,9	ns*
Θετικότητα Η.Ρ			ns**
Η.Ρ αρνητικοί	13 (30,6%)	34 (64,9%)	
Η.Ρ θετικοί	15 (30,6%)	25 (65,8%)	

Υποσημείωση: ANA: αντιπυρηνικά αντισώματα, ΨΑ: ψωριασική αρθρίτιδα, DAS 28: (Disease Activity Score) δείκτης σοβαρότητας νόσου, PASI: (Psoriasis Area Severity Index) δείκτης σοβαρότητας Ψωρίασης, ΤΑ: τυπική απόκλιση, Η.Ρ: Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, ns: μη στατιστικά σημαντικό, \* οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για τις μέσες τιμές, \*\*\*οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας Pearson's Chi-square ή Fisher's Exact Test (2-sided) μετά από διόρθωση.

**Πίνακας 13:** Συσχέτιση των προτύπων των 28 ANA + ασθενών με έμμεσο ανοσοφθορισμό μεταξύ θετικών και αρνητικών ασθενών για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού.

<b>Πρότυπο IIF</b>	<b>H.P(-)</b>	<b>H.P (+)</b>	<b>p</b>
Ομοιογενές	2 (40%)	3 (60%)	
Στικτό	5 (50%)	5 (50%)	ns
Πυρηνιδιακό	7 (58,3)	5 (41,7)	
Άλλο	1	0	

Υποσημείωση: ANA: αντιπυρηνικά αντισώματα, IIF: έμμεσος ανοσοφθορισμός, Η.Ρ: Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, ns: μη στατιστικά σημαντικό, οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας Pearson's Chi-square ή Fisher's Exact Test (2-sided) μετά από διόρθωση.

**Πίνακας 14:** Συσχέτιση τίτλου των 28 ANA + ασθενών με έμμεσο ανοσοφθορισμό μεταξύ θετικών και αρνητικών ασθενών για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού.

<b>Τίτλος ANA</b>	<b>H.P (-)</b>	<b>H.P (+)</b>	<b>p</b>
1/80	2 (40%)	3 (60%)	
1/160	5 (50%)	5 (50%)	
1/320	7 (58,3)	5 (41,7)	
1/640	1 (100%)	0	ns
1/1280	1 (100%)	0	
1/2560	0	2(100)	

Υποσημείωση: ANA: αντιπυρηνικά αντισώματα, Η.Ρ: Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, ns: μη στατιστικά σημαντικό, οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας Pearson's Chi-square ή Fisher's Exact Test (2-sided) μετά από διόρθωση.

## 5.4 Συζήτηση

Τα δεδομένα μας δεν υποστηρίζουν καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ αποκρίσεων των αντισωμάτων σε συγκεκριμένα αντιγόνα του Ηρ και της οροθετικότητας ANA. Για παράδειγμα δεν φάνηξε κάποια αντισωματική απόκριση έναντι αντιγόνου του Ηρ να είναι πιο συχνή σε ANA θετικούς ασθενείς με ψωρίαση ή ΨΑ σε σύγκριση με ANA αρνητικούς ασθενείς. Τα ευρήματα αυτά μπορεί να υποδηλώνουν, ειδικά αν επιβεβαιωθούν σε μεγαλύτερους πληθυσμούς ασθενών, ότι η λοίμωξη από το Ηρ δεν ευθύνεται για την παρουσία των ANA στους ασθενείς με ψωριασική νόσο προκαλώντας εμφανώς ερωτηματικά για την εμπλοκή τους στην ψωρίαση και στην ΨΑ. Η μη εμπλοκή του Ηρ την ψωριασική νόσο προφανώς και δεν θα πρέπει να συσχετιστεί με τον ρόλο του Ηρ την επαγωγή της νόσου, είτε μιλάμε για την ψωρίαση είτε μιλάμε για την ΨΑ, η οποία και θα αποτελέσει αντικείμενο ξεχωριστής μελέτης. Με άλλα λόγια, το γεγονός ότι αντισώματα έναντι ειδικών αντιγόνων του Ηρ δεν συσχετίζονται με την οροθετικότητα των ANA δεν αποκλείει το ενδεχόμενο ο μικροβιακός αυτός παράγοντας να είναι ένας από τους λιμογόνους παράγοντες που συνεισφέρουν στην διαταραχή της ανοσοανοχής στην ψωριασική νόσο. Άλλοι λοιμογόνοι ή μη παράγοντες (μικρόβια, ιοί, περιβάλλον) μπορεί να ευθύνονται για την εμφάνιση των ANA στην ψωρίαση και την ΨΑ και τέτοιες πιθανές συσχετίσεις ανάλογες με αυτές που προσπαθήσαμε να κάνουμε μελετώντας αντισώματα κατά των ανοσοεπικρατούντων αντιγόνων του Ηρ θα πρέπει να γίνουν και για άλλους λοιμογόνους παράγοντες όπως τον EBV, CMV κ.α..

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΟΥ ΕΛΙΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΠΥΛΩΡΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΨΩΡΙΑΣΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ: ΜΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

### 6.1 Εισαγωγή

Όπως αναφέρθηκε, οι μολυσματικοί παράγοντες είναι πιθανοί πυροδοτητές της ΨΑ και της ψωρίασης. Για παράδειγμα, η έγχυση μαννάνης από *Saccharomyces cerevisiae* προκαλεί ψωρίαση και ασθένεια παρόμοια με ΨΑ σε ποντίκια (263). Άλλα παθογόνα έχουν εμπλακεί στην ψωρίαση, συμπεριλαμβανομένου του Ηρ (264). (265). Στην μελέτη μας αποτύχαμε να συσχετίσουμε την οροθετικότητα των ANA με ειδικά αντι-Ηρ αντισώματα αλλά σε δύο πρόσφατες συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-αναλύσεις, η λοίμωξη από Ηρ, η οποία περιελάμβανε ενεργή και προηγούμενη/χρόνια λοίμωξη, συσχετίστηκε με την ψωρίαση (266, 267). Στην ψωρίαση, λίγες μελέτες βασιμμένες σε IgG αντι-Ηρ ELISA για την ανίχνευση παλαιότερης/χρόνιας λοίμωξης από Ηρ έχουν δημοσιευτεί, και αυτές ανέφεραν αυξημένο επιπολασμό της οροθετικότητας του Ηρ σε αυτή τη νόσο (264, 265, 268). Επιπλέον, σε μία μελέτη αναφέρθηκε συσχέτιση της οροθετικότητας κατά του Ηρ με τη σοβαρότητα της νόσου (265). Ωστόσο, μια άλλη μελέτη δεν βρήκε αυξημένο οροθετικό επιπολασμό κατά του Ηρ σε ψωρίαση ή σε σχέση με την βαρύτητα της νόσου, όπως αξιολογήθηκε από τον δείκτη PASI (269). Οι περισσότερες μελέτες δεν λαμβάνουν υπόψη την οροθετικότητα του Ηρ όταν συγκρίνουν τον επιπολασμό της αντιδραστικότητας των αντισωμάτων μεταξύ ασθενών και υγιών μαρτύρων με

αποτέλεσμα να παρέχουν διαφορεόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν μόνο δύο μικρές μελέτες, οι οποίες διερεύνησαν τα CagA (270) και VacA (268), τους δύο κύριους λοιμογόνους παράγοντες του Hρ στην ψωρίαση. Κατά τη διάρκεια της μόλυνσης από Hρ, έχουν περιγραφεί αρκετά αντιγόνα του Hρ συμπεριλαμβανομένων και των ανοσολογικά επικρατούντων και των λιγότερο σημαντικών αντιγόνων. Η αντιδραστικότητα αντισώματος έναντι της πληθώρας των Hρ αντιγόνων δεν έχει περιγραφεί με μεγάλη λεπτομέρεια στην ΨΑ ή στην ψωρίαση. Με αφορμή και την προηγούμενη μελέτη μας της συσχέτισης των ANA με τα αντι-Hρ αντισώματα, ο στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να αναλύσουμε την χυμική ανοσία έναντι και των 15 κύριων και δευτερευόντων Hρ αντιγόνων σε μια καλά καθορισμένη ομάδα Hρ (+) ασθενών με ΨΑ και ψωρίαση.

## **6.2 Υλικά Και Μέθοδοι**

### **6.2.1 Ασθενείς και μάρτυρες**

Συνολικά ελέγχθησαν 203 ασθενείς με ψωριασική νόσο συμπεριλαμβανομένων 89 ασθενών με ΨΑ (50 γυναίκες 56,2%, μέση ηλικία 51 έτη, εύρος 27-84 έτη) και 114 ασθενών με ψωρίαση (45 γυναίκες 39,5%, μέση ηλικία 53 έτη, εύρος 17-78 έτη). Τα κύρια δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά φαίνονται στον πίνακα 15.

Ελέγχθησαν επίσης δείγματα ορού από 60 δημογραφικά αντιστοιχισμένους (ηλικία, φύλο, εθνικότητα και καταγωγή) υγιείς μάρτυρες (31 γυναίκες, 51,7%, μέση ηλικία 52,4 έτη και εύρος 20-73 έτη). Οι υγιείς μάρτυρες δεν είχαν

κανένα οικογενειακό ιστορικό αυτοάνοσης πάθησης και σημαντικές συννοσηρότητες ή χρόνια νοσήματα.

Η παρούσα μελέτη ήταν σύμφωνη με τις αρχές της επικαιροποιημένης Διακήρυξης του Ελσίνκι. Ελήφθη γραπτή συγκατάθεση από όλους τους ασθενείς και τους μάρτυρες. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε μετά από έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, Λάρισα, Ελλάδα (Πρωτόκολλο έγκρισης #19/14-11-2019).

**Πίνακας 15:** Κυριότερα δημογραφικά χαρακτηριστικά από 89 ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), 114 ασθενείς με ψωρίαση (Ψω) και 60 υγιείς μάρτυρες (HC).

	ΨΑ (n=89)	Ψω (n=114)	HC (n=60)	$p_{\Psi A \text{ vs } \Psi \Omega}$	$p_{\Psi A \text{ vs } HC}$	$p_{\Psi \omega \text{ vs } HC}$
Ηλικία	51,5 ± 12,1	51,9 ± 14,6	52.4 ± 12.7	ns*	ns*	ns*
Φύλο						
Άρρεν	39 (43,8%)	69 (60,5%)	29(48,3%)	<b>0,048*</b>	ns**	ns**
Θήλυ	50 (56,2%)	45 (39,5%)	31,(51,7%)			
Θετικότητα Ηρ	34 (38,2%)	40 (35,1%)	30 (50%)	ns**	ns**	<u>0,061**</u>
Διάρκεια νόσου (έτη)	18,2 ± 13	16,8 ± 11,1		ns*		
DAS28	3 ± 1,3					
PASI		10,3 ± 9,5				
Θεραπεία#						
Χωρίς θεραπεία	15 (18,7%)	21 (19,8%)		ns**		
Σε θεραπεία	65 (81,3%)	85 (80,2%)		ns**		
s##						
SDMARD	18 (22,5%)	23 (21,7%)				
Απρεμιλά στη-PDE4	11 (13,7%)	21 (19,9%)				
Αντι-TNF	20 (25%)	14 (13,2%)				
Αντι-IL17	11 (13,7%)	7 (6,6%)				
Αντι-IL12/23	3 (3,8%)	17 (16%)				
Αντι-CTL4	1 (1,3%)	0 (0%)				
Αντι-IL1Ra	1 (1,3%)	3 (2,8%)				

Τα δεδομένα ηλικίας (σε έτη) αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Όλα τα άλλα δεδομένα αντιπροσωπεύουν τον αριθμό των περιπτώσεων και στις παρενθέσεις τα αντίστοιχα ποσοστά. Οι υπογραμμισμένες τιμές p αντιστοιχούν σε υψηλότερη συχνότητα στην ομάδα ελέγχου. \*Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για την ισότητα των μέσων τιμών. \*\* Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το Pearson's Chi-square ή το Fisher's Exact Test (2 όψεων) μετά από διόρθωση. #Οι τρέχουσες θεραπείες δεν καταγράφηκαν σε 8 ασθενείς με Ψω και 9 ασθενείς με ΨΑ. ##Στην Ψω: 15 ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μεθοτρεξάτη, 3 με κυκλοσπορίνη, 1 ασθενής έλαβε θεραπεία με μεθυλπρεδνιζολόνη και 4 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με ακιρετίνη. Στην ΨΑ: 8 ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μεθοτρεξάτη (6 ασθενείς από του στόματος και 2 ασθενείς σε υποδόρια, 5 ασθενείς σε συνδυασμό με μεθυλπρεδνιζολόνη), 3 ασθενείς έλαβαν θεραπεία μόνο με μεθυλπρεδνιζολόνη, 3 ασθενείς έλαβαν θεραπεία με σαλοπυρίνη και 4 ασθενείς με λεφλουνομίδη. Συντομογραφίες: DAS28: Δείκτης σοβαρότητας νόσου 28 αρθρώσεων, Ηρ: ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, IL: ιντερλευκίνη; ns, μη στατιστικά σημαντικό, PASI: Δείκτης σοβαρότητας ψωρίασης, PDE4: αναστολέας φωσφοδιεστεράσης 4. sDMARDs: τυπικά αντιρευματικά φάρμακα που τροποποιούν τη νόσο. TNF: παράγοντας νέκρωσης όγκου.

### 6.2.2 Μέθοδοι

#### **Ανίχνευση IgG αντιγονοειδικών Hp αντισωμάτων με ανοσοαποτύπωση κατά Western**

Χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία ανοσοαποτύπωσης «Anti-Helicobacter pylori (IgG) EUROLINE-WB» της Euroimmun AG, η οποία χρησιμοποιεί ως αντιγονική πηγή πρωτεϊνικό εκχύλισμα του στελέχους ATCC 43504 του Hp (270, 271). Όλα τα αντι-Hp+ δείγματα ασθενών και μαρτύρων εξετάστηκαν για την ύπαρξη αντιδραστικών αντισωμάτων έναντι 13 πρωτεϊνών-αντιγόνων του Hp: p75, p67-FSH, p66-UreB, p57, p54, p50, p41, p33, p30-OMP, p29-UreA, p26, p19-OMP και p17. Το πειραματικό πρωτόκολλο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western παρουσιάζεται στην ενότητα 2.2.3.

