

**ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΤΟ ΗΠΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΙΑΤΡΕΙΟ ΚΑΙ ΤΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
Δ/ντής: Καθηγητής Ν. Σταθάκης**

**ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ
ΤΩΝ ΑΝΤΙΚΑΡΔΙΟΛΙΠΙΝΙΚΩΝ
ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ (ΑΝΤΙ-CL)
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ
ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ**

Χρήστος Π. Λιάσκος
Ιατρός-Βιολόγος

**Διδακτορική Διατριβή που εκπονήθηκε στο Ιατρικό Τμήμα
του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας**

Λάρισα 2005

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 5473/1

Ημερ. Εισ.: 21-07-2009

Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

616.362 079

ΛΙΑ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083622

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Ιατρικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα
(νόμος 5343, άρθρο 202, παράγραφος 2)



Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
(Επιβλέπων)

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Σταθάκης Νικόλαος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ποταμιάνος Σπυρίδων, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γερμενής Αναστάσιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Γουργουλιάνης Κωνσταντίνος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μολυβδάς Πασχάλης-Αδάμ, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1. ΕΙΔΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ.....	3
1.1. Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	3
1.2. ΜΕΙΖΟΝ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ	6
1.3. Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	7
1.4. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ	10
2. ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.....	14
2.1. ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.....	19
2.2. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ (anti-dsDNA)	22
2.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ (ANCA).....	24
2.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΛΕΙΩΝ ΜΥΙΚΩΝ ΙΝΩΝ (SMA.....	27
2.5. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΜΑΧΟΥ (PCA).....	28
3. ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (ΑΝΤΙΡΗΟΣΦΟΛΙΠΙΔ ΣΥΝΔΡΟΜΟ; APS)	31
.....	31
3.1 ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΙΚΟ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ.....	31
3.2 ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (a-PL)	35
3.3 β2-ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΙΝΗ Ι (β2-GPI)	36
3.4 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	40
3.5 A-PL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΕ ΑΛΛΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ	44
4. ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ.....	47
4.1. ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΑΗ)	47
4.1.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΑΗ	47
4.1.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΗ	49
4.1.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΗ-1.....	51
α. Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)	51
β. Αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών (SMA)	52
γ. Αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA).....	53
δ. Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (anti-ASGP-R).....	54
ε. Αντι-SLA/LP αντισώματα	54
4.1.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΗ-2	55
α. Αντι-LKM αντισώματα	55
β. Αντι-LC 1 αντισώματα	58

4.1.5	ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΠΟΛΥΕΝΔΟΚΡΙΝΟΠΑΘΕΙΑΣ 1 (ΣΑΠΕ-1).....	59
	Αντι-LM αντισώματα	60
4.1.6	ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΑΗ	60
4.1.7	ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΗ	62
4.1.8	ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΗ	63
4.1.9	ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΑΗ	67
4.1.10	ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΑΗ	67
4.1.11	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΗ	70
4.2	ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)	72
4.1.6	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΧΚ	72
4.1.7	ΕΞΩΗΠΑΤΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ-ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΧΚ	73
4.1.8	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΧΚ	74
4.1.9	ΑΝΤΙΜΟΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ΑΜΑ)	75
4.1.10	ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΜΑ	80
4.1.11	ΑΜΑ-ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΠΧΚ	81
4.1.12	ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ΑΝΑ) ΣΤΗΝ ΠΧΚ	82
4.1.13	ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΗΝ ΠΧΚ	87
4.1.14	ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ	88
4.1.15	ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΠΧΚ	89
4.1.16	ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΧΚ	92
4.1.17	ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΠΧΚ	94
4.3.	ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΑΓΓΕΙΪΤΙΔΑ (ΠΣΧ)	96
4.3.1	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΣΧ	96
4.3.2	ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΣΧ	97
4.3.3	ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΠΣΧ	99
4.3.4	ΠΑΘΟΛΟΓΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΣΧ	100
4.3.5	ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΣΧ.....	101
4.3.6	ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΠΣΧ	102
4.3.7	ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΣΧ	104
4.3.8	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΣΧ	106
4.4	ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ	109
4.4.1	ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΑΗ/ΠΧΚ	109
4.4.2	ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΑΗ/ΠΣΧ	111
4.4.3	ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΠΧΚ/ΠΣΧ	111
	ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	113
1.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	115
2.	ΑΣΘΕΝΕΙΣ.....	118
2.1.	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ.....	120
2.2.	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ).....	125

2.3. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΛΑΓΓΕΙΠΤΙΔΑ (ΠΣΧ)...	128
2.4. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ.....	130
3. ΜΕΘΟΔΟΙ.....	134
3.1. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙ-ΛΚΜ, ΑΝΑ, ΑΜΑ, ΣΜΑ, ΡCΑ ΣΕ ΙΣΤΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ.....	134
3.2. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΑ, ΑΜΑ, ΣΜΑ, ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΗΕρ 2 ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	134
3.3. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΝCΑ.....	135
3.4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-SLΑ/LP.....	135
3.5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgG ΚΑΙ IgM ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΚΑΡΔΙΟΛΙΠΙΝΗΣ.....	135
3.5.1. ΣΤΗΣΙΜΟ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	135
3.5.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ.....	143
3.5.3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	143
3.6. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ DNA.....	146
3.7. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgG ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ Β2-GPI.....	147
3.8. ΧΡΗΣΗ ΟΥΡΙΑΣ.....	148
4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	154
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	155
5.1. Συχνότητα ανίχνευσης των αντι-CL και των αντι-β2-GPI αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες των ασθενών.....	155
5.2. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ	159
5.3. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΧΚ	160
5.4. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΣΧ	162
5.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ.....	164
5.5.1 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ	164
α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά	164
β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο.....	165
γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα	166
δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα	168
5.5.2 ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)	171
α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά	171
β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο	171
γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα	173
δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα	175
5.5.3. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΛΑΓΓΕΙΠΤΙΔΑ (ΠΣΧ)	175
α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά	175

β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο	177
γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα	178
δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα	181
5.5.4. ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΧΟΛΟΣΤΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	181
Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα	181
5.5.5. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ	184
5.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΙ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-B2-GPI ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	186
5.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ	187
5.8. ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΓΙΑ ΑΝΤΙ-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ	187
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	190
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	203
ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	253
SUMMARY AND CONCLUSIONS	258

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) είναι μια αυτοάνοση διαταραχή η οποία κλινικά χαρακτηρίζεται από αρτηριακές ή/και φλεβικές θρομβώσεις και νοσηρότητα κύησης (καθ'εξιν αποβολές, ανεξήγητοι θάνατοι εμβρύου, προεκλαμψία κ.α.). Το APS μπορεί να είναι πρωτοπαθές όταν δεν υπάρχει άλλη υποκείμενη διαταραχή ή δευτεροπαθές στα πλαίσια άλλων καταστάσεων κυρίως αυτοανόσων, αλλά και κακοηθειών καθώς και συνέπεια χρήσης ορισμένων φαρμάκων. Σε ορισμένες σπάνιες περιπτώσεις το APS μπορεί να εκδηλωθεί με δραματική μορφή λόγω οξείας και ταχύτατης προσβολής των μικρών αγγείων προκαλώντας βλάβες σε πολλά παρεγχυματικά όργανα, μια κατάσταση που ονομάζεται καταστροφικό APS με ποσοστό θνητότητας που φτάνει το 50%.