#### **Ανίχνευση αντι-CagA και αντι-VacA αντισωμάτων με γραμμική ανοσοαποτύπωση**

Οι πρωτεΐνες CagA και VacA είναι οι κύριοι παράγοντες λοιμογονικότητας του Hp και ιδιαίτερα ανοσοεπικρατή αντιγόνα για τα αντι-Hp αντισώματα. Επειδή η έκφραση τους στο πρωτεϊνικό εκχύλισμα που χρησιμοποιείται στη δοκιμασία ανοσοαποτύπωσης κατά Western είναι ανεπαρκής (272-276), παρακλύοντας την αποτελεσματική ανίχνευση από αντισώματα, η ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι αυτών γίνεται με τη μέθοδο της γραμμικής ανοσοαποτύπωσης. Για το σκοπό αυτό, ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες CagA

και VacA μεταφέρθηκαν σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης, οι οποίες στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στην άκρη των strips της δοκιμασίας ανοσοαποτύπωσης κατά Western της Euroimmun. Το πειραματικό πρωτόκολλο της ανίχνευσης των αντι-CagA και αντι-VacA αντισωμάτων με τη μέθοδο της γραμμικής ανοσοαποτύπωσης είναι το ίδιο με το πειραματικό πρωτόκολλο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western και παρουσιάζεται στην Ενότητα 2.2.3.

### **6.3 Αποτελέσματα**

#### **Συνολικός επιπολασμός αντισωμάτων IgG αντι-Hp σε ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα και ψωρίαση**

Η θετικότητα έναντι του Hp βρέθηκε σε 34 ασθενείς (38,2%) με ΨΑ και 40 ασθενείς (35,1%) με ψωρίαση σε σύγκριση με 30 (50%) HCs. (ΨΑ vs ψωρίαση,  $p=ns$ , ΨΑ vs HCs  $p=ns$ , ψωρίαση vs HCs,  $p=0,061$ ).

#### **Αντιδραστικότητα αντισωμάτων έναντι ειδικών Hp αντιγόνων**

Οι αναλύσεις των αντισωμάτων κατά μεμονωμένων Hp αντιγόνων πραγματοποιήθηκαν μόνο σε ασθενείς και μάρτυρες με αντι-Hp (+). Αποτελέσματα σχετικά με τη συχνότητα και τα μεγέθη των αντισωμάτων στο p120-CagA, p95-VacA, p75, p67-FSH, p66-UreB, p54-flagellin, p50, p41, p33,

p30-OMP, p29, UreA, p26, p19-OMP και p17 σε όλους τους ασθενείς και τους μάρτυρες συνοψίζονται στον Πίνακα 16.

**Πίνακας 16:** Συχνότητες αντιδραστικότητας αντιγόνων έναντι του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (Hr) όπως ανιχνεύονται με ανοσοαποτύπωση κατά Western σε ορούς από 34 Hr (+) ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), 40 Hr (+) ασθενείς με ψωρίαση (Ψω) and 30 Hr (+) υγιείς μάρτυρες (HC).

Περιοχή αντίδρασης	ΨΑ (n=34)	Ψω (n=40)	HC (n=30)	p ΨΑ vs Ψω	p ΨΑ vs HC	p Ψω vs HC
p120 – CagA	25 (73,5%)	27 (6,5%)	25 (83,3%)	ns	ns	ns
p95 – VacA	3 (8,8%)	1 (2,5%)	2 (6,7%)	ns	ns	ns
p75	15 (44,1%)	6 (15%)	2 (6,7%)	<b>0,012</b>	<b>0,001</b>	ns
p67 – FSH	26 (76,5%)	20 (50%)	14 (46,7%)	<b>0,036</b>	<b>0,028</b>	ns
p66 – UreB	33 (97,1%)	38 (95%)	22 (73,3%)	ns	<b>0,010</b>	<b>0,015</b>
p57	33 (97,1%)	36 (90%)	27 (90%)	ns	ns	ns
p54 – flagellin	26 (76,5%)	28 (70%)	11 (36,7%)	ns	<b>0,003</b>	<b>0,011</b>
p50	21 (61,8%)	8 (20%)	16 (53,3%)	<b>0,001</b>	ns	<b>0,008</b>
p41	22 (64,7%)	14 (35%)	9 (30%)	<b>0,021</b>	<b>0,012</b>	ns
p33	5 (14,7%)	11 (27,5%)	10 (33,3%)	ns	ns	ns
p30 – OMP	16 (47,1%)	5 (12,5%)	5 (16,7%)	<b>0,002</b>	<b>0,020</b>	ns
p29 – UreA	33 (97,1%)	28 (70%)	15 (50%)	<b>0,006</b>	<b>&lt;0,001</b>	ns
p26	26 (76,5%)	19 (47,5%)	20 (66,7%)	<b>0,021</b>	ns	ns
p19 – OMP	12 (35,3%)	6 (15%)	8 (26,7%)	0.079	ns	ns
p17	6 (17,6%)	10 (25%)	8 (26,7%)	ns	ns	ns

Τα δεδομένα αντιπροσωπεύουν τον αριθμό των περιπτώσεων (% σε παρενθέσεις). \*\* Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το Pearson's Chi-square ή το Fisher's Exact Test (2 όψεων) μετά από διόρθωση. Οι υπογραμμισμένες τιμές p αντιστοιχούν σε υψηλότερη συχνότητα στην ομάδα ελέγχου. Οι τιμές p <0,05 εμφανίζονται με έντονους χαρακτήρες. Εμφανίζονται επίσης τιμές p με στατιστική τάση (<0,100). Συντομογραφίες: CagA, γονίδιο A που σχετίζεται με την κυτταροτοξίνη, FSH, πρωτεΐνη μαστιγίου περιβλήματος. OMP, πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης, ns, μη στατιστικά σημαντικό. UreA, ουρεάση A; UreB, ουρεάση B; VacA, vacuolating κυτοτοξίνη A.

## **Αντιδραστικότητα αντισωμάτων έναντι μεμονωμένων H<sub>p</sub> αντιγόνων σε ασθενείς H<sub>p</sub> (+) με ΨΑ και ψωρίαση**

Η συχνότητα αντιδραστικότητας κατά των 15 αντιγόνων σε H<sub>p</sub> (+) ασθενείς με ΨΑ, ψωρίαση και HCs φαίνονται στον Πίνακα 16. Τα πιο συχνά αντι-H<sub>p</sub> στην ΨΑ είναι τα αντι-p75, αντι-p67-FSH, αντι-p66-UreB, αντι-p54-flagellin, αντι-p41, αντι-p30-OMP και αντι-p29-UreA τα οποία ανιχνεύθηκαν σε υψηλότερη συχνότητα στους ασθενείς με ΨΑ σε σύγκριση με τους μάρτυρες (αντι-p75: 44,1% vs 6,7%, p=0,001, αντι-p67-FSH: 76,5% vs 46,7%, p=0,028, αντι-p66-UreB: 97,1% vs 73,3%, p=0,010, αντι-p54-flagellin: 76,5% vs 36,7%, p=0,003, αντι-p41: 64,7% vs 30%, p=0,012, αντι-p30-OMP: 47,1% vs 16,7%, p=0,020 αντι-p29-UreA: 94,4% vs 50%, p<0,001).

Στους ασθενείς με ΨΑ, η αντιδραστικότητα έναντι ειδικών H<sub>p</sub> αντιγόνων εμφανίζονταν σε υψηλότερη συχνότητα σε σύγκριση με τους ψωριασικούς ασθενείς (αντι-p75: 44,1% vs 15%, p=0,012, αντι-p67-FSH: 76,5% vs 50%, p=0,036, αντι-p50: 61,8% vs 20%, p<0,001, αντι-p41: 64,7% έναντι 35%, p=0,021, αντι-p30-OMP: 47,1% vs 12,5%, p=0,002, αντι-p29-UreA: 97,1% vs 70%, p=0,006 και αντι-p26: 76,5% vs 47,5%, p=0,021).

Στους ασθενείς με ψωρίαση τα αντι-p66-UreB και αντι-p54-flagellin αντισώματα ήταν πιο συχνά σε σύγκριση με τους μάρτυρες (αντι-p66: 95% στην ψωρίαση vs 73,3% στους HCs, p=0,015, αντι-p54: 70% στην ψωρίαση vs 36,7% στους HCs, p=0,011), ενώ τα αντι-p50 αντισώματα ανιχνεύονταν σε χαμηλότερη συχνότητα σε ασθενείς με ψωρίαση σε σύγκριση με HCs (20% στην ψωρίαση vs 53,3% σε HC, p=0,008).

Οι αντιδραστικότητα έναντι των υπολοίπων αντιγόνων του Ηρ ήταν συγκρίσιμες μεταξύ των ασθενών με ψωρίαση ή των ασθενών με ΨΑ και των μαρτύρων.

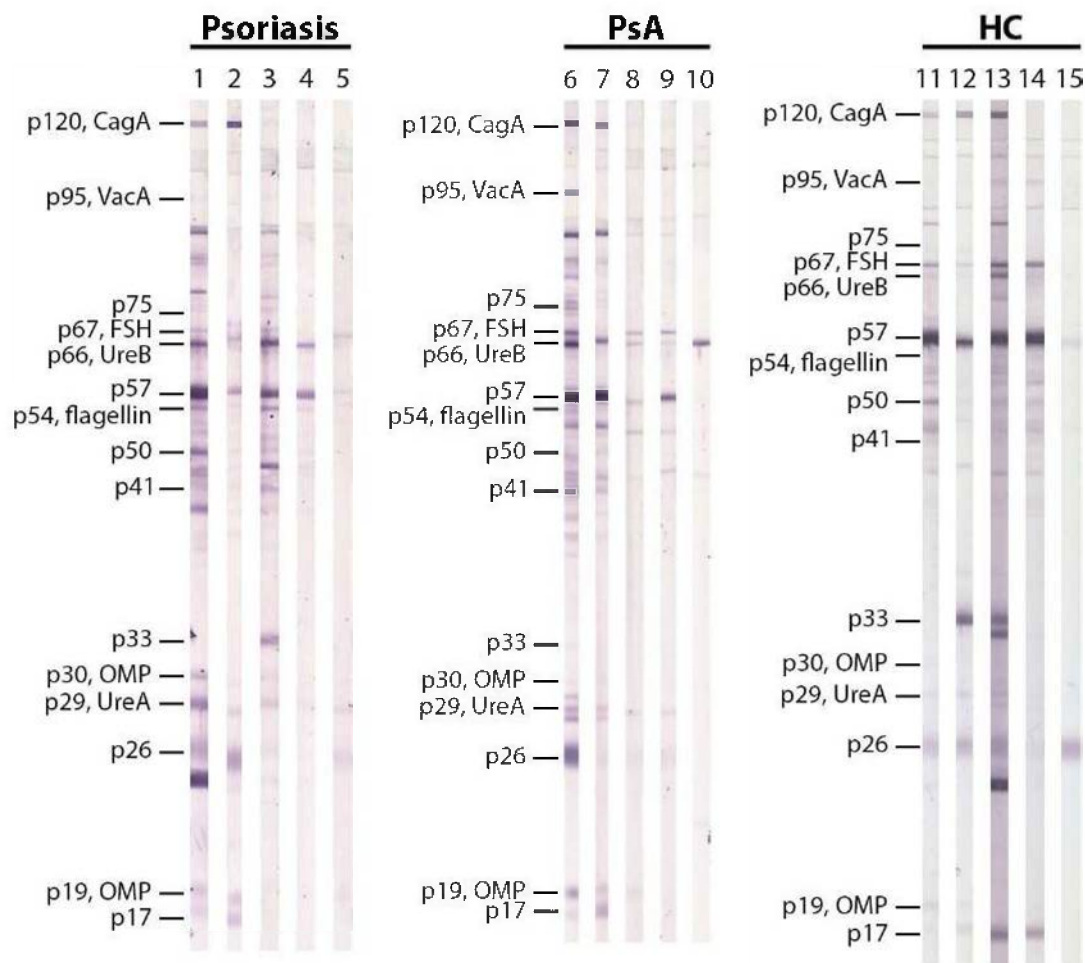
### **Επίπεδα των αντισωμάτων έναντι του Ηρ ΨΑ και την ψωρίαση**

Οι τίτλοι αντισωμάτων έναντι των ειδικών αντι-Ηρ αντισωμάτων με ανοσοαποτύπωση παρουσιάζονται στον Πίνακα 17 και οι αντιπροσωπευτικές ταινίες ανοσοαποτύπωσης απεικονίζονται στην εικόνα 2. Το Σχήμα 1 δείχνει τα επίπεδα αντισωμάτων έναντι μεμονωμένων Ηρ αντιγόνων σε ασθενείς και μάρτυρες.

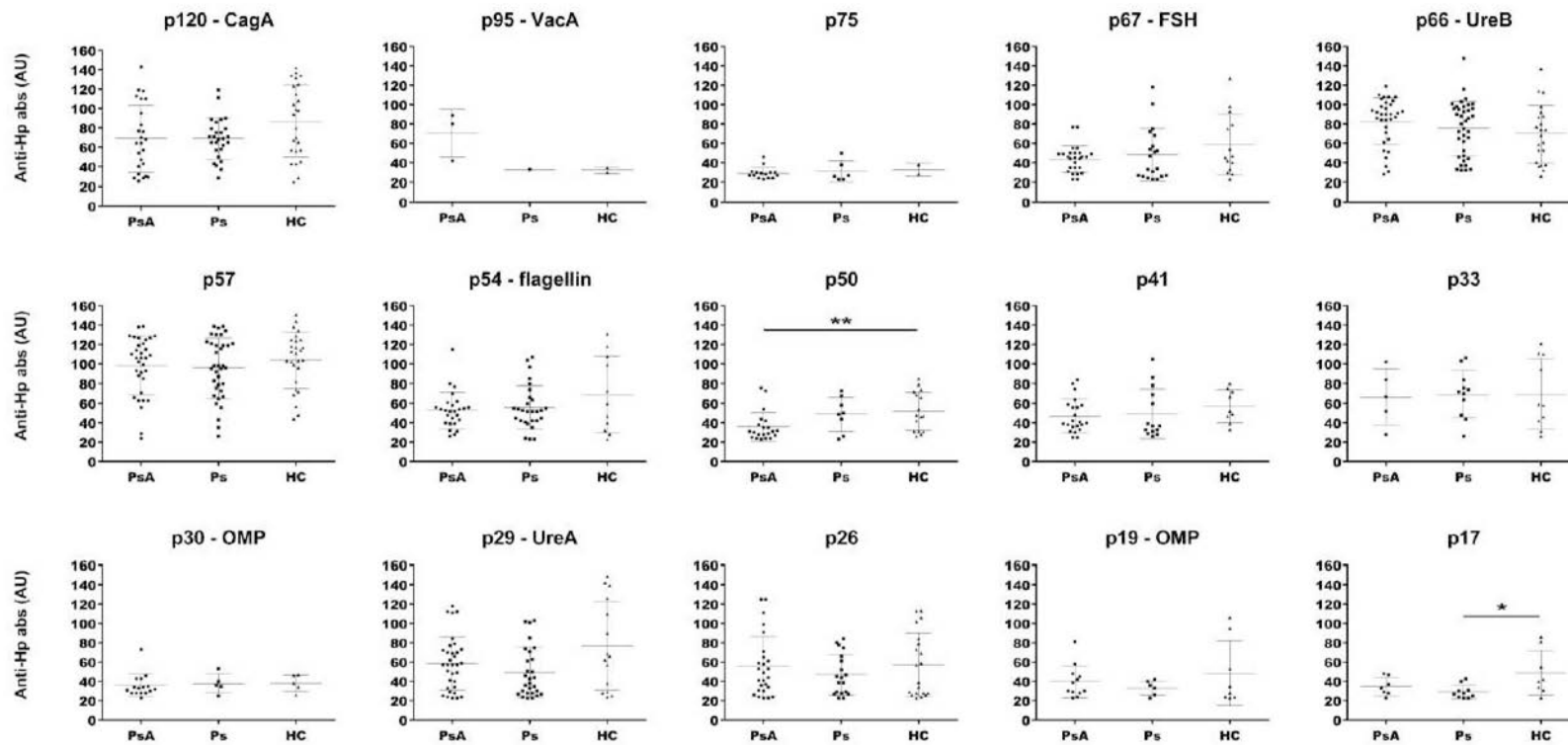
**Πίνακας 17:** Ο τίτλος των αποκρίσεων των αντισωμάτων έναντι των ειδικών αντιγόνων για το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, όπως μετράται με ανοσοαποτύπωση κατά Western σε ορούς θετικών περιοχών (ο απόλυτος αριθμός θετικών περιπτώσεων για μεμονωμένες ζώνες φαίνεται στον Πίνακα 2) σε ασθενείς με Ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), ασθενείς με ψωρίαση (Ψω) και υγιείς μάρτυρες (HCs).

Περιοχή αντίδρασης	ΨΑ	Ψω	HCs	$p$ ΨΑ vs Ψω	$p$ ΨΑ vs HCs	$p$ Ψω vs HCs
p120 – CagA	68,9 ± 34,7	68,8 ± 21,1	87,2 ± 37,4	ns	<u>0,080</u>	<u>0,095</u>
p95 – VacA	70,3 ± 24,9	33	32,5 ± 3,5	ns	ns	ns
p75	29,3 ± 6,1	31,1 ± 10,7	33 ± 7,1	ns	ns	ns
p67 – FSH	43,8 ± 13,6	48,4 ± 27,1	58,1 ± 31,3	ns	ns	ns
p66 – UreB	83 ± 24,3	75,6 ± 28,1	69,9 ± 29,8	ns	0,077	ns
p57	98,3 ± 29,8	96,1 ± 30,8	104,2 ± 28,6	ns	ns	ns
p54 – flagellin	52,8 ± 18,6	55,8 ± 22,4	69 ± 39	ns	ns	ns
p50	35,8 ± 15	48,9 ± 17,9	51,8 ± 19,9	ns	<b><u>0,009</u></b>	ns
p41	47 ± 17,2	49,3 ± 25,5	57,2 ± 17	ns	ns	ns
p33	66,6 ± 28,5	69,7 ± 24	69,8 ± 35,8	ns	ns	ns
p30 – OMP	35,6 ± 11,8	37,8 ± 10	38,2 ± 8,7	ns	ns	ns
p29 – UreA	58,6 ± 27,5	49,1 ± 25,7	76,9 ± 45,9	ns	ns	<u>0,072</u>
p26	55,1 ± 31,2	47,1 ± 20,9	57 ± 33	ns	ns	ns
p19 – OMP	39,7 ± 16,8	33,3 ± 7,6	48,5 ± 33,7	ns	ns	ns
p17	32,8 ± 8,4	29,4 ± 7	49 ± 23,2	ns	ns	<b><u>0,034</u></b>

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση των αυθαίρετων μονάδων (AU). Οι τιμές  $p$  υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το  $t$  2-tailed για την ισότητα των μέσων τιμών ή χρησιμοποιώντας το Mann-Whitney τεστ. Οι υπογραμμισμένες τιμές  $p$  αντιστοιχούν σε υψηλότερους τίτλους στην ομάδα ελέγχου. Οι τιμές  $p < 0,05$  εμφανίζονται με έντονους χαρακτήρες. Εμφανίζονται επίσης τιμές  $p$  με στατιστική τάση ( $< 0,100$ ). Συντομογραφίες: CagA: γονίδιο A που σχετίζεται με την κυτταροτοξίνη, FSH: πρωτεΐνη περιβλήματος μαστιγίου, OMP: πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης, ns: μη στατιστικά σημαντικό, UreA: ουρεάση A, UreB: ουρεάση B, VacA, vacuolating κυτοτοξίνη A.



**Εικόνα 1:** Αντιδραστικότητα αντισωμάτων (Ab) έναντι των αντιγόνων του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού με ανοσοαποτύπωση κατά Western σε αντιπροσωπευτικούς ασθενείς με ψωρίαση (1-5), ψωριασική αρθρίτιδα (PsA, 6-10) και υγιείς μάρτυρες (HC, 11-15). Συντομογραφίες: CagA: πρωτεΐνη από το γονίδιο A που σχετίζεται με την κυτταροτοξίνη, FSH: πρωτεΐνη περιβλήματος μαστιγίου, OMP: πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης, UreA: ουρεάση A, UreB: ουρεάση B, VacA: vacuolating κυτοτοξίνη A.



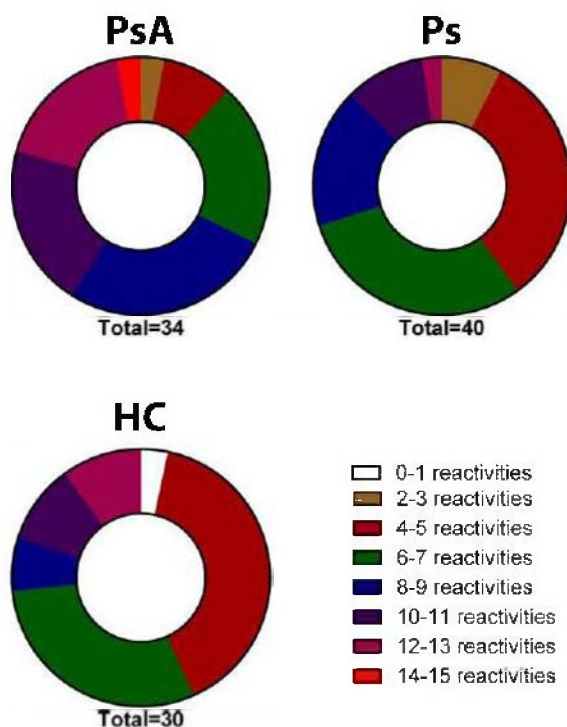
**Σχήμα 1:** Διαγράμματα διασποράς που απεικονίζουν τα επίπεδα αντισωμάτων (Ab) έναντι μεμονωμένων αντιγόνων του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (HP) με ανοσοαποτύπωση κατά Western σε ασθενείς με ψωρίαση, ψωριασική αρθρίτιδα (PsA) και υγιείς μάρτυρες (HC). \* $p < 0,05$ . Συντομογραφίες: CagA: πρωτεΐνη από γονίδιο A που σχετίζεται με την κυτταροτοξίνη, UreA: ουρεάση A, UreB: ουρεάση B: VacA, vacuolating κυτοτοξίνη A.

Σε ασθενείς με ΨΑ, τα επίπεδα αντι-p50 αντισωμάτων ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p=0,009$ ) και τα επίπεδα αντι-p120-CagA αντισωμάτων έτειναν να είναι χαμηλότερα σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p=0,08$ ) ενώ τα επίπεδα αντι-p66-UreB αντισωμάτων έτειναν να είναι υψηλότερα σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p=0,077$ ).

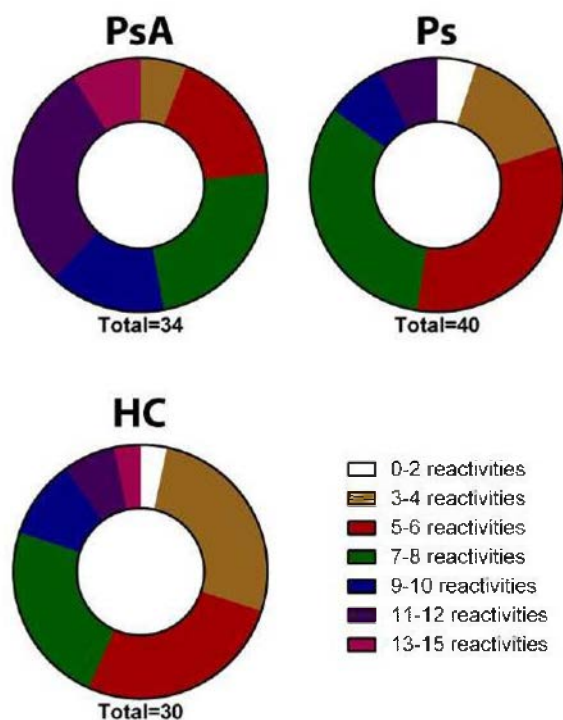
Στους ασθενείς με ψωρίαση, τα επίπεδα αντι-p17 αντισωμάτων ήταν χαμηλότερα σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p = 0,034$ ), ενώ τα αντισώματα αντι-p29-UreA και αντι-p120-CagA έτειναν να είναι χαμηλότερα ( $p=0,072$  και  $p= 0,095$  αντίστοιχα).

### **Ταυτόχρονες αντιγονοειδικές αποκρίσεις αντι-Hp αντισωμάτων**

Ο μέσος αριθμός αντιδραστικών Hp ζωνών σε ασθενείς με Hp (+) ήταν υψηλότερος σε ασθενείς με ΨΑ σε σύγκριση με την ψωρίαση ή τους μάρτυρες ( $8,9 \pm 2,8$  vs  $6,4 \pm 2,4$  και  $8,9 \pm 2,8$  vs  $6,5 \pm 2,9$ , αντίστοιχα ,  $p<0,001$  και για τα δύο). Επίσης, ο επιπολασμός ταυτόχρονων αντιδράσεων σε πολλαπλά Hp αντιγόνα ήταν διαφορετικός μεταξύ των ΨΑ, ψωρίασης και μαρτύρων (Εικόνα 3α και 3β και πίνακες 18α και 18β).



**Εικόνα 3α:** Διαγράμματα ντόνατ που υποδεικνύουν την αναλογία ασθενών με ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Hr) (+) με ψωρίαση, ασθενείς με Hr (+) με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ) και Hr (+) υγιείς μάρτυρες (HC) που αντιδρούν με πολλαπλά αντιγόνα Hr (αντιδραστικότητα 0-1, 2-3, 4-5, 6-7, 8-9, 10-11, 12-13 αντιδραστικότητες, 8 ομάδες συνολικά).



**Εικόνα 3β:** Διαγράμματα ντόνατ που υποδεικνύουν την αναλογία των ασθενών με ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Hr) (+) με ψωρίαση, ασθενείς με Hr (+) με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ) και Hr (+) υγιείς μάρτυρες (HC) που αντιδρούν με πολλαπλά αντιγόνα Hr (0-2 αντιδραστικότητες, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10, 11-12, 13 αντιδραστικότητες, 7 ομάδες συνολικά).

**Πίνακας 18α:** Μέσος αριθμός ζωνών που ανιχνεύθηκαν σε όλους τους ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), ψωρίαση (Ψω) και υγιείς μάρτυρες (HCs).

	ΨΑ (n=89)	Ψω (n=114)	HC (n=60)	$p_{\Psi A \text{ vs } \Psi \omega}$	$p_{\Psi A \text{ vs } HC}$	$p_{\Psi \omega \text{ vs } HC}$
Αριθμός ζωνών	$5.8 \pm 4$	$4.2 \pm 2.6$	$4.6 \pm 3.1$	<b>0.017</b>	0.096	ns

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση. Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για την ισότητα των μέσων. Οι τιμές  $p < 0,05$  εμφανίζονται με έντονους χαρακτήρες. Εμφανίζονται επίσης τιμές p με στατιστική τάση ( $< 0,100$ ). Συνοτομογραφίες: ns, μη στατιστικά σημαντικό.