Το βασικό εργαστηριακό εύρημα στους ασθενείς με το σύνδρομο αυτό είναι η παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων και κυρίως αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων και αντιπηκτικό του λύκου. Η παρουσία των αντισωμάτων αυτών όμως, δεν έχει μελετηθεί αναλυτικά στα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος τα οποία ως γνωστόν σχετίζονται με μεγάλη ποικιλία εξωηπατικών αυτοανόσων εκδηλώσεων. Πράγματι, στην διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες σχετικά με την συχνότητα εμφάνισης των αντι-PL αντισωμάτων και/ή εκδηλώσεων APS σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος. Υπάρχει μόνο ένας μικρός αριθμός αναφορών περιστατικών ασθενών που εμφάνισαν εκδηλώσεις APS σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και κυρίως AH, αλλά δεν έχει εκτιμηθεί ποτέ η

πραγματική συχνότητα των αντι-CL αντισωμάτων στην ομάδα αυτή των ασθενών ούτε έχει διερευνηθεί η κλινική τους σημασία.

Στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκαν ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος για την παρουσία αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων. Πιο αναλυτικά στο γενικό μέρος: α. γίνεται εισαγωγή σε βασικές γνώσεις ανοσολογίας. β. αναλύονται τα κυριότερα αυτοαντισώματα. γ. περιγράφεται εν συντομία το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο. δ. αναφέρονται βασικά στοιχεία για την επιδημιολογία, την κλινική εικόνα, τα εργαστηριακά ευρήματα, την παθογένεια και την θεραπεία των αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος. Στο ειδικό μέρος παρουσιάζεται α. η συχνότητα ανίχνευσης των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες ασθενών που μελετήθηκαν. β. η συσχέτιση της παρουσίας των αυτοαντισωμάτων αυτών με επιδημιολογικά, δημογραφικά, εργαστηριακά, ιστολογικά και ιολογικά δεδομένα. γ. γίνεται προσπάθεια ταυτοποίησης των αντισωμάτων αυτών μελετώντας την εξάρτησή τους από συμπαραγόντες και την ισχύ δέσμευσής του στο αντιγόνο, καθώς επίσης και συσχετισμός με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους που χαρακτηρίζουν το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο.

Τα παραπάνω συμπεράσματα αναμένεται να συμβάλουν σημαντικά στην τόσο στην κατανόηση της παθογένειας και την παρουσία εξωηπατικών συσχετίσεων των αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος, όσο και στην καλύτερη παρακολούθηση των ασθενών και ενδεχομένως καλύτερη θεραπευτική μας παρέμβαση.

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για την εκπόνηση της εργασίας αυτής υπήρξε πολύτιμη βοήθεια από πολλούς στους οποίους εκφράζω

την βαθιά μου ευγνωμοσύνη. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ. Ν. Σταθάκη για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του από τον σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση της διατριβής. Ευχαριστώ επίσης θερμά τον δάσκαλο μου, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γ.Ν. Νταλέκο για την υπόδειξη του θέματος, την στενή έμπειρη και υπεύθυνη παρακολούθηση και καθοδήγηση, και την πολύτιμη βοήθεια σε κάθε στάδιο της εργασίας αυτής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Σ. Ποταμιάνο, για τις συμβουλές του και την γενικότερη συνδρομή του σε όλη την διάρκεια της εργασίας αυτής. Γενικότερα θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα τρία μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής για την ακούραστη και γενναιόδωρη προσφορά τους σε όλη την διάρκεια της παρουσίας μου στο Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογίας.

Οφείλω επίσης μεγάλη ευγνωμοσύνη στον συνάδελφο μου κ. Δ Μπογδανο, για τις παρατηρήσεις του και για την συμβολή του στην συγγραφή και διαμόρφωση του κειμένου. Ευχαριστώ επίσης θερμά τους Ιατρούς του Ηπατολογικού Ιατρείου για την λεπτομερή και ακριβή καταγραφή των στοιχείων και την συλλογή των δειγμάτων, καθώς και όλους τους συνεργάτες μου στο Εργαστήριο για την συμπαράσταση τους και την συνολική βοήθεια τους.



Α.ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΕΙΔΙΚΗ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ

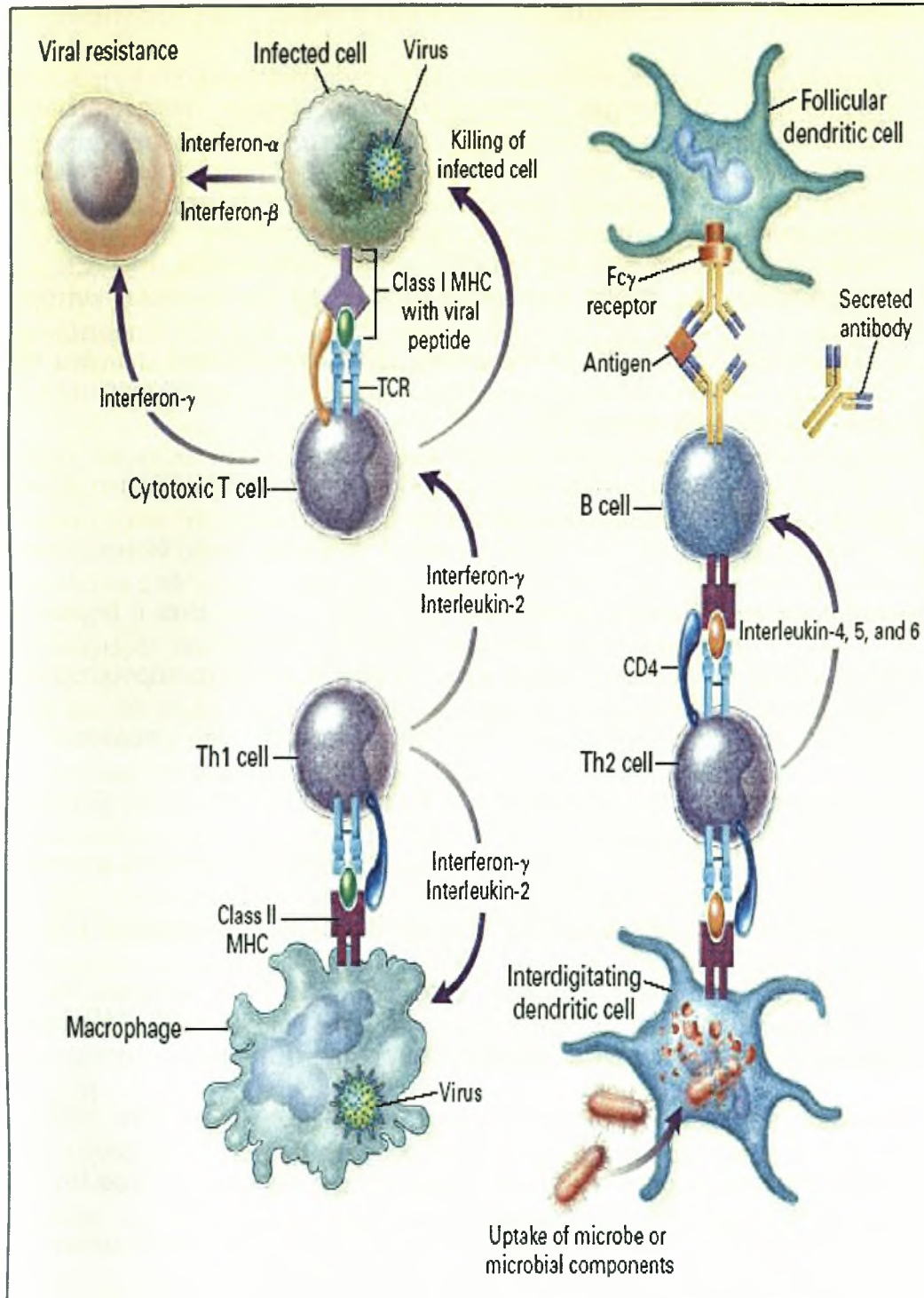
Η λειτουργία της απάντησης και αντίστασης του οργανισμού στα παθογόνα, ονομάζεται ανοσία και μπορεί να χωριστεί σε δύο κύριους τύπους, την έμφυτη ή φυσική ανοσία και την επίκτητη ή προσαρμοσμένη ή ειδική ανοσολογική απόκριση. Κύρια κύτταρα της φυσικής ανοσίας είναι τα φαγοκύτταρα (μακροφάγα, ουδετερόφιλα), τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK), τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα, ενώ σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν και διαλυτοί παράγοντες του πλάσματος με κυριότερους τα συστατικά του συμπληρώματος, και δευτερευόντως άλλα στοιχεία όπως η C αντιδρώσα πρωτεΐνη, η πρωτεΐνη σύνδεσης της μαννόζης των κολλεκτινών κ.λ.π. [1]. Αντίθετα η ειδική ανοσολογική απάντηση αποτελείται από την χυμική ανοσία που επιτελείται από αντισώματα που παράγονται από Β λεμφοκύτταρα, και από την κυτταρική ανοσία που επιτελείται από τα Τ λεμφοκύτταρα [1]. Οι φάσεις της ειδικής ανοσολογικής απόκρισης είναι τρεις: η φάση αναγνώρισης του αντιγόνου, η φάση ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων και η φάση εξουδετέρωσης του αντιγόνου. Παρακάτω αναφέρονται περιληπτικά τα σημαντικότερα συστατικά στοιχεία της ειδικής ανοσολογικής απόκρισης.

1.1. Β ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα Β λεμφοκύτταρα παράγουν ανοσοσφαιρίνες που έχουν ικανότητα σύνδεσης με αντιγόνο. Η αναγνώριση του αντιγόνου γίνεται μέσω της μεμβρανικής ανοσοσφαιρίνης των Β λεμφοκυττάρων και το σήμα διέγερσης μεταβιβάζεται με τη βοήθεια Igα-Igβ διμερών και με τη συμμετοχή κινασών

τυροσίνης στον πυρήνα του κυττάρου [2]. Εκεί γίνεται ενεργοποίηση του Β λεμφοκυττάρου και μέσω διαδικασίας VDJ ανασυνδυασμού των γονιδίων των αλυσίδων παράγεται τελικά ανοσοσφαιρίνη με την ίδια αντιγονική ειδικότητα, όπως της μεμβρανικής ανοσοσφαιρίνης [1]. Η πρώτη ανοσοσφαιρίνη που παράγεται είναι τάξης IgM αλλά εν συνεχεία υπό την επίδραση κυτταροκινών που παράγονται από τα μακροφάγα ή τα Τ λεμφοκύτταρα, γίνεται γονιδιακή μεταστροφή τάξης και αρχίζει η παραγωγή τάξης IgG ανοσοσφαιρινών.

Πολλές φορές υπάρχουν στην επιφάνεια του Β λεμφοκυττάρου και μόρια όπως τα CD19, CD21 και TAPA-1 τα οποία λειτουργούν ως συν-υποδοχείς αντιγόνου δηλαδή ισχυροποιούν την σύνδεση του αντιγόνου πάνω στη μεμβρανική ανοσοσφαιρίνη. Επίσης φαίνεται ότι πολύ λίγα αντιγόνα κυρίως πολυσακχαρικά, μπορούν να προκαλέσουν άμεσα την παραγωγή αντισωμάτων από τα Β λεμφοκύτταρα, χωρίς τη μεσολάβηση Τ λεμφοκυττάρων [3]. Τα αντιγόνα αυτά ονομάζονται θυμοανεξάρτητα και οδηγούν συνήθως στην παραγωγή χαμηλής συγγένειας IgM αντισωμάτων [3]. Αντίθετα τα περισσότερα αντιγόνα είναι θυμοεξαρτώμενα, δηλαδή χρειάζονται την παρεμβολή των Τ4 λεμφοκυττάρων, που παρέχουν βοηθητικά σήματα στα Β κύτταρα για την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους. Η αρχική σύνδεση γίνεται μέσω του CD4 μορίου του Τ κυττάρου με μόριο HLA τάξης II του Β κυττάρου, ενώ το βοηθητικό σήμα παρέχεται μέσω σύνδεσης του μορίου CD40 του Β κυττάρου με τον CD154/CD40L συνδέτη του Τ4 και υπό την επίδραση κυτταροκινών, κυρίως ιντερλευκίνης 2 (IL-2), IL-4, IL-5 και IL-6 που παράγονται από τα Τ βοηθητικά κύτταρα (Σχήμα 1) [4].