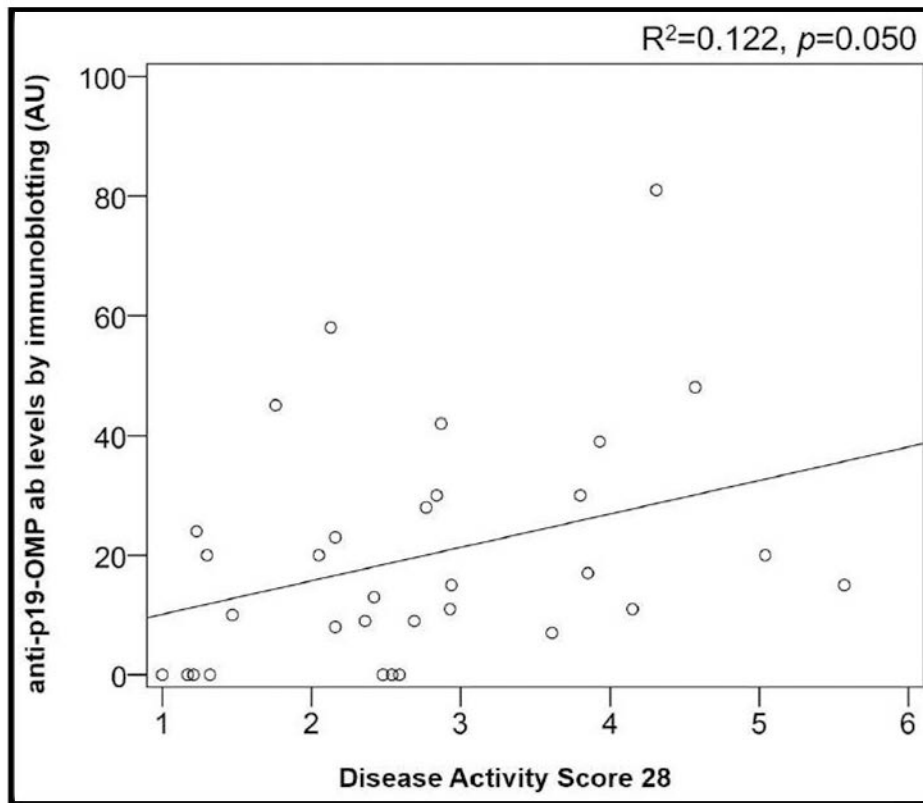
**Πίνακας 18β:** Μέσος αριθμός ζωνών που ανιχνεύθηκαν στους θετικούς για Ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (Hr) (+) ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), ψωρίαση (Ψω) και υγιείς μάρτυρες (HCs).

	ΨΑ (n=34)	Ψω (n=40)	HC (n=30)	$p_{\Psi A \text{ vs } \Psi \omega}$	$p_{\Psi A \text{ vs } HC}$	$p_{\Psi \omega \text{ vs } HC}$
Αριθμός ζωνών	8.9 ± 2.8	6.4 ± 2.4	6.5 ± 2.9	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>	Ns

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας 2-tailed t-test για την ισότητα των μέσων. Οι τιμές p <0,05 εμφανίζονται με έντονους χαρακτήρες. Συντομογραφίες: ns, μη στατιστικά σημαντικό.

### Κλινικές συσχετίσεις αντιγονοειδικών αντι-Hr αντισωμάτων

Σε ασθενείς με ΨΑ, το DAS28 συσχετίστηκε με τα επίπεδα των αντι-p19 αντισωμάτων, ( $r=0,349$ ,  $p=0,050$ ) (Σχήμα 2). Καμία άλλη σημαντική κλινική συσχέτιση σε ασθενείς με ΨΑ δεν σημειώθηκε. Σε ασθενείς με ψωρίαση, δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ή της θετικότητας των αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων του Hr σε σύγκριση με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά (ηλικία, φύλο, διάρκεια νόσου, βαθμολογία PASI ή τύπος θεραπείας). Τέλος, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με την κατάσταση θεραπείας σε ασθενείς με ΨΑ ή ψωρίαση.



**Σχήμα 2:** Διάγραμμα διασποράς που απεικονίζει τη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων αντισώματος αντι-p19-OMP (ab) με ανοσοσύπτωση σε αυθαίρετες μονάδες (AU) και το DAS28 (Δείκτης σοβαρότητας νόσου σε 28 αρθρώσεις) σε ασθενείς με ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (H<sub>p</sub>) (+) με ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ).

## 6.4 Συζήτηση

Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αναλύει ταυτόχρονα την αντιδραστικότητα σε 15 κυρίαρχα και δευτερογενώς επικρατούντα H<sub>ρ</sub> αντιγόνα σε ασθενείς με ΨΑ και ψωρίαση. Οι περισσότερες μελέτες μέχρι στιγμής ανέφεραν διαφορές σε περιορισμένα αντιγονο-ειδικά αντισώματα έναντι του H<sub>ρ</sub>, χωρίς να αντιστοιχίζουν τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών και των μαρτύρων παράγοντας ετερόκλητα δεδομένα. Η προσαρμογή σχετικά με την οροθετικότητα H<sub>ρ</sub> και την ηλικία αρκεί για την εξάλειψη παραγόντων, που μπορούν να επηρεάσουν τα δεδομένα καθώς τα αντισώματα έναντι του H<sub>ρ</sub> είναι συχνότερα με την πάροδο του χρόνου και το πιο εύκολο είναι να παραχθούν ασυνεπή αποτελέσματα σε μη στοιχισμένους δημογραφικά ασθενείς και μάρτυρες.

Προς μεγάλη μας έκπληξη, το κύριο εύρημα της μελέτης μας είναι ότι τα ποσοστά αποκρίσεων στα περισσότερα H<sub>ρ</sub> αντιγόνα στην ΨΑ και στην ψωρίαση δεν διέφεραν σε σύγκριση με τους υγιείς. Σε ασθενείς με ΨΑ, το DAS28 συσχετίστηκε θετικά με τα επίπεδα των αντι-p19 H<sub>ρ</sub> αντισωμάτων. Δεν σημειώθηκε άλλη σημαντική κλινική συσχέτιση. Αξιοσημείωτο είναι ότι βρέθηκε μειωμένος επιπολασμός αντισωμάτων έναντι διαφόρων H<sub>ρ</sub> αντιγόνων στην ψωρίαση υποδηλώνοντας ότι το H<sub>ρ</sub> ασκεί «προστατευτική» δράση και δεν είναι παράγοντας κινδύνου για αυτήν την ασθένεια. Όμως πρέπει να τονισθεί ότι ο ρόλο του H<sub>ρ</sub> στα διαφορα φλεγμονώδη νοσήματα δεν είναι επακριβώς γνωστός. Η μόλυνση με H<sub>ρ</sub> μειώνει τα ρυθμιστικά T κύτταρα και αποτρέπει την ανάπτυξη αλλεργικού άσθματος (277). Στη φλεγμονώδη

νόσο του εντέρου, φαίνεται ότι το H<sub>9</sub> είναι ικανό να επάγει την παραγωγή IL-10 σε μεσεντερικούς λεμφαδένες, καταστέλλοντας τις αποκρίσεις των Τ βοηθητικών (Th)17 κυττάρων και μειώνοντας την επαγόμενη από τη *Salmonella typhimurium* κολίτιδα σε ποντίκια (278). Παρομοίως, η μόλυνση από H<sub>9</sub> αναστέλλει τις αποκρίσεις Th1 και Th17 και προστατεύει από την πειραματική αυτοάνοση εγκεφαλομυελίτιδα, το πειραματικό μοντέλο της σκλήρυνσης κατά πλάκας (279). Επιπλέον, η μόλυνση από H<sub>9</sub> είναι λιγότερο συχνή σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας (279). Από την άλλη πλευρά, η ταυτόχρονη μόλυνση με H<sub>9</sub> μπορεί να επιδεινώσει τη φλεγμονώδη νόσο. Για παράδειγμα, η ενεργή λοίμωξη από H<sub>9</sub>, όπως ανιχνεύθηκε με το τεστ αναπνοής ουρεάσης, συσχετίστηκε με σοβαρότερη ψωρίαση, ενώ η εκρίζωση του H<sub>9</sub> βελτίωσε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας στην ψωρίαση και μείωσε τη σοβαρότητα της νόσου (280-282).

Λίγες μελέτες ανέλυσαν τον επιπολασμό των IgG αντι-H<sub>9</sub> αντισωμάτων στην ψωρίαση και βρήκαν αυξημένη θετικότητα (264, 268, 283). Αντίθετα, σε άλλη μελέτη δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ των ασθενών με ψωρίαση και των υγιών μαρτύρων, καθώς και έλλειψη συσχέτισης με τη σοβαρότητα της νόσου (269). Στη μελέτη μας, το αντι-UreA και το αντι-flagellin βρέθηκαν να είναι πιο συχνά στην ΨΑ σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Ομοίως, τα αντισώματα αντι-UreB και αντι-p54-flagellin ήταν πιο συχνά στους ασθενείς με ψωρίαση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ τα αντισώματα αντι-p50 ήταν λιγότερο συχνά. Αυτό εγείρει την προσδοκία ότι στην ΨΑ και στην ψωρίαση, η αντιδραστικότητα έναντι αυτών των αντιγόνων μπορεί να παίζει παθοφυσιολογικό ρόλο. Η UreA και η UreB είναι υπομονάδες της αμιδοϋδρολάσης, ενός βασικού λοιμογόνου παράγοντα που διασπά την ουρία

σε αμμωνία και ανθρακικό οξύ (284). Επίσης, το DAS28 συσχετίστηκε θετικά με τα επίπεδα αντι-p19 αντισωμάτων, αλλά η σημασία αυτού του ευρήματος παραμένει ασαφής. Πρέπει να δίνεται προσοχή στην απόλυτη ερμηνεία τέτοιων δεδομένων και ειδικά στις θετικές συσχετίσεις γιατί δεν θα πρέπει να αγνοηθούν και οι αρνητικές συσχετίσεις της μελέτης μας. Η αντιδραστικότητα των αντισωμάτων για άλλα αντιγόνα όπως αυτά έναντι του p50 ήταν παρούσα σε χαμηλότερη συχνότητα σε ασθενείς με ψωρίαση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες και αρκετές αντιδραστικότητες έναντι πολλών Hρ αντιγόνων διαπιστώθηκαν σε χαμηλότερη συχνότητα στην ψωρίαση σε σύγκριση με την ΨΑ που περιπλέκει περαιτέρω τα πράγματα.

Συμπερασματικά, η έλλειψη συγκεκριμένης αυξημένης επικράτησης/μεγέθους ανοσοαποκρίσεων έναντι των Hρ αντιγόνων στην ψωριασική αρθρίτιδα και την ψωρίαση υποδηλώνει ότι το Hρ είναι απίθανο να συμβάλει στην παθογένεση της ψωριασικής νόσου.

## Βιβλιογραφία

1. Liang Y, Sarkar MK, Tsoi LC, Gudjonsson JE. Psoriasis: a mixed autoimmune and autoinflammatory disease. *Current opinion in immunology*. 2017;49:1-8.
2. Christophers E. Psoriasis--epidemiology and clinical spectrum. *Clinical and experimental dermatology*. 2001;26(4):314-20.
3. Parisi R, Symmons DP, Griffiths CE, Ashcroft DM. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. *The Journal of investigative dermatology*. 2013;133(2):377-85.
4. Gibbs S. Skin disease and socioeconomic conditions in rural Africa: Tanzania. *International journal of dermatology*. 1996;35(9):633-9.
5. Rachakonda TD, Schupp CW, Armstrong AW. Psoriasis prevalence among adults in the United States. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014;70(3):512-6.
6. Danielsen K, Olsen AO, Wilsgaard T, Furberg AS. Is the prevalence of psoriasis increasing? A 30-year follow-up of a population-based cohort. *The British journal of dermatology*. 2013;168(6):1303-10.
7. Rendon A, Schäkel K. Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(6).
8. Ortonne J, Chimenti S, Luger T, Puig L, Reid F, Trüeb RM. Scalp psoriasis: European consensus on grading and treatment algorithm. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2009;23(12):1435-44.
9. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009;361(5):496-509.
10. Ko HC, Jwa SW, Song M, Kim MB, Kwon KS. Clinical course of guttate psoriasis: long-term follow-up study. *The Journal of dermatology*. 2010;37(10):894-9.
11. Martin BA, Chalmers RJ, Telfer NR. How great is the risk of further psoriasis following a single episode of acute guttate psoriasis? *Archives of dermatology*. 1996;132(6):717-8.
12. Navarini AA, Burden AD, Capon F, Mrowietz U, Puig L. European consensus statement on phenotypes of pustular psoriasis. 2017;31(11):1792-9.
13. Johnston A, Xing X, Wolterink L, Barnes DH, Yin Z, Reingold L, et al. IL-1 and IL-36 are dominant cytokines in generalized pustular psoriasis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2017;140(1):109-20.
14. Jordan CT, Cao L, Roberson ED, Duan S, Helms CA, Nair RP, et al. Rare and common variants in CARD14, encoding an epidermal regulator of NF-kappaB, in psoriasis. *American journal of human genetics*. 2012;90(5):796-808.
15. Di Meglio P, Villanova F, Nestle FO. Psoriasis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(8).
16. Harden JL, Krueger JG, Bowcock AM. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2015;64:66-73.
17. Morizane S, Gallo RL. Antimicrobial peptides in the pathogenesis of psoriasis. *The Journal of dermatology*. 2012;39(3):225-30.
18. Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, et al. Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *The Journal of experimental medicine*. 2005;202(1):135-43.
19. Gregorio J, Meller S, Conrad C, Di Nardo A, Homey B, Lauerma A, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *The Journal of experimental medicine*. 2010;207(13):2921-30.