Σχήμα 1: Λεμφοκυτταρική απόκριση. Σε κάθε περίπτωση απαιτείται ενεργοποίηση του λεμφοκυττάρου από το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα (CD8 +) αναγνωρίζουν το αντιγόνο μαζί με μόρια MHC τάξης I, και στρέφονται κατά κυττάρων μολυσμένων από μικρόβια. Παράλληλα εκκρίνουν κυτταροκίνες (ιντερφερόνη γ) που μαζί με άλλες κυτταροκίνες που παράγονται από τα μολυσμένα κύτταρα προάγουν την ανοσία. Τα βοηθητικά T λεμφοκύτταρα (CD4+) αναγνωρίζουν το αντιγόνο μαζί με μόρια MHC τάξης II. Τα Th1 λεμφοκύτταρα μετά την ενεργοποίησή τους εκκρίνουν ιντερφερόνη και IL-2 οι οποίες ενεργοποιούν μακροφάγα και ενισχύουν την δραστηριότητα των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων. Τα Th2 λεμφοκύτταρα μετά την ενεργοποίησή τους εκκρίνουν IL-4,5 και 6 και διεγείρουν τα B λεμφοκύτταρα για την παραγωγή αντισωμάτων [4].

1.2. ΜΕΙΖΟΝ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

Το Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex; MHC), είναι ένα σύνολο εξαιρετικά πολύμορφων γονιδίων, χαρακτηριστικό των σπονδυλωτών, που κωδικοποιούν την παραγωγή γλυκοπρωτεϊνών, τις οποίες συναντάμε στην επιφάνεια διαφόρων κυττάρων (με διαφορετική κατανομή). Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται αντιγόνα HLA (Human Leucocyte Antigens) [5].

Τα HLA αντιγόνα κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες που χαρακτηρίζονται ως τάξεις I, II και III. Τα τάξης I και II αντιγόνα είναι διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες, βασικός βιολογικός ρόλος των οποίων είναι η δημιουργία συμπλέγματος με αντιγόνα, πάνω στην επιφάνεια αντιγόνο-παρουσιαστικών κυττάρων (antigen presenting cells-APCs), ώστε να μπορέσουν να αναγνωριστούν από τον υποδοχέα των T κυττάρων (TCR) και να οδηγήσουν στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Τα τάξης III αντιγόνα αποτελούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην λειτουργία του συμπληρώματος (C2, C4, Bf), TNF και πρωτεΐνες θερμικού shock [6]. Τα HLA αντιγόνα τάξης I εκφράζονται στην επιφάνεια σχεδόν όλων των εμπύρηνων κυττάρων, με ορισμένες εξαιρέσεις, ενώ η έκφραση των HLA αντιγόνων τάξης II, περιορίζεται κατά κύριο λόγο στα B λεμφοκύτταρα, και κατά δεύτερο λόγο στα ενεργοποιημένα T κύτταρα, στα μονοκύτταρα και στα δενδριτικά κύτταρα [7]. Εντούτοις ορισμένα άλλα κύτταρα όπως οι ινοβλάστες και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορούν να εκφράσουν MHC II στην επιφάνεια τους αν δεχτούν την επίδραση κυτταροκινών όπως TNF, IFN- γ και IL 10 [8].

Η τάξη των MHC-μορίων που θα συνδεθούν με το αντιγόνο που παρουσιάζεται στην μεμβράνη του APC, καθορίζει και τον υποπληθυσμό των

Τ λεμφοκυττάρων που πρόκειται να ενεργοποιηθούν. Τα HLA αντιγόνα τάξης I συνδέονται με ενδογενή αντιγόνα (επεξεργασμένα προϊόντα ιών ή βακτηρίων) και τα παρουσιάζουν σε κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CD8+). Αντίθετα τα HLA αντιγόνα τάξης II, αντιγόνο-παρουσιάζουν εξωγενή αντιγόνα (προϊόντα βακτηρίων, ή ευκαρυωτικών παρασίτων) και ενεργοποιούν τα βοηθητικά Τ λεμφοκύτταρα (CD4+) [9].

Το MHC εδράζεται στο χρωμόσωμα 6 και αποτελείται από τρεις δομικές περιοχές (regions), που αντιστοιχούν στις τρεις τάξεις των μορίων HLA (class I, II και III). Κάθε τάξη αποτελείται από αθροίσματα γονιδίων (clusters). Η τάξη I αποτελείται από τρεις ομάδες γενετικών τόπων A, B και C, με εντυπωσιακό πολυμορφισμό: για παράδειγμα στους Καυκάσιους υπάρχουν 60 HLA-A, 138 HLA-B και 40 HLA-C αλληλόμορφα γονίδια. Ο συνδυασμός των γενετικών αυτών τόπων, δημιουργεί το τελικό HLA αντιγόνο. Αντίστοιχα για τα HLA αντιγόνα τάξης II υπάρχουν 8 DPα, 62 DPβ, 16 DQα, 25 DQβ, 1 DRα και 122 DRβ αλληλόμορφα γονίδια. Λόγω της στενής τους σύνδεσης, ο συνδυασμών των αλληλόμορφων γονιδίων κληρονομείται σαν ενιαία μονάδα, που λέγεται απλότυπος και ο οποίος χαρακτηρίζει πληθυσμούς και φυλετικές ομάδες [9].

Η συχνότητα ορισμένων HLA γονιδίων ανευρίσκεται αυξημένη σε κάποια νοσήματα, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Η πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών αφορά κυρίως HLA αντιγόνα τάξης II [10] (Πίνακας 1.1).

1.3. Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα Τ λεμφοκύτταρα ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες: τα T4 βοηθητικά λεμφοκύτταρα που έχουν το επιφανειακό μόριο CD4 και τα κυτταροτοξικά και κατασταλτικά κύτταρα που έχουν το επιφανειακό μόριο CD8. Τα T4

διακρίνονται επίσης σε δύο υποκατηγορίες: τα Th1 που μπορούν να παράγουν IL-2 και INF- γ και τα Th2 που δεν μπορούν να παράγουν IL-2 και INF- γ αλλά μπορούν να εκκρίνουν IL-4, 5, 6 και 10 (Σχήμα 1) [1, 4]. Πρόσφατα έχει αναγνωρισθεί και μια τρίτη κατηγορία βοηθητικών T λεμφοκυττάρων, τα Th3, που εκκρίνουν κυρίως TGF- β 1 έχοντας κατασταλτική δράση στην παραγωγή κυτταροκινών από τα Th1 και γενικά φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ισορροπίας στη παραγωγή των Th1 και Th2 κυτταροκινών [11, 12].

Πίνακας 1.1. Συσχέτιση HLA αντιγόνων και νοσημάτων [10, 13, 14].