20. Santini SM, Lapenta C, Donati S, Spadaro F, Belardelli F, Ferrantini M. Interferon- $\alpha$ -conditioned human monocytes combine a Th1-orienting attitude with the induction of autologous Th17 responses: role of IL-23 and IL-12. *PloS one*. 2011;6(2):e17364.
21. Hänsel A, Günther C, Ingwersen J, Starke J, Schmitz M, Bachmann M, et al. Human slan (6-sulfo LacNAc) dendritic cells are inflammatory dermal dendritic cells in psoriasis and drive strong TH17/TH1 T-cell responses. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2011;127(3):787-94.e1-9.
22. Nestle FO, Turka LA, Nickoloff BJ. Characterization of dermal dendritic cells in psoriasis. Autostimulation of T lymphocytes and induction of Th1 type cytokines. *The Journal of clinical investigation*. 1994;94(1):202-9.
23. van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2009;182(9):5836-45.
24. Matsuzaki G, Umemura M. Interleukin-17 family cytokines in protective immunity against infections: role of hematopoietic cell-derived and non-hematopoietic cell-derived interleukin-17s. *Microbiology and immunology*. 2018;62(1):1-13.
25. Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nature reviews Immunology*. 2009;9(8):556-67.
26. Lee JS, Tato CM, Joyce-Shaikh B, Gulen MF, Cayatte C, Chen Y, et al. Interleukin-23-Independent IL-17 Production Regulates Intestinal Epithelial Permeability. *Immunity*. 2015;43(4):727-38.
27. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Love TJ, Valdimarsson H. Peripheral blood T cell responses to keratin peptides that share sequences with streptococcal M proteins are largely restricted to skin-homing CD8(+) T cells. *Clinical and experimental immunology*. 2004;138(1):83-93.
28. Diluvio L, Vollmer S, Besgen P, Ellwart JW, Chimenti S, Prinz JC. Identical TCR beta-chain rearrangements in streptococcal angina and skin lesions of patients with psoriasis vulgaris. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2006;176(11):7104-11.
29. Bissonnette R, Fuentes-Duculan J, Mashiko S, Li X, Bonifacio KM, Cueto I, et al. Palmoplantar pustular psoriasis (PPPP) is characterized by activation of the IL-17A pathway. *Journal of dermatological science*. 2017;85(1):20-6.
30. Wilsmann-Theis D, Schnell LM, Ralsler-Isselstein V, Bieber T, Schön MP, Hüffmeier U, et al. Successful treatment with interleukin-17A antagonists of generalized pustular psoriasis in patients without IL36RN mutations. *The Journal of dermatology*. 2018;45(7):850-4.
31. Sakkas LI, Bogdanos DP. Are psoriasis and psoriatic arthritis the same disease? The IL-23/IL-17 axis data. *Autoimmun Rev*. 2017;16(1):10-5.
32. Mensah KA, Schwarz EM, Ritchlin CT. Altered bone remodeling in psoriatic arthritis. *Current rheumatology reports*. 2008;10(4):311-7.
33. Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica*. 1974;148(1):1-18.
34. Feletar M, Brockbank JE, Schentag CT, Lapp V, Gladman DD. Treatment of refractory psoriatic arthritis with infliximab: a 12 month observational study of 16 patients. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(2):156-61.
35. Hayter SM, Cook MC. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2012;11(10):754-65.
36. Onoufriadis A, Simpson MA, Pink AE, Di Meglio P, Smith CH, Pullabhatla V, et al. Mutations in IL36RN/IL1F5 are associated with the severe episodic inflammatory skin disease known as generalized pustular psoriasis. *American journal of human genetics*. 2011;89(3):432-7.

37. Marrakchi S, Guigue P, Renshaw BR, Puel A, Pei XY, Fraitag S, et al. Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis. *The New England journal of medicine*. 2011;365(7):620-8.
38. Setta-Kaffetzi N, Navarini AA, Patel VM, Pullabhatla V, Pink AE, Choon SE, et al. Rare pathogenic variants in IL36RN underlie a spectrum of psoriasis-associated pustular phenotypes. *The Journal of investigative dermatology*. 2013;133(5):1366-9.
39. Setta-Kaffetzi N, Simpson MA, Navarini AA, Patel VM, Lu HC, Allen MH, et al. AP1S3 mutations are associated with pustular psoriasis and impaired Toll-like receptor 3 trafficking. *American journal of human genetics*. 2014;94(5):790-7.
40. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, Jones AB, Camp RD, Frodsham A, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Human molecular genetics*. 1997;6(5):813-20.
41. Nair RP, Stuart PE, Nistor I, Hiremagalore R, Chia NVC, Jenisch S, et al. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *American journal of human genetics*. 2006;78(5):827-51.
42. Mallon E, Bunce M, Savoie H, Rowe A, Newson R, Gotch F, et al. HLA-C and guttate psoriasis. *The British journal of dermatology*. 2000;143(6):1177-82.
43. Berki DM, Liu L, Choon SE, David Burden A, Griffiths CEM, Navarini AA, et al. Activating CARD14 Mutations Are Associated with Generalized Pustular Psoriasis but Rarely Account for Familial Recurrence in Psoriasis Vulgaris. *The Journal of investigative dermatology*. 2015;135(12):2964-70.
44. Hwu WL, Yang CF, Fann CS, Chen CL, Tsai TF, Chien YH, et al. Mapping of psoriasis to 17q terminus. *Journal of medical genetics*. 2005;42(2):152-8.
45. Jordan CT, Cao L, Roberson ED, Pierson KC, Yang CF, Joyce CE, et al. PSORS2 is due to mutations in CARD14. *American journal of human genetics*. 2012;90(5):784-95.
46. Elder JT. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. *Genes and immunity*. 2009;10(3):201-9.
47. Tsoi LC, Spain SL, Knight J, Ellinghaus E, Stuart PE, Capon F, et al. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nature genetics*. 2012;44(12):1341-8.
48. Yin X, Low HQ, Wang L, Li Y, Ellinghaus E. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel associations and ethnic heterogeneity of psoriasis susceptibility. 2015;6:6916.
49. Tsoi LC, Spain SL, Ellinghaus E. Enhanced meta-analysis and replication studies identify five new psoriasis susceptibility loci. 2015;6:7001.
50. Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, et al. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2002;168(11):5699-708.
51. Kopp T, Riedl E, Bangert C, Bowman EP, Greisenegger E, Horowitz A, et al. Clinical improvement in psoriasis with specific targeting of interleukin-23. *Nature*. 2015;521(7551):222-6.
52. Zhang F, Meng G, Strober W. Interactions among the transcription factors Runx1, RORgammat and Foxp3 regulate the differentiation of interleukin 17-producing T cells. *Nature immunology*. 2008;9(11):1297-306.
53. Craiglow BG, Boyden LM, Hu R, Virtanen M, Su J, Rodriguez G, et al. CARD14-associated papulosquamous eruption: A spectrum including features of psoriasis and pityriasis rubra pilaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2018;79(3):487-94.
54. Lizzul PF, Aphale A, Malaviya R, Sun Y, Masud S, Dombrovskiy V, et al. Differential expression of phosphorylated NF-kappaB/RelA in normal and psoriatic epidermis and downregulation of NF-kappaB in response to treatment with etanercept. *The Journal of investigative dermatology*. 2005;124(6):1275-83.

55. Hüffmeier U, Uebe S, Ekici AB, Bowes J, Giardina E, Korendowych E, et al. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. *Nature genetics*. 2010;42(11):996-9.
56. Sugiura K. The genetic background of generalized pustular psoriasis: IL36RN mutations and CARD14 gain-of-function variants. *Journal of dermatological science*. 2014;74(3):187-92.
57. Grijibovski AM, Olsen AO, Magnus P, Harris JR. Psoriasis in Norwegian twins: contribution of genetic and environmental effects. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2007;21(10):1337-43.
58. Lande R, Botti E, Jandus C, Dojcinovic D, Fanelli G, Conrad C, et al. The antimicrobial peptide LL37 is a T-cell autoantigen in psoriasis. *Nature communications*. 2014;5:5621.
59. Arakawa A, Siewert K, Stöhr J, Besgen P, Kim SM, Rühl G, et al. Melanocyte antigen triggers autoimmunity in human psoriasis. *The Journal of experimental medicine*. 2015;212(13):2203-12.
60. Fuentes-Duculan J, Bonifacio KM, Hawkes JE, Kunjraiva N, Cueto I, Li X, et al. Autoantigens ADAMTSL5 and LL37 are significantly upregulated in active Psoriasis and localized with keratinocytes, dendritic cells and other leukocytes. *Experimental dermatology*. 2017;26(11):1075-82.
61. Cheung KL, Jarrett R. Psoriatic T cells recognize neolipid antigens generated by mast cell phospholipase delivered by exosomes and presented by CD1a. 2016;213(11):2399-412.
62. Yunusbaeva M, Valiev R, Bilalov F, Sultanova Z, Sharipova L, Yunusbayev B. Psoriasis patients demonstrate HLA-Cw\*06:02 allele dosage-dependent T cell proliferation when treated with hair follicle-derived keratin 17 protein. 2018;8(1):6098.
63. Armstrong EJ, Harskamp CT, Armstrong AW. Psoriasis and major adverse cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Journal of the American Heart Association*. 2013;2(2):e000062.
64. Gaeta M, Castelvechio S, Ricci C, Pigatto P, Pellissero G, Cappato R. Role of psoriasis as independent predictor of cardiovascular disease: a meta-regression analysis. *International journal of cardiology*. 2013;168(3):2282-8.
65. Gu WJ, Weng CL, Zhao YT, Liu QH, Yin RX. Psoriasis and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of cohort studies. *International journal of cardiology*. 2013;168(5):4992-6.
66. Horreau C, Pouplard C, Brenaut E, Barnette T, Misery L, Cribier B, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic literature review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2013;27 Suppl 3:12-29.
67. Miller IM, Ellervik C, Yazdanyar S, Jemec GB. Meta-analysis of psoriasis, cardiovascular disease, and associated risk factors. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2013;69(6):1014-24.
68. Pietrzak A, Bartosińska J, Chodorowska G, Szepietowski JC, Paluszkiwicz P, Schwartz RA. Cardiovascular aspects of psoriasis: an updated review. *International journal of dermatology*. 2013;52(2):153-62.
69. Samarasekera EJ, Neilson JM, Warren RB, Parnham J, Smith CH. Incidence of cardiovascular disease in individuals with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of investigative dermatology*. 2013;133(10):2340-6.
70. Xu T, Zhang YH. Association of psoriasis with stroke and myocardial infarction: meta-analysis of cohort studies. *The British journal of dermatology*. 2012;167(6):1345-50.
71. Ogdie A, Langan S, Love T, Haynes K, Shin D, Seminara N, et al. Prevalence and treatment patterns of psoriatic arthritis in the UK. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2013;52(3):568-75.

72. Li R, Sun J, Ren LM, Wang HY, Liu WH, Zhang XW, et al. Epidemiology of eight common rheumatic diseases in China: a large-scale cross-sectional survey in Beijing. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2012;51(4):721-9.
73. Carneiro JN, Paula AP, Martins GA. Psoriatic arthritis in patients with psoriasis: evaluation of clinical and epidemiological features in 133 patients followed at the University Hospital of Brasília. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2012;87(4):539-44.
74. Haroon M, Kirby B, FitzGerald O. High prevalence of psoriatic arthritis in patients with severe psoriasis with suboptimal performance of screening questionnaires. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72(5):736-40.
75. Stoll ML, Zurakowski D, Nigrovic LE, Nichols DP, Sundel RP, Nigrovic PA. Patients with juvenile psoriatic arthritis comprise two distinct populations. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(11):3564-72.
76. Langenbruch A, Radtke MA, Krensell M, Jacobi A, Reich K, Augustin M. Nail involvement as a predictor of concomitant psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *The British journal of dermatology*. 2014;171(5):1123-8.
77. Maejima H, Taniguchi T, Watarai A, Katsuoka K. Evaluation of nail disease in psoriatic arthritis by using a modified nail psoriasis severity score index. *International journal of dermatology*. 2010;49(8):901-6.
78. Fleming P, Bai JW, Pratt M, Sibbald C, Lynde C, Gulliver WP. The prevalence of anxiety in patients with psoriasis: a systematic review of observational studies and clinical trials. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2017;31(5):798-807.
79. Sampogna F, Tabolli S, Abeni D. Living with psoriasis: prevalence of shame, anger, worry, and problems in daily activities and social life. *Acta dermato-venereologica*. 2012;92(3):299-303.
80. Mrowietz U, Kragballe K, Reich K, Spuls P, Griffiths CE, Nast A, et al. Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. *Archives of dermatological research*. 2011;303(1):1-10.
81. Hone SW, Donnelly MJ, Powell F, Blayney AW. Clearance of recalcitrant psoriasis after tonsillectomy. *Clinical otolaryngology and allied sciences*. 1996;21(6):546-7.
82. van den Reek JM, Zweegers J, Kievit W, Otero ME, van Lümig PP, Driessen RJ, et al. 'Happy' drug survival of adalimumab, etanercept and ustekinumab in psoriasis in daily practice care: results from the BioCAPTURE network. *The British journal of dermatology*. 2014;171(5):1189-96.
83. Warren RB, Smith CH, Yiu ZZN, Ashcroft DM, Barker J, Burden AD, et al. Differential Drug Survival of Biologic Therapies for the Treatment of Psoriasis: A Prospective Observational Cohort Study from the British Association of Dermatologists Biologic Interventions Register (BADBIR). *The Journal of investigative dermatology*. 2015;135(11):2632-40.
84. Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CE, Papp K, et al. Secukinumab in plaque psoriasis--results of two phase 3 trials. *The New England journal of medicine*. 2014;371(4):326-38.
85. Papp KA, Reich K, Paul C, Blauvelt A, Baran W, Bolduc C, et al. A prospective phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study of brodalumab in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis. *The British journal of dermatology*. 2016;175(2):273-86.
86. Cantini F, Nannini C, Niccoli L, Petrone L. Risk of Tuberculosis Reactivation in Patients with Rheumatoid Arthritis, Ankylosing Spondylitis, and Psoriatic Arthritis Receiving Non-Anti-TNF-Targeted Biologics. 2017;2017:8909834.
87. Bagel J, Duffin KC, Moore A, Ferris LK, Siu K, Steadman J, et al. The effect of secukinumab on moderate-to-severe scalp psoriasis: Results of a 24-week, randomized,

double-blind, placebo-controlled phase 3b study. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017;77(4):667-74.

88. Finzel S, Englbrecht M, Engelke K, Stach C, Schett G. A comparative study of periarticular bone lesions in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(1):122-7.

89. Ritchlin CT, Colbert RA, Gladman DD. Psoriatic Arthritis. *The New England journal of medicine*. 2017;376(10):957-70.