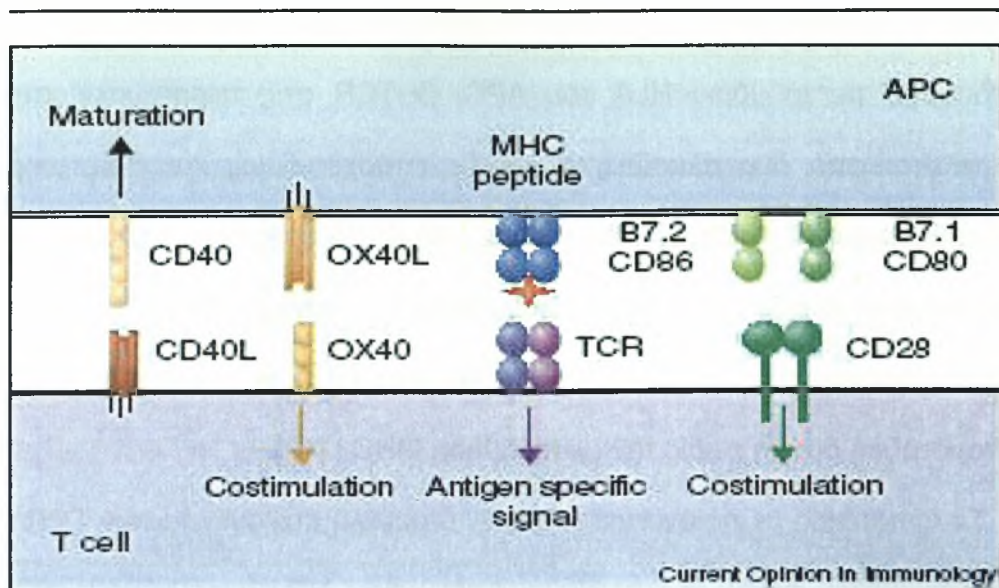
ΝΟΣΗΜΑ	HLA-ΑΝΤΙΓΟΝΑ	ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ
Αυτοάνοση Ηπατίτιδα	DR3	14
Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα	B27	87.4-150
Σύνδρομο Reiter	B27	37-40
Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	DR4	4.2-9
Νεανική ρευματοειδής αρθρίτιδα	DR8	8
Σύνδρομο Αδαμαντιάδη-Bechcet's	B51	3.8
Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος	DR3	5.8
Ινσουλινοεξαρτώμενος Διαβήτης	DR3	3.3-5
	DR4	6-7
	DR 3/4	20
	DR3,DQ8/DQw2	30
	DR2	0.19-0.25
	DQ6	0.02
Νόσος Addison	DR3	5-6.3
Νόσος Grave's	DR3	3.7-4
Θυρεοειδίτιδα Hashimoto	DR11	3.2
Θυρεοειδίτιδα κατά την λοχεία	DR4	5.3
Κοιλιοκάκη	DQA1*501/DQB1*201	3.6-6
	DQA1*301/DQB1*302	6-10
	DR3	10.8-12
	DR7, 11	6-10
Ερπητοειδής δερματίτιδα	DR3	15.9
Πέμφιγα	DR4	14.4-24
Ψωρίαση	Cw6	13.3
Σύνδρομο Sjogren - Σύνδρομο Sicca	DR3	10
Μυασθένεια Gravis	DR3	2-2.5
	B8	3.4
Μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα	DR3	12
IgA νεφροπάθεια	DR4	14
Οξεία πρόσθια ρογοειδίτιδα	B27	>20
Σύνδρομο Goodpasture	DR2	15.9
Πολλαπλή σκλήρυνση	DR2	4.1
	DQ6	12
Ναρκοληψία	DQ6	>38
Ρετινοχοριοπάθεια Birdshot	A29	103

Το T λεμφοκύτταρο αναγνωρίζει το αντιγόνο μέσω του TCR πάντα σε συνδυασμό με το μόριο HLA του APC. Ο TCR στις περιπτώσεις αυτές αποτελείται από δυο αλυσίδες α και β. Υπάρχει όμως και ένας μικρός υποπληθυσμός T κυττάρων που είναι CD4/CD8 αρνητικός και έχει έναν δεύτερο τύπο υποδοχέα TCR $\gamma\delta$ που μπορεί να αναγνωρίσει μη πρωτεϊνικά αντιγόνα στην φυσική τους μορφή. Η κυτταρική αυτή σειρά φαίνεται να έχει κυτταροτοξική δράση χωρίς την μεσολάβηση MHC I [15].

Σε αντιστοιχία με τις ανοσοσφαιρίνες, η μεγάλη ετερογένεια των TCR για την αναγνώριση ποικίλων αντιγόνων γίνεται μέσω VDJ ανασυνδυασμού του γονιδίου [16].

Για την σύνδεση του T λεμφοκυττάρου με το αντιγόνο και την ενεργοποίησή του είναι επίσης απαραίτητη η συμμετοχή μιας σειράς μορίων (Σχήμα 2) [1, 4, 17]:

- Σύνδεση του TCR με το σύμπλεγμα αντιγόνου/HLA.
- Ενίσχυση της σύνδεσης με τα μόρια CD4 ή CD8 (με τις πολυμορφικές θέσεις των HLA II ή I αντίστοιχα).
- Μόρια συγκόλλησης LFA-1, CD-2, CD45 του T λεμφοκυττάρου που συνδέονται με τους αντίστοιχους συνδέτες ICAM-1,-2,-3, LFA-3 και CD45L του APC.
- Συν-διεγερτικά μόρια B7.1/B7.2 (CD80/CD86) στην επιφάνεια του APC που συνδέεται με το CD28 στην επιφάνεια του T_H κυττάρου.
- Κυτταροκίνες όπως IL-1, IL6, INF- γ , TNF α που συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των T κυττάρων, με αποτέλεσμα την παραγωγή IL-2 και την επαγωγή της έκφρασης του υποδοχέα της IL-2 στην επιφάνειά τους.



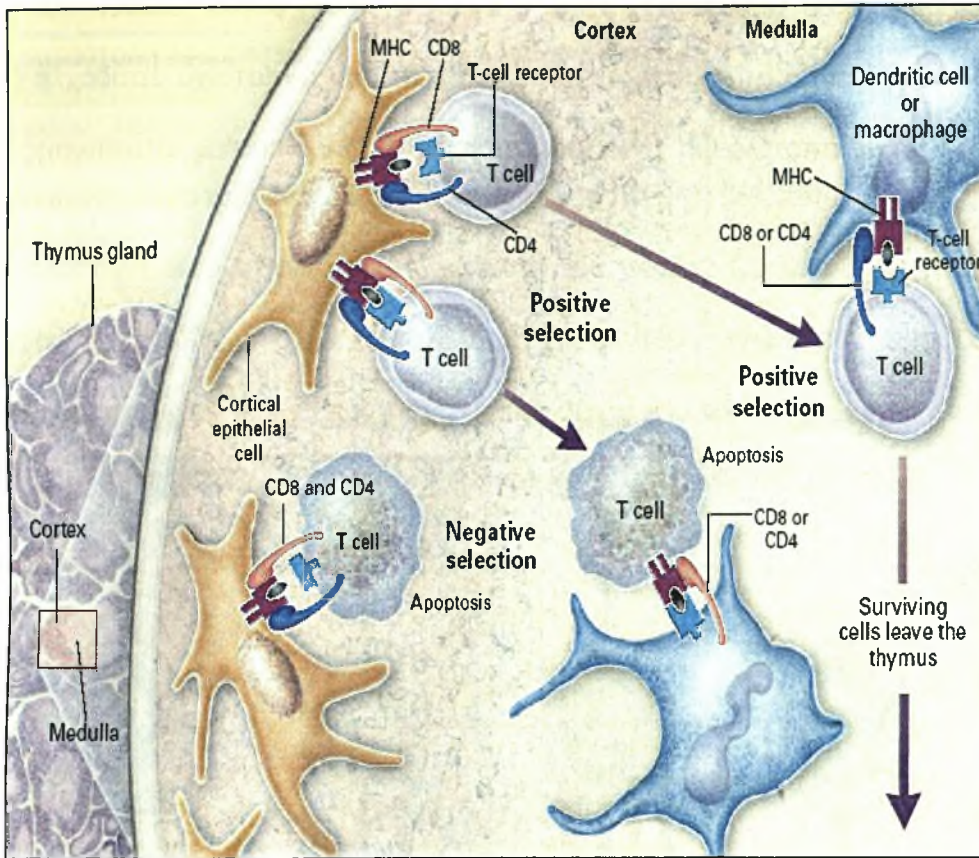
Σχήμα 2: Η ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου από το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο απαιτεί επιπλέον την ύπαρξη μιας μεγάλης ποικιλίας σημάτων που παραγματοποιούνται μέσω συνδέσεων μεταξύ μορίων συγκόλλησης, ενισχυτικών και συνδιεγερτικών μορίων με τους αντίστοιχους υποδοχείς αυτών [17].

1.4. ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΟΧΗ

Ανοχή ονομάζεται η έλλειψη ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού απέναντι σε ένα αντιγόνο. Μέσω αυτής της διαδικασίας το ανοσολογικό μας σύστημα δεν επιτίθεται απέναντι σε αυτοαντιγόνα, δηλαδή σε δομικά και λειτουργικά στοιχεία των κυττάρων, αναγνωρίζοντάς τα ως "ίδια".

Δύο είναι οι σημαντικότεροι μηχανισμοί της ανοχής, η κεντρική και η περιφερική [18, 19]. Η κεντρική ανοχή γίνεται στο θύμο αδένα μέσω μιας διαδικασίας θετικής και αρνητικής επιλογής [19, 20]. Αρχικά γίνεται θετική επιλογή, δηλαδή επιζούν μόνο τα λεμφοκύτταρα που μπορούν να αναγνωρίσουν τα MHC μόρια, ενώ ακολουθεί η αρνητική επιλογή κατά την οποία αντιδραστικά κύτταρα έναντι αυτοαντιγόνων καταστρέφονται με μηχανισμούς απόπτωσης και δεν προωθούνται στην κυκλοφορία. Απαραίτητη

βέβαια προϋπόθεση είναι η παρουσίαση των αυτοαντιγόνων αυτών στο θύμο αδένα (Σχήμα 3) [19-21].

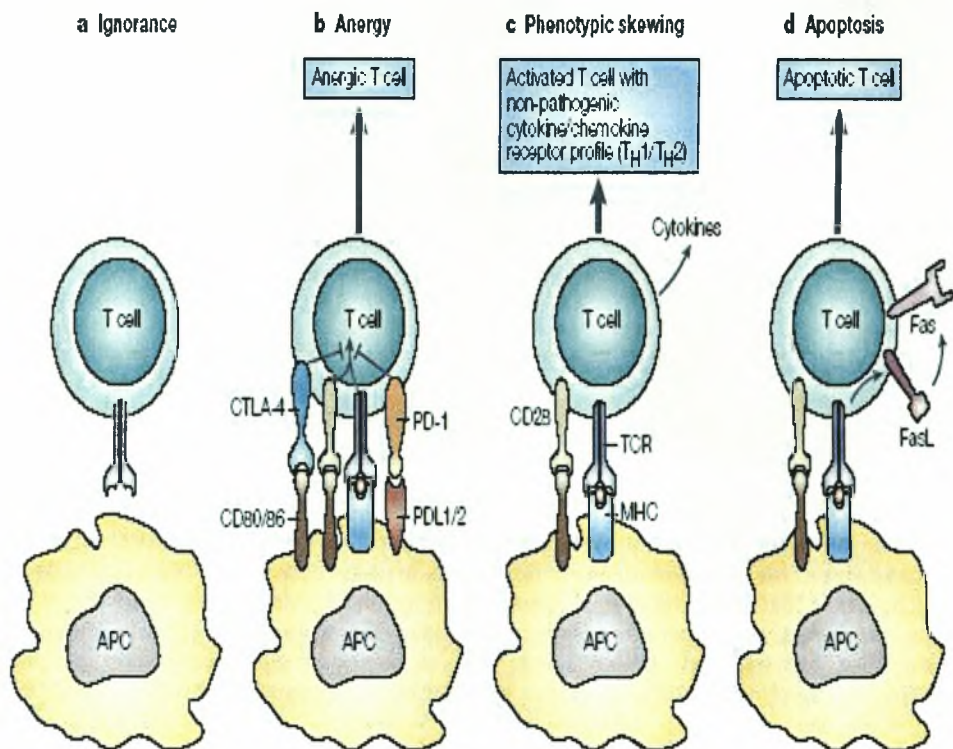


Σχήμα 3: Θετική και αρνητική επιλογή λεμφοκυττάρων στον θύμο. Τα T λεμφοκύτταρα που παράγονται αρχικά έχουν υποδοχείς με διαφορετική συγγένεια έναντι των μορίων MHC τάξης II. Έτσι αρχικά επιλέγονται να ωριμάσουν μόνο τα λεμφοκύτταρα εκείνα που έχουν ικανότητα να αναγνωρίζουν τα μόρια MHC (θετική επιλογή). Μετά την παρουσίαση στον θύμο των διαφόρων αντιγόνων, επιλέγονται να ωριμάσουν και να προωθηθούν στην κυκλοφορία μόνο τα λεμφοκύτταρα εκείνα που δεν αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα, ενώ τα λεμφοκύτταρα εκείνα που μπορούν να αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα καταστρέφονται με αποπτωτικές διαδικασίες (αρνητική επιλογή) [19].

Επομένως η ανοχή μπορεί να πραγματοποιηθεί με μια σειρά από διαφορετικούς μηχανισμούς (Σχήμα 4) [21]:

- Με ανοσολογική άγνοια (ignorance). Πολλά λεμφοκύτταρα δεν είναι δυνατόν υπό φυσιολογικές συνθήκες να ενεργοποιηθούν διότι δεν μπορούν να έρθουν ποτέ σε επαφή με το αντιγόνο εξαιτίας ύπαρξης φραγμών π.χ. αιματοεγκεφαλικός ή διότι είναι ενδοκυττάρια συστατικά.