90. Gladman DD, Antoni C, Mease P, Clegg DO, Nash P. Psoriatic arthritis: epidemiology, clinical features, course, and outcome. *Annals of the rheumatic diseases*. 2005;64 Suppl 2(Suppl 2):ii14-7.

91. Scarpa R, Ayala F, Caporaso N, Olivieri I. Psoriasis, psoriatic arthritis, or psoriatic disease? *The Journal of rheumatology*. 2006;33(2):210-2.

92. Rahmati S, Li Q. Insights into the pathogenesis of psoriatic arthritis from genetic studies. 2021;43(2):221-34.

93. Gelfand JM, Gladman DD, Mease PJ, Smith N, Margolis DJ, Nijsten T, et al. Epidemiology of psoriatic arthritis in the population of the United States. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2005;53(4):573.

94. Madland TM, Apalset EM, Johannessen AE, Rossebö B, Brun JG. Prevalence, disease manifestations, and treatment of psoriatic arthritis in Western Norway. *The Journal of rheumatology*. 2005;32(10):1918-22.

95. Hukuda S, Minami M, Saito T, Mitsui H, Matsui N, Komatsubara Y, et al. Spondyloarthropathies in Japan: nationwide questionnaire survey performed by the Japan Ankylosing Spondylitis Society. *The Journal of rheumatology*. 2001;28(3):554-9.

96. Hoff M, Gulati AM, Romundstad PR, Kavanaugh A, Haugeberg G. Prevalence and incidence rates of psoriatic arthritis in central Norway: data from the Nord-Trøndelag health study (HUNT). *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(1):60-4.

97. Migkos MP, Somarakis GP, Markatseli TE, Voulgari PV, Drosos AA. Epidemiological characteristics of psoriatic arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2019;37(2):324-32.

98. Scrivo R, Conigliaro P, Riccieri V, Di Franco M, Alessandri C, Spadaro A, et al. Distribution of interleukin-10 family cytokines in serum and synovial fluid of patients with inflammatory arthritis reveals different contribution to systemic and joint inflammation. *Clinical and experimental immunology*. 2015;179(2):300-8.

99. Coates LC, Helliwell PS. Psoriatic arthritis: state of the art review. *Clinical medicine (London, England)*. 2017;17(1):65-70.

100. LEUNG YY, LIM KKT. Psoriatic arthritis. *APLAR Journal of Rheumatology*. 2007;10(4):264-9.

101. Scher JU, Ogdie A, Merola JF, Ritchlin C. Preventing psoriatic arthritis: focusing on patients with psoriasis at increased risk of transition. *Nature reviews Rheumatology*. 2019;15(3):153-66.

102. Solmaz D, Eder L, Aydin SZ. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of psoriatic arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2018;32(2):295-311.

103. Rouzaud M, Sevrain M, Villani AP, Barnetteche T, Paul C, Richard MA, et al. Is there a psoriasis skin phenotype associated with psoriatic arthritis? Systematic literature review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2014;28 Suppl 5:17-26.

104. Wilson FC, Icen M, Crowson CS, McEvoy MT, Gabriel SE, Kremers HM. Incidence and clinical predictors of psoriatic arthritis in patients with psoriasis: a population-based study. *Arthritis and rheumatism*. 2009;61(2):233-9.

105. Eder L, Polachek A, Rosen CF, Chandran V, Cook R, Gladman DD. The Development of Psoriatic Arthritis in Patients With Psoriasis Is Preceded by a Period of Nonspecific Musculoskeletal Symptoms: A Prospective Cohort Study. *Arthritis & rheumatology* (Hoboken, NJ). 2017;69(3):622-9.
106. Rech J, Sticherling M, Stoessel D, Biermann MHC, Häberle BM, Reinhardt M. Psoriatic arthritis epidemiology, comorbid disease profiles and risk factors: results from a claims database analysis. *Rheumatology advances in practice*. 2020;4(2):rkaa033.
107. Karmacharya P, Chakradhar R, Ogdie A. The epidemiology of psoriatic arthritis: A literature review. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2021;35(2):101692.
108. Stojanovich L. Stress and autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):A271-6.
109. Naldi L, Chatenoud L, Linder D, Belloni Fortina A, Peserico A, Virgili AR, et al. Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study. *The Journal of investigative dermatology*. 2005;125(1):61-7.
110. Song H, Fang F, Tomasson G, Arnberg FK, Mataix-Cols D, Fernández de la Cruz L, et al. Association of Stress-Related Disorders With Subsequent Autoimmune Disease. *Jama*. 2018;319(23):2388-400.
111. Eder L, Law T, Chandran V, Shanmugarajah S, Shen H, Rosen CF, et al. Association between environmental factors and onset of psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *Arthritis care & research*. 2011;63(8):1091-7.
112. Arnett FC, Reveille JD, Duvic M. Psoriasis and psoriatic arthritis associated with human immunodeficiency virus infection. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 1991;17(1):59-78.
113. Queiro R, Gonzalez S, López-Larrea C, Alperi M, Sarasqueta C, Riestra JL, et al. HLA-C locus alleles may modulate the clinical expression of psoriatic arthritis. *Arthritis research & therapy*. 2006;8(6):R185.
114. Stuart PE, Nair RP, Tsoi LC, Tejasvi T, Das S, Kang HM, et al. Genome-wide Association Analysis of Psoriatic Arthritis and Cutaneous Psoriasis Reveals Differences in Their Genetic Architecture. *American journal of human genetics*. 2015;97(6):816-36.
115. Chandran V, Schentag CT, Brockbank JE, Pellett FJ, Shanmugarajah S, Toloza SM, et al. Familial aggregation of psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2009;68(5):664-7.
116. Wiśniewski A, Matusiak Ł, Szczerkowska-Dobosz A, Nowak I, Kuśnierczyk P. HLA-C\*06:02-independent, gender-related association of PSORS1C3 and PSORS1C1/CDSN single-nucleotide polymorphisms with risk and severity of psoriasis. *Molecular genetics and genomics : MGG*. 2018;293(4):957-66.
117. Dand N, Duckworth M, Baudry D, Russell A, Curtis CJ, Lee SH, et al. HLA-C\*06:02 genotype is a predictive biomarker of biologic treatment response in psoriasis. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2019;143(6):2120-30.
118. Fitzgerald O, Winchester R. Editorial: emerging evidence for critical involvement of the interleukin-17 pathway in both psoriasis and psoriatic arthritis. *Arthritis & rheumatology* (Hoboken, NJ). 2014;66(5):1077-80.
119. Fife DJ, Waller JM, Jeffes EW, Koo JY. Unraveling the paradoxes of HIV-associated psoriasis: a review of T-cell subsets and cytokine profiles. *Dermatology online journal*. 2007;13(2):4.
120. Conrad C, Gilliet M. Psoriasis: from Pathogenesis to Targeted Therapies. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2018;54(1):102-13.
121. Yuan Y, Qiu J, Lin ZT, Li W, Haley C, Mui UN, et al. Identification of Novel Autoantibodies Associated With Psoriatic Arthritis. 2019;71(6):941-51.

122. Spadaro A, Riccieri V, Scrivo R, Alessandri C, Valesini G. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody determination in synovial fluid of psoriatic arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2007;25(4):599-604.
123. Menon B, Gullick NJ, Walter GJ, Rajasekhar M, Garrood T, Evans HG, et al. Interleukin-17+CD8+ T cells are enriched in the joints of patients with psoriatic arthritis and correlate with disease activity and joint damage progression. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2014;66(5):1272-81.
124. Scrivo R, D'Angelo S, Carriero A, Castellani C, Perrotta FM, Conti F, et al. The Conundrum of Psoriatic Arthritis: a Pathogenetic and Clinical Pattern at the Midpoint of Autoinflammation and Autoimmunity. 2022.
125. Moll JM, Haslock I, Macrae IF, Wright V. Associations between ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, Reiter's disease, the intestinal arthropathies, and Behcet's syndrome. *Medicine*. 1974;53(5):343-64.
126. Conigliaro P, Triggianese P, Perricone C, Chimenti MS, Di Muzio G, Ballanti E, et al. Restoration of peripheral blood natural killer and B cell levels in patients affected by rheumatoid and psoriatic arthritis during etanercept treatment. *Clinical and experimental immunology*. 2014;177(1):234-43.
127. Cañete JD, Santiago B, Cantaert T, Sanmartí R, Palacin A, Celis R, et al. Ectopic lymphoid neogenesis in psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2007;66(6):720-6.
128. Dolcino M, Lunardi C, Ottria A, Tinazzi E, Patuzzo G, Puccetti A. Crossreactive autoantibodies directed against cutaneous and joint antigens are present in psoriatic arthritis. *PloS one*. 2014;9(12):e115424.
129. Chimenti MS, Caso F, Alivernini S, De Martino E, Costa L, Tulusso B, et al. Amplifying the concept of psoriatic arthritis: The role of autoimmunity in systemic psoriatic disease. *Autoimmun Rev*. 2019;18(6):565-75.
130. Pasquetti P, Morozzi G, Galeazzi M. Very low prevalence of anti-CCP antibodies in rheumatoid factor-negative psoriatic polyarthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2009;48(3):315-6.
131. Perez-Alamino R, Garcia-Valladares I, Cuchacovich R, Iglesias-Gamarra A, Espinoza LR. Are anti-CCP antibodies in psoriatic arthritis patients a biomarker of erosive disease? *Rheumatology international*. 2014;34(9):1211-6.
132. Behrens F, Koehm M, Thaçi D, Gnann H, Greger G, Maria Wittig B, et al. Anti-citrullinated protein antibodies are linked to erosive disease in an observational study of patients with psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2016;55(10):1791-5.
133. Popescu C, Zofotă S, Bojincă V, Ionescu R. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in psoriatic arthritis--cross-sectional study and literature review. *Journal of medicine and life*. 2013;6(4):376-82.
134. Chimenti MS, Triggianese P, Nuccetelli M, Terracciano C, Crisanti A, Guarino MD, et al. Auto-reactions, autoimmunity and psoriatic arthritis. *Autoimmun Rev*. 2015;14(12):1142-6.
135. Johnson SR, Schentag CT, Gladman DD. Autoantibodies in biological agent naive patients with psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2005;64(5):770-2.
136. Reeves WH, Fisher DE, Wisniewolski R, Gottlieb AB, Chiorazzi N. Psoriasis and Raynaud's phenomenon associated with autoantibodies to U1 and U2 small nuclear ribonucleoproteins. *The New England journal of medicine*. 1986;315(2):105-11.
137. Generali E, Bose T, Selmi C, Voncken JW, Damoiseaux J. Nature versus nurture in the spectrum of rheumatic diseases: Classification of spondyloarthritis as autoimmune or autoinflammatory. *Autoimmun Rev*. 2018;17(9):935-41.

138. Scotti L, Franchi M, Marchesoni A, Corrao G. Prevalence and incidence of psoriatic arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2018;48(1):28-34.
139. Cantini F, Niccoli L, Nannini C, Kaloudi O, Bertoni M, Cassarà E. Psoriatic arthritis: a systematic review. *International journal of rheumatic diseases*. 2010;13(4):300-17.
140. Cantini F, Niccoli L, Nannini C, Cassarà E, Pasquetti P, Olivieri I, et al. Frequency and duration of clinical remission in patients with peripheral psoriatic arthritis requiring second-line drugs. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2008;47(6):872-6.
141. Olivieri I, Scarano E, Gigliotti P, Giasi V, Padula A. Successful treatment of juvenile-onset HLA-B27-associated severe and refractory heel thesitis with adalimumab documented by magnetic resonance imaging. *Rheumatology (Oxford, England)*. 2006;45(10):1315-7.
142. Olivieri I, Scarano E, Padula A, D'Angelo S, Cantini F. Switching tumor necrosis factor alpha inhibitors in HLA-B27-associated severe heel enthesitis. *Arthritis and rheumatism*. 2007;57(8):1572-4.
143. Veale DJ, Fearon U. The pathogenesis of psoriatic arthritis. *Lancet*. 2018;391(10136):2273-84.
144. Haroon M, Fitzgerald O. Pathogenetic overview of psoriatic disease. *The Journal of rheumatology Supplement*. 2012;89:7-10.
145. McGonagle D, Gibbon W, Emery P. Classification of inflammatory arthritis by enthesitis. *Lancet*. 1998;352(9134):1137-40.
146. Jacques P, Lambrecht S, Verheugen E, Pauwels E, Kollias G, Armaka M, et al. Proof of concept: enthesitis and new bone formation in spondyloarthritis are driven by mechanical strain and stromal cells. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014;73(2):437-45.
147. McGonagle D, Ash Z, Dickie L, McDermott M, Aydin SZ. The early phase of psoriatic arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70 Suppl 1:i71-6.
148. Bridgwood C, Watad A, Cuthbert RJ, McGonagle D. Spondyloarthritis: new insights into clinical aspects, translational immunology and therapeutics. *Current opinion in rheumatology*. 2018;30(5):526-32.
149. Perrotta FM, Astorri D, Zappia M, Reginelli A, Brunese L, Lubrano E. An ultrasonographic study of enthesitis in early psoriatic arthritis patients naive to traditional and biologic DMARDs treatment. 2016;36(11):1579-83.
150. Rizzo A, Ferrante A, Guggino G, Ciccia F. Gut inflammation in spondyloarthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2017;31(6):863-76.
151. Li WQ, Han JL, Chan AT, Qureshi AA. Psoriasis, psoriatic arthritis and increased risk of incident Crohn's disease in US women. *Annals of the rheumatic diseases*. 2013;72(7):1200-5.
152. Charlton R, Green A, Shaddick G, Snowball J, Nightingale A, Tillett W, et al. Risk of uveitis and inflammatory bowel disease in people with psoriatic arthritis: a population-based cohort study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2018;77(2):277-80.
153. Rossini M, Epis OM, Tinazzi I, Grembiale RD, Iagnocco A. Role of the IL-23 pathway in the pathogenesis and treatment of enthesitis in psoriatic arthritis. *Expert opinion on biological therapy*. 2020;20(7):787-98.
154. Fotiadou C, Lazaridou E. Psoriasis and uveitis: links and risks. *Psoriasis (Auckland, NZ)*. 2019;9:91-6.
155. Huhtinen M, Repo H, Laasila K, Jansson SE, Kautiainen H, Karma A, et al. Systemic inflammation and innate immune response in patients with previous anterior uveitis. *The British journal of ophthalmology*. 2002;86(4):412-7.
156. Abbouda A, Abicca I, Fabiani C, Scappatura N, Peña-García P, Scrivo R, et al. Psoriasis and Psoriatic Arthritis-Related Uveitis: Different Ophthalmological Manifestations and Ocular Inflammation Features. *Seminars in ophthalmology*. 2017;32(6):715-20.
157. Rosenbaum JT, Kim HW. Innate immune signals in autoimmune and autoinflammatory uveitis. *International reviews of immunology*. 2013;32(1):68-75.