- Με διαγραφή (deletion) η οποία γίνεται κυρίως κεντρικά. Με μηχανισμούς που είναι ακόμα υπό διερεύνηση, φαίνεται ότι τα αυτοδραστικά κύτταρα αρχίζουν και εκφράζουν στην επιφάνεια τους μόρια CD95, και έτσι αναγνωρίζονται από κύτταρα που διαθέτουν τον αντίστοιχο υποδοχέα (Fas Ligand) με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της διαδικασίας απόπτωσης [22, 23].



Σχήμα 4: Βασικοί μηχανισμοί περιφερικής ανοχής α. Άγνοια. Τα αυτοδραστικά T κύτταρα δεν έρχονται ποτέ σε επαφή με το αντιγόνο που αναγνωρίζουν και βρίσκονται σε μια κατάσταση ανοσολογικής άγνοιας β. Αναστολή ενεργοποίησης. Το T κύτταρο έρχεται σε επαφή με το αντιγόνο αλλά καθίσταται ανεργικό λόγω υπερκέρφασης μορίων CTLA-4 or PD-1 που συνδέονται με τους αντίστοιχους συνδέτες CD80/86, PDL1/2. γ. Εκτροπή. Τα T κύτταρα παρόλο που ενεργοποιούνται από την επαφή τους με το αντίστοιχο αντιγόνο δεν προάγουν αυτοανασία λόγω έκφρασης μη παθολογικού φαινοτύπου κυτταροκινών και υποδοχέων αυτών. δ. Διαγραφή. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνεια τους μόρια που προάγουν μηχανισμούς απόπτωσης. APC, αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο; CTLA-4; cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4; FasL, συνδέτης του Fas ; MHC, μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας ; PD-1; Υποδοχέας προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1; PDL, συνδέτης PD-1 ; TCR, υποδοχέας T κυττάρου; TH cell, βοηθητικά T λεμφοκύτταρα [20].

- Με εκτροπή (abortion). Γίνεται επίσης κεντρικά και αναφέρεται στην αναστολή της περαιτέρω διαφοροποίησης των λεμφοκυττάρων.
- Με καταστολή (suppression). Υπάρχουν κατασταλτικά T λεμφοκύτταρα που μπορούν εκλεκτικά να εξουδετερώσουν αυτοδραστικά κύτταρα μέσω παραγωγής ανασταλτικών κυτταροκινών (IL-10, TGFβ) [24, 25]
- Με αναστολή ενεργοποίησης. Η έκφραση του μορίου CD52/CTLA4 στα T λεμφοκύτταρα οδηγεί στην αναστολή της περαιτέρω ενεργοποίησής τους διότι το μόριο αυτό έχει υψηλότερη χημική συγγένεια σύνδεσης με τα μόρια CD80/B7.1 και CD86/B7.1 έναντι του φυσιολογικού συνδέτη CD28 [26].

2.ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Παραγωγή αυτοαντισωμάτων παρατηρείται όταν για κάποιο λόγο έχουμε υπερκερασμό των μηχανισμών της ανοσολογικής ανοχής (breakdown of tolerance) με αποτέλεσμα να οδηγούμαστε στην απόκριση έναντι ιδίων αντιγόνων. Επειδή υπάρχουν πολλά σημεία ελέγχου του μηχανισμού της ανοχής σε διάφορα επίπεδα της ανοσολογικής απόκρισης, υπάρχουν ποικίλοι τρόποι με τους οποίους μπορούμε να οδηγηθούμε στην αυτοανοσία. Ένα σημαντικό στοιχείο όμως φαίνεται να είναι η ενεργοποίηση από διάφορους παράγοντες των αυτο-ανοσοδραστικών κυττάρων που υπάρχουν φυσιολογικά στην κυκλοφορία αλλά βρίσκονται σε κατάσταση ανεργίας (είτε λόγω καταστολής τους από Th3 κύτταρα είτε διότι συνδέονται με πολύ χαμηλή συγγένεια με τα αυτοαντιγόνα και δεν ενεργοποιούνται).

Αυτή η ενεργοποίηση μπορεί να συμβεί με διάφορους τρόπους:

- Η ιστική βλάβη συνεπεία της λοίμωξης μπορεί να απελευθερώσει στην κυκλοφορία αντιγόνα που είναι ενδοκυττάρια ή γενικά αθέατα από το ανοσολογικό σύστημα (κρυπτικά αυτοαντιγόνα) με αποτέλεσμα ενεργοποίηση των ειδικών για αυτά λεμφοκυττάρων [27].
- Προϊόντα των μικροοργανισμών όπως και κυτταροκίνες που παράγονται στο σημείο της φλεγμονής μπορούν να λειτουργήσουν σαν συν-διεγερτικά μόρια ενισχύοντας την αντιγονο-παρουσίαση [28, 29].
- Πολλές τοξίνες διαφόρων μικροοργανισμών όπως για παράδειγμα η σταφυλοκοκκική εντεροτοξίνη και δομικά στοιχεία ιών όπως ο κυτταρομεγαλοιός (CMV) και ο Epstein-Barr, δρουν σαν υπεραντιγόνα, προκαλώντας μη ειδική πολυκλωνική ενεργοποίηση μεγάλης ομάδας λεμφοκυττάρων [30].

- Προσκόλληση ξένης απτίνης σε πρωτεΐνη κυτταρικής επιφάνειας μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία αντισωμάτων με δράση αυτοαντισώματος, όπως π.χ. η χορήγηση κινιδίνης μπορεί να προκαλέσει αιμολυτική αναιμία. Εναλλακτικά, η χορήγηση κάποιου φαρμάκου μπορεί να οδηγήσει στην τροποποίηση αυτοαντιγόνων. Με τον μηχανισμό αυτό μπορεί να εξηγηθεί η παρουσία των αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA) στην περίπτωση του φαρμακευτικού λύκου.
- Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός είναι η μοριακή μίμηση. Όταν ένα συστατικό στοιχείο ή ένα προϊόν ενός λοιμογόνου παράγοντα έχει μεγάλη ομολογία με κάποιο «ίδιο» πεπτίδιο, τότε τα Β και Τ λεμφοκύτταρα που θα ενεργοποιηθούν μπορεί να στραφούν και έναντι του «ίδιου» αντιγόνου. Τέτοιες ομοιότητες έχουν βρεθεί π.χ. μεταξύ στρεπτοκόκκου και καρδιακού μυός (παθογένεια ρευματικού πυρετού), ιού Coxsackie και παγκρέτος (πιθανός μηχανισμός σακχαρώδους διαβήτη), hsp60 και αποκαρβοξυλάσης γλουταμινικού οξέος (ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης) (Πίνακες 2.1 και 2,2).