158. Love TJ, Zhu Y, Zhang Y, Wall-Burns L, Ogdie A, Gelfand JM, et al. Obesity and the risk of psoriatic arthritis: a population-based study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(8):1273-7.
159. Li W, Han J, Qureshi AA. Obesity and risk of incident psoriatic arthritis in US women. *Annals of the rheumatic diseases*. 2012;71(8):1267-72.
160. Thomsen RS, Nilsen TIL, Haugeberg G. Adiposity and Physical Activity as Risk Factors for Developing Psoriatic Arthritis: Longitudinal Data From a Population-Based Study in Norway. 2021;73(3):432-41.
161. Egeberg A, Khalid U, Gislasen GH, Mallbris L, Skov L, Hansen PR. Association of Psoriatic Disease With Uveitis: A Danish Nationwide Cohort Study. *JAMA dermatology*. 2015;151(11):1200-5.
162. Breedveld FC, Dayer JM. Leflunomide: mode of action in the treatment of rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2000;59(11):841-9.
163. Cutolo M, Serio B, Pizzorni C, Cravotto C, Sulli A. Methotrexate in psoriatic arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2002;20(6 Suppl 28):S76-80.
164. Salvarani C, Olivieri I, Cantini F, Macchioni L, Boiardi L. Psoriatic arthritis. *Current opinion in rheumatology*. 1998;10(4):299-305.
165. Salvarani C, Macchioni P, Olivieri I, Marchesoni A, Cutolo M, Ferraccioli G, et al. A comparison of cyclosporine, sulfasalazine, and symptomatic therapy in the treatment of psoriatic arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2001;28(10):2274-82.
166. Gossec L, Baraliakos X, Kerschbaumer A. EULAR recommendations for the management of psoriatic arthritis with pharmacological therapies: 2019 update. 2020;79(6):700-12.
167. Coates LC, Kavanaugh A, Mease PJ, Soriano ER, Laura Acosta-Felquer M, Armstrong AW, et al. Group for Research and Assessment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis 2015 Treatment Recommendations for Psoriatic Arthritis. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2016;68(5):1060-71.
168. Silvy F, Bertin D, Bardin N, Auger I, Guzian MC, Mattei JP, et al. Antinuclear Antibodies in Patients with Psoriatic Arthritis Treated or Not with Biologics. *PLoS one*. 2015;10(7):e0134218.
169. Tan EM, Chan EK, Sullivan KF, Rubin RL. Antinuclear antibodies (ANAs): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clinical immunology and immunopathology*. 1988;47(2):121-41.
170. Tan TC, Ng CYL, Leong KP. Clinical utility of anti-DFS70 for identifying antinuclear antibody-positive patients without systemic autoimmune rheumatic disease. *Singapore medical journal*. 2022;63(3):147-51.
171. Lubecka-Macura A, Kohut M. TNF superfamily-mechanisms of action, biologic functions and therapeutic possibilities. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*. 2010;5(6):303-9.
172. Nedoszytko B, Sokołowska-Wojdyło M, Ruckemann-Dziurdzińska K, Roszkiewicz J, Nowicki RJ. Chemokines and cytokines network in the pathogenesis of the inflammatory skin diseases: atopic dermatitis, psoriasis and skin mastocytosis. *Postepy dermatologii i alergologii*. 2014;31(2):84-91.
173. Shabgah AG, Fattahi E, Shahneh FZ. Interleukin-17 in human inflammatory diseases. *Postepy dermatologii i alergologii*. 2014;31(4):256-61.
174. Atzeni F, Turiel M, Capsoni F, Doria A, Meroni P, Sarzi-Puttini P. Autoimmunity and anti-TNF-alpha agents. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005;1051:559-69.
175. Atzeni F, Sarzi-Puttini P. Autoantibody production in patients treated with anti-TNF-alpha. *Expert Rev Clin Immunol*. 2008;4(2):275-80.

176. Pirowska MM, Goździalska A, Lipko-Godlewska S, Obtulowicz A, Sułowicz J, Podolec K, et al. Autoimmunogenicity during anti-TNF therapy in patients with psoriasis and psoriatic arthritis. *Postepy dermatologii i alergologii*. 2015;32(4):250-4.
177. Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PL, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Frontiers in immunology*. 2015;6:412.
178. Basu A, Sanchez TW, Casiano CA. DFS70/LEDGFp75: An Enigmatic Autoantigen at the Interface between Autoimmunity, AIDS, and Cancer. *Frontiers in immunology*. 2015;6:116.
179. Mahler M, Parker T, Peebles CL, Andrade LE, Swart A, Carbone Y, et al. Anti-DFS70/LEDGF antibodies are more prevalent in healthy individuals compared to patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. *J Rheumatol*. 2012;39(11):2104-10.
180. Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*. 2008;17(3):171-6.
181. Mahler M, Hanly JG, Fritzler MJ. Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2012;11(9):642-5.
182. Mahler M, Fritzler MJ. The clinical significance of the dense fine speckled immunofluorescence pattern on HEp-2 cells for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:494356.
183. Stinton LM, Swain M, Myers RP, Shaheen AA, Fritzler MJ. Autoantibodies to GW bodies and other autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Clinical and experimental immunology*. 2011;163(2):147-56.
184. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostecki C, Grötzinger T, Will H. Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scandinavian journal of immunology*. 1995;42(2):257-68.
185. Fritzler MJ, Chan EK. The discovery of GW bodies. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013;768:5-21.
186. von Mühlen CA, Chan EK, Peebles CL, Imai H, Kiyosawa K, Tan EM. Non-muscle myosin as target antigen for human autoantibodies in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver diseases. *Clinical and experimental immunology*. 1995;100(1):67-74.
187. Moser JJ, Fritzler MJ. Relationship of other cytoplasmic ribonucleoprotein bodies (cRNPB) to GW/P bodies. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013;768:213-42.
188. Nakamura M. Clinical significance of autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 2014;34(3):334-40.
189. Nozawa K, Fritzler MJ, Chan EK. Unique and shared features of Golgi complex autoantigens. *Autoimmun Rev*. 2005;4(1):35-41.
190. Nozawa K, Fritzler MJ, von Mühlen CA, Chan EK. Giantin is the major Golgi autoantigen in human anti-Golgi complex sera. *Arthritis research & therapy*. 2004;6(2):R95-102.
191. Calise SJ, Keppeke GD, Andrade LE, Chan EK. Anti-rods/rings: a human model of drug-induced autoantibody generation. *Frontiers in immunology*. 2015;6:41.
192. Keppeke GD, Satoh M, Ferraz ML, Chan EK, Andrade LE. Temporal evolution of human autoantibody response to cytoplasmic rods and rings structure during anti-HCV therapy with ribavirin and interferon- $\alpha$ . *Immunol Res*. 2014;60(1):38-49.
193. Rattner JB, Martin L, Waisman DM, Johnstone SA, Fritzler MJ. Autoantibodies to the centrosome (centriole) react with determinants present in the glycolytic enzyme enolase. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1991;146(7):2341-4.

194. Mack GJ, Rees J, Sandblom O, Balczon R, Fritzler MJ, Rattner JB. Autoantibodies to a group of centrosomal proteins in human autoimmune sera reactive with the centrosome. *Arthritis Rheum.* 1998;41(3):551-8.
195. Whitehead CM, Winkfein RJ, Fritzler MJ, Rattner JB. The spindle kinesin-like protein HsEg5 is an autoantigen in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39(10):1635-42.
196. Vermeersch P, Bossuyt X. Prevalence and clinical significance of rare antinuclear antibody patterns. *Autoimmun Rev.* 2013;12(10):998-1003.
197. Humbel R. Autoantibodies to mitotic cells. *Infection, Tumors and Autoimmunity* Lengerich: Pabst Science Publ. 2013:327-39.
198. Gitlits VM, Macaulay SL, Toh BH, Sentry JW. Novel human autoantibodies to phosphoepitopes on mitotic chromosomal autoantigens (MCAs). *Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research.* 2000;48(3):172-82.
199. Blaschek M, Muller S, Youinou P. Anti-"dividing cell antigen" autoantibody: a novel antinuclear antibody pattern related to histones in systemic lupus erythematosus. *Journal of clinical immunology.* 1993;13(5):329-38.
200. Ochs RL, Muro Y, Si Y, Ge H, Chan EK, Tan EM. Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *The Journal of allergy and clinical immunology.* 2000;105(6 Pt 1):1211-20.
201. Ochs RL, Stein TW, Jr., Peebles CL, Gittes RF, Tan EM. Autoantibodies in interstitial cystitis. *The Journal of urology.* 1994;151(3):587-92.
202. Ganapathy V, Casiano CA. Autoimmunity to the nuclear autoantigen DFS70 (LEDGF): what exactly are the autoantibodies trying to tell us? *Arthritis and rheumatism.* 2004;50(3):684-8.
203. Shinohara T, Singh DP, Chylack LT, Jr. Review: Age-related cataract: immunity and lens epithelium-derived growth factor (LEDGF). *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics.* 2000;16(2):181-91.
204. Ganapathy V, Daniels T, Casiano CA. LEDGF/p75: a novel nuclear autoantigen at the crossroads of cell survival and apoptosis. *Autoimmun Rev.* 2003;2(5):290-7.
205. Llano M, Morrison J, Poeschla EM. Virological and cellular roles of the transcriptional coactivator LEDGF/p75. *Current topics in microbiology and immunology.* 2009;339:125-46.
206. Ochs RL, Mahler M, Basu A, Rios-Colon L, Sanchez TW, Andrade LE, et al. The significance of autoantibodies to DFS70/LEDGFp75 in health and disease: integrating basic science with clinical understanding. *Clinical and experimental medicine.* 2016;16(3):273-93.
207. Ge H, Si Y, Roeder RG. Isolation of cDNAs encoding novel transcription coactivators p52 and p75 reveals an alternate regulatory mechanism of transcriptional activation. *The EMBO journal.* 1998;17(22):6723-9.
208. Singh DP, Ohguro N, Chylack LT, Jr., Shinohara T. Lens epithelium-derived growth factor: increased resistance to thermal and oxidative stresses. *Investigative ophthalmology & visual science.* 1999;40(7):1444-51.
209. Singh DP, Ohguro N, Kikuchi T, Sueno T, Reddy VN, Yuge K, et al. Lens epithelium-derived growth factor: effects on growth and survival of lens epithelial cells, keratinocytes, and fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications.* 2000;267(1):373-81.
210. Sutherland HG, Newton K, Brownstein DG, Holmes MC, Kress C, Semple CA, et al. Disruption of Ledgf/Psip1 results in perinatal mortality and homeotic skeletal transformations. *Molecular and cellular biology.* 2006;26(19):7201-10.
211. Okamoto M, Ogawa Y, Watanabe A, Sugiura K, Shimomura Y, Aoki N, et al. Autoantibodies to DFS70/LEDGF are increased in alopecia areata patients. *Journal of autoimmunity.* 2004;23(3):257-66.

212. Bizzaro N, Tonutti E, Visentini D, Alessio MG, Platzgummer S, Morozzi G, et al. Antibodies to the lens and cornea in anti-DFS70-positive subjects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1107:174-83.
213. Watanabe K, Muro Y, Sugiura K, Tomita Y. IgE and IgG(4) autoantibodies against DFS70/LEDGF in atopic dermatitis. *Autoimmunity*. 2011;44(6):511-9.
214. Mariz HA, Sato EI, Barbosa SH, Rodrigues SH, Dellavance A, Andrade LE. Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2011;63(1):191-200.
215. Goto N, Sugiura K, Ogawa Y, Watanabe A, Onouchi H, Tomita Y, et al. Anti-p80 coilin autoantibodies react with a conserved epitope and are associated with anti-DFS70/LEDGF autoantibodies. *Journal of autoimmunity*. 2006;26(1):42-51.
216. Alsaed OS, Alamliah LI, Al-Radideh O, Chandra P, Alemadi S, Al-Allaf AW. Clinical utility of ANA-ELISA vs ANA-immunofluorescence in connective tissue diseases. 2021;11(1):8229.
217. Boehncke WH, Schon MP. Psoriasis. *Lancet*. 2015;386(9997):983-94.
218. Sakkas LI, Daoussis D, Mavropoulos A, Liossis SN, Bogdanos DP. Regulatory B cells: New players in inflammatory and autoimmune rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum*. 2019;48(6):1133-41.
219. Sakkas LI, Zafiriou E, Bogdanos DP. Mini Review: New Treatments in Psoriatic Arthritis. Focus on the IL-23/17 Axis. *Front Pharmacol*. 2019;10:872.
220. Bardazzi F, Odorici G, Viridi A, Antonucci VA, Tengattini V, Patrizi A, et al. Autoantibodies in psoriatic patients treated with anti-TNF-alpha therapy. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*. 2014;12(5):401-6.
221. Pink AE, Fonia A, Allen MH, Smith CH, Barker JN. Antinuclear antibodies associate with loss of response to antitumour necrosis factor-alpha therapy in psoriasis: a retrospective, observational study. *The British journal of dermatology*. 2010;162(4):780-5.
222. Hoffmann JH, Knoop C, Enk AH, Hadaschik EN. Baseline anti-dsDNA concentrations and previous treatments predict response to Adalimumab and Etanercept: a retrospective investigation of 146 psoriasis patients. *Journal of dermatological science*. 2014;76(3):180-5.
223. Chimenti MS, Spinelli FR, Giunta A, Martinelli F, Saraceno R, Conti F, et al. Emergence of antinuclear antibodies in psoriatic patients treated with infliximab: personal experience and literature review. *Drug development research*. 2014;75 Suppl 1:S61-3.
224. Hoffmann JHO, Knoop C, Enk AH, Hadaschik EN. Detailed ANA dynamics under adalimumab therapy show no significant correlation to PASI response and MTX cotreatment: a retrospective study of 98 psoriasis patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(3):e128-e9.
225. Calzavara PG, Cattaneo R, Franceschini F, Tosoni C, Martinelli M, Carlino A. Antinuclear antibodies in psoriatic arthritis and its subgroups. *Acta dermato-venereologica Supplementum*. 1989;146:31-2.
226. Arends S, Lebbink HR, Spoorenberg A, Bungener LB, Roozendaal C, van der Veer E, et al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF-alpha blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28(5):661-8.
227. Infantino M, Palterer B, Biagiotti R, Almerigogna F, Benucci M, Damiani A, et al. Reflex testing of speckled cytoplasmic patterns observed in routine ANA HEp-2 indirect immunofluorescence with a multiplex anti-synthetase dot-blot assay: a multicentric pilot study. *Immunol Res*. 2018;66(1):74-8.
228. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International

- Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Annals of the rheumatic diseases*. 2019;78(7):879-89.
229. Yi A, Lee CH, Moon HW, Kim H, Hur M, Yun YM. Evaluation of the LIA-ANA-Profile-17S for the detection of autoantibodies to nuclear antigens. *Clin Biochem*. 2018;55:75-9.
230. Carter JB, Carter S, Saschenbrecker S, Goeckeritz BE. Recognition and Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies in Routine Antinuclear Autoantibodies Testing at a Community Hospital. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:88.
231. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H, et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8):2665-73.
232. Liaskos C, Marou E, Simopoulou T, Barmakoudi M, Efthymiou G, Scheper T, et al. Disease-related autoantibody profile in patients with systemic sclerosis. *Autoimmunity*. 2017;50(7):414-21.
233. Gkoutzourelas A, Liaskos C, Mytilinaiou MG, Simopoulou T, Katsiari C, Tsirogianni A, et al. Anti-Ro60 Seropositivity Determines Anti-Ro52 Epitope Mapping in Patients With Systemic Sclerosis. *Frontiers in immunology*. 2018;9:2835.
234. Marou E, Liaskos C, Efthymiou G, Dardiotis E, Daponte A, Scheper T, et al. Increased immunoreactivity against human cytomegalovirus UL83 in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35 Suppl 106(4):31-4.
235. Efthymiou G, Dardiotis E, Liaskos C, Marou E, Tsimourtou V, Rigopoulou EI, et al. Immune responses against *Helicobacter pylori*-specific antigens differentiate relapsing remitting from secondary progressive multiple sclerosis. *Sci Rep*. 2017;7(1):7929.
236. Marou E, Liaskos C, Simopoulou T, Efthymiou G, Dardiotis E, Katsiari C, et al. Human cytomegalovirus (HCMV) UL44 and UL57 specific antibody responses in anti-HCMV-positive patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*. 2017;36(4):863-9.
237. Mavropoulos A, Liaskos C, Simopoulou T, Bogdanos DP, Sakkas LI. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells), IL-17+ T cells and autoantibodies in systemic sclerosis. *Clin Immunol*. 2017;184:26-32.
238. Mavropoulos A, Zafiriou E, Simopoulou T, Brotis AG, Liaskos C, Roussaki-Schulze A, et al. Apremilast increases IL-10-producing regulatory B cells and decreases proinflammatory T cells and innate cells in psoriatic arthritis and psoriasis. *Rheumatology (Oxford)*. 2019.
239. Tsiogkas SG, Mavropoulos A. A sharp decrease of Th17, CXCR3+Th17, and Th17.1 in peripheral blood is associated with an early anti-IL-17-mediated clinical remission in psoriasis. 2022;210(1):79-89.
240. Stathopoulos P, Kumar A, Nowak RJ, O'Connor KC. Autoantibody-producing plasmablasts after B cell depletion identified in muscle-specific kinase myasthenia gravis. *JCI insight*. 2017;2(17).
241. Lin W, Zhang P, Chen H, Chen Y, Yang H, Zheng W, et al. Circulating plasmablasts/plasma cells: a potential biomarker for IgG4-related disease. *Arthritis research & therapy*. 2017;19(1):25.
242. Matsui K, Adelsberger JW, Kemp TJ, Baseler MW, Ledgerwood JE, Pinto LA. Circulating CXCR5(+)CD4(+) T Follicular-Like Helper Cell and Memory B Cell Responses to Human Papillomavirus Vaccines. *PloS one*. 2015;10(9):e0137195.
243. Akiyama M, Suzuki K, Yamaoka K, Yasuoka H, Takeshita M, Kaneko Y, et al. Number of Circulating Follicular Helper 2 T Cells Correlates With IgG4 and Interleukin-4 Levels and Plasmablast Numbers in IgG4-Related Disease. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2015;67(9):2476-81.
244. Chimenti MS, Triggianese P, De Martino E, Conigliaro P, Fonti GL, Sunzini F, et al. An update on pathogenesis of psoriatic arthritis and potential therapeutic targets. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(8):823-36.

245. Hoffmann JH, Hartmann M, Enk AH, Hadaschik EN. Autoantibodies in psoriasis as predictors for loss of response and anti-infliximab antibody induction. *Br J Dermatol*. 2011;165(6):1355-8.
246. Oter-Lopez B, Llamas-Velasco M, Sanchez-Perez J, Dauden E. Induction of Autoantibodies and Autoimmune Diseases in Patients with Psoriasis Receiving Tumor Necrosis Factor Inhibitors. *Actas dermo-sifilograficas*. 2017;108(5):445-56.
247. Viana VS, de Carvalho JF, de Moraes JC, Saad CG, Ribeiro AC, Gonçalves C, et al. Autoantibodies in patients with psoriatic arthritis on anti-TNF $\alpha$  therapy. *Revista brasileira de reumatologia*. 2010;50(3):225-34.
248. Viana VS, de Carvalho JF, de Moraes JC, Saad CG, Ribeiro AC, Goncalves C, et al. Autoantibodies in patients with psoriatic arthritis on anti-TNF $\alpha$  therapy. *Revista brasileira de reumatologia*. 2010;50(3):225-34.
249. Bardazzi F, Odorici G, Viridi A, Antonucci VA, Tengattini V, Patrizi A, et al. Autoantibodies in psoriatic patients treated with anti-TNF- $\alpha$  therapy. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*. 2014;12(5):401-6.
250. Vaz JL, Fernandes V, Nogueira F, Arnobio A, Levy RA. Infliximab-induced autoantibodies: a multicenter study. *Clin Rheumatol*. 2016;35(2):325-32.
251. Dellavance A, Viana VS, Leon EP, Bonfa ES, Andrade LE, Leser PG. The clinical spectrum of antinuclear antibodies associated with the nuclear dense fine speckled immunofluorescence pattern. *J Rheumatol*. 2005;32(11):2144-9.
252. Chioato A, Nosedà E, Stevens M, Gaitatzis N, Kleinschmidt A, Picaud H. Treatment with the interleukin-17A-blocking antibody secukinumab does not interfere with the efficacy of influenza and meningococcal vaccinations in healthy subjects: results of an open-label, parallel-group, randomized single-center study. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(10):1597-602.
253. Gensous N, Charrier M, Duluc D, Contin-Bordes C, Truchetet ME, Lazaro E, et al. T Follicular Helper Cells in Autoimmune Disorders. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1637.
254. Zhang X, Lindwall E, Gauthier C, Lyman J, Spencer N, Alarakhia A, et al. Circulating CXCR5+CD4+helper T cells in systemic lupus erythematosus patients share phenotypic properties with germinal center follicular helper T cells and promote antibody production. *Lupus*. 2015;24(9):909-17.
255. Dong G, Ye R, Shi W, Liu S, Wang T, Yang X, et al. IL-17 induces autoantibody overproduction and peripheral blood mononuclear cell overexpression of IL-6 in lupus nephritis patients. *Chin Med J (Engl)*. 2003;116(4):543-8.
256. Beringer A, Miossec P. Systemic effects of IL-17 in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2019;15(8):491-501.
257. Grad YH, Lipsitch M, Aiello AE. Secular trends in *Helicobacter pylori* seroprevalence in adults in the United States: evidence for sustained race/ethnic disparities. *American journal of epidemiology*. 2012;175(1):54-9.
258. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 1995;9 Suppl 2:33-9.
259. McColl KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2010;362(17):1597-604.
260. Lina TT, Alzahrani S, Gonzalez J, Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Immune evasion strategies used by *Helicobacter pylori*. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(36):12753-66.
261. Hasni SA. Role of *Helicobacter pylori* infection in autoimmune diseases. *Current opinion in rheumatology*. 2012;24(4):429-34.

262. Meier HCS, Miller FW, Dinse GE, Weinberg CR, Cho CC, Parks CG. Helicobacter pylori seropositivity is associated with antinuclear antibodies in US adults, NHANES 1999-2000. *Epidemiology and infection*. 2020;148:e20.
263. Khmaladze I, Kelkka T, Guerard S, Wing K, Pizzolla A, Saxena A, et al. Mannan induces ROS-regulated, IL-17A-dependent psoriasis arthritis-like disease in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(35):E3669-78.
264. Mesquita PM, Diogo AF, Jorge MT, Berbert AL, Mantese SA, Rodrigues JJ. Relationship of Helicobacter pylori seroprevalence with the occurrence and severity of psoriasis. *An Bras Dermatol*. 2017;92(1):52-7.
265. Fathy G SM, Abdel-Raheem SM, Sanad H. Helicobacter Pylori Infection: A possible predisposing factor in chronic plaque-type psoriasis. *J Egypt Women Dermatol Soc*. 2010;7.
266. Yong WC, Upala S, Sanguankeo A. Association between Psoriasis and Helicobacter pylori Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Indian J Dermatol*. 2018;63(3):193-200.
267. Yu M, Zhang R, Ni P, Chen S, Duan G. Helicobacter pylori Infection and Psoriasis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(10).
268. Zhelenova G. YL, Tserovska L., Mateev G., Vassileva S. . Prevalence of Helicobacter pylori seropositivity in patients with psoriasis. *Probl Infect Dis*. 2015;43.
269. Azizzadeh M, Nejad ZV, Ghorbani R, Pahlevan D. Relationship between Helicobacter pylori infection and psoriasis. *Ann Saudi Med*. 2014;34(3):241-4.
270. Dauden E, Cabrera MM, Onate MJ, Pajares JM, Garcia-Diez A. CagA seropositivity in Helicobacter pylori positive patients with psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(1):116-7.
271. Mease PJ, Antoni CE, Gladman DD, Taylor WJ. Psoriatic arthritis assessment tools in clinical trials. *Ann Rheum Dis*. 2005;64 Suppl 2:ii49-54.
272. Efthymiou G, Dardiotis E, Liaskos C, Marou E, Tsimourtou V, Scheper T, et al. Anti-hsp60 antibody responses based on Helicobacter pylori in patients with multiple sclerosis: (ir)Relevance to disease pathogenesis. *J Neuroimmunol*. 2016;298:19-23.
273. Sezikli M, Guliter S, Apan TZ, Aksoy A, Keles H, Ozkurt ZN. Frequencies of serum antibodies to Helicobacter pylori CagA and VacA in a Turkish population with various gastroduodenal diseases. *Int J Clin Pract*. 2006;60(10):1239-43.
274. Us D, Engin D, Hascelik G. [Evaluation of western blot methods for serologic diagnosis of Helicobacter pylori infections]. *Mikrobiyol Bul*. 2002;36(2):153-60.
275. Filipic Kanizaj T, Katicic M, Presecki V, Gasparov S, Colic Cvrlje V, Kolaric B, et al. Serum antibodies positivity to 12 Helicobacter pylori virulence antigens in patients with benign or malignant gastroduodenal diseases--cross-sectional study. *Croatian medical journal*. 2009;50(2):124-32.
276. Reynders MB, Miendje Deyi VY, Dahma H, Scheper T, Hanke M, Decolvenaer M, et al. Performance of individual Helicobacter pylori antigens in the immunoblot-based detection of H. pylori infection. *FEMS immunology and medical microbiology*. 2012;64(3):352-63.
277. Arnold IC, Dehzad N, Reuter S, Martin H, Becher B, Taube C, et al. Helicobacter pylori infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells. *J Clin Invest*. 2011;121(8):3088-93.
278. Higgins PD, Johnson LA, Luther J, Zhang M, Sauder KL, Blanco LP, et al. Prior Helicobacter pylori infection ameliorates Salmonella typhimurium-induced colitis: mucosal crosstalk between stomach and distal intestine. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(6):1398-408.
279. Cook KW, Crooks J, Hussain K, O'Brien K, Braitch M, Kareem H, et al. Helicobacter pylori infection reduces disease severity in an experimental model of multiple sclerosis. *Front Microbiol*. 2015;6:52.

280. Ali M, Whitehead M. Clearance of chronic psoriasis after eradication therapy for *Helicobacter pylori* infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22(6):753-4.
281. Onsun N, Arda Ulusal H, Su O, Beycan I, Biyik Ozkaya D, Senocak M. Impact of *Helicobacter pylori* infection on severity of psoriasis and response to treatment. *Eur J Dermatol*. 2012;22(1):117-20.
282. Campanati A, Ganzetti G, Martina E, Giannoni M, Gesuita R, Bendia E, et al. *Helicobacter pylori* infection in psoriasis: results of a clinical study and review of the literature. *Int J Dermatol*. 2015;54(5):e109-14.
283. Qayoom S, Ahmad QM. Psoriasis and *Helicobacter pylori*. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2003;69(2):133-4.
284. Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J*. 2016;39(1):14-23.