Πίνακας 2.1. Αυτοάνοσες διαταραχές στις οποίες έχουν διαπιστωθεί συσχετισμοί με ιούς.

Νόσος	Ιός
Αρθροπάθειες	HTLV-1
Νόσοι του κεντρικού νευρικού συστήματος	Ιός της Ιλαράς
Σύνδρομο Guillain-Barre	CMV, EBV
Αιμολυτική αναιμία	LCMV
Ερπητική κερατίτιδα	HSV-1
Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης	CVB
Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης	Ιός ερυθράς
Πολλαπλή σκλήρυνση	HHV-6
Πολλαπλή σκλήρυνση	EBV
Μυασθένεια Gravis	HCV
Συστηματικός ερυθματώδης λύκος	EBV
Διάφορες ρευματικές παθήσεις.	HCV

HTLV-1: human T-lymphotropic virus 1; ανθρώπινος T-λεμφοτροπικός ιός 1, CMV: κυτταρομεγαλιός, EBV: ιός Epstein-Barr, LCMV: lymphocytic choriomeningitis virus; Λεμφοτρόπος ιός χορειομηνιγγίτιδας, HSV-1: herpes simplex virus 1; ιός απλού έρπητα τύπου 1, CVB: coxsackie virus B; ιός coxsackie B, HHV-6: human herpes virus 6; ανθρώπινος ερπητοϊός 6, HCV: ιός της ηπατίτιδας C.

Πίνακας 2.2: Παραδείγματα μοριακής μίμησης [31]

Νόσος	Όργανο/Αυτοαντιγόνο	Λοίμωξη/αντιγόνο
Αρθρίτιδα Lyme	Αρθρώσεις/LFA 1	Borrelia burgdorferi/ Osp 1
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Αρθρώσεις/Hsp60	Mycobacteria/ Hsp65
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Αρθρώσεις/DRB1*0401	E coli/ DNAj
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Αρθρώσεις/DRB1*0401	EBV/ gp110
Πολλαπλή σκλήρυνση	Εγκέφαλος/Μυελίνη	EBV/ capsid
Πολλαπλή σκλήρυνση	Εγκέφαλος/Μυελίνη	Papillomavirus / L2
Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης	B κύτταρα παγκρέατος/GAD	Coxsackie B/ P2-C
Σύνδρομο stiff man	B κύτταρα παγκρέατος/GAD	CMV/ DNA binding protein
Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	Χολικά αγγεία/ PDC	E coli/ PDC-E2
Μυοκαρδίτιδα	Καρδιά/ μυοσίνη	Chlamydia/ 60Kd protein
Ρευματικός πυρετός	Καρδιά/ καρδιακή μυοσίνη	Streptococci/ M proteinb
Νόσος Chagas	Καρδιά/ β1-αδρενεργικός υποδοχέας	Trypanosoma cruzi/ ribosomal protein
Μυασθένεια Gravis	Μυς/υποδοχέας ακετυλοχολίνης	Herpes simplex/ gpD

LFA-1:leukocyte function associated antigen-1; πρωτεΐνη συσχετιζόμενη με την λειτουργικότητα του λευκοκυττάρου, osp1:outer surface protein A;πρωτεΐνη A της εξωτερικής επιφάνειας, hsp60/65: heat sock protein 60/65;πρωτεΐνες θερμικού σοκ 60/65, DNAj: j domain chaperone; j πρωτεΐνη απόπτωσης που συνδέεται στο DNA, EBV: ιός Epstein-Barr, gp110: γλυκοπρωτεΐνη 110 kDa, L2: minor καψιδική πρωτεΐνη του ιού, GAD:glutamic acid dehydroxylase;αποκαρβοξυλάση γλουταμικού οξέος, P2-C: εσωτερική μη καψιδική πρωτεΐνη του ιού, CMV: κυτταρομεγαλιός, PDC-E2: pyruvate dehydrogenase complex subunit E2; Υπομονάδα E2 του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής δευδρογενάσης, gpD: γλυκοπρωτεΐνη D.

▪ Γενετική προδιάθεση.

Τα αυτοδραστικά λεμφοκύτταρα δέχονται την επίδραση ενός μεγάλου αριθμού σημάτων κάποια από τα οποία προάγουν την ανοχή (ανοχογεννητικά σήματα) όπως IL 2, FasL/Fas, TGF-β, IL 10, CTLA4, FcγR2b, CD5, CD22, ενώ άλλα προάγουν την ανοσία (ανοσο-γεννητικά) όπως LPS, TNFα, C3d/CD21, B7/CD28 CD40L/CD40, IL-7, IL-15. Η αυτοάνοση απόκριση, δεν είναι τίποτε άλλο παρά η διαταραχή της ισορροπίας αυτής (είτε από έλλειψη ανοχο-γεννητικών σημάτων είτε από την υπερ-δραστηριοποίηση ανοσο-γεννητικών) [32]. Η γενετική προδιάθεση αποτελεί έναν από τους παράγοντες, που οδηγούν σε αυτοανοσία και κυρίως ο απλότυπος του HLA [21]. Η έκταση της εξουδετέρωσης των αυτοδραστικών T λεμφοκυττάρων στο θύμο ποικίλλει, εξαρτώμενη από το γονότυπο των MHC II μορίων του κάθε ατόμου: ορισμένοι MHC II γονότυποι μπορεί να αποτυγχάνουν να οδηγήσουν σε αρνητική επιλογή αυτοδραστικών T λεμφοκυττάρων ή σε θετική επιλογή

ανοσορυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων, που καταστέλλουν τα αυτοδραστικά [33]. Κάτι ανάλογο μπορεί να συμβεί και στην περιφερική Τ λεμφοκυτταρική ανοχή κατά την παρουσίαση του αντιγόνου στα Τ λεμφοκύτταρα μέσω του MCH II. Επιπρόσθετα, η ανάλυση του ανθρώπινου γενώματος έδειξε ότι κάποια γονίδια κυτταροκινών, υποδοχέων κυτταροκινών και άλλων ανοσορυθμιστικών μορίων μπορεί να σχετίζονται με γενετική προδιάθεση για αυτοανοσία [21].

Τα αυτοαντισώματα αποτελούν σημαντικό τμήμα της αυτοάνοσης αντίδρασης και βρίσκονται συχνά σε συνδυασμό με κάποια συγκεκριμένη νόσο (Πίνακας 2.3). Στην τελευταία περίπτωση υπάρχουν τρεις πιθανές εκδοχές: i) τα αυτοαντισώματα να ευθύνονται για τις βλάβες της νόσου, ii) η νόσος προηγείται και μέσω πρόκλησης ιστικής βλάβης παράγονται αυτοαντισώματα, iii) υπάρχει κάποιος παράγοντας, που οδηγεί τόσο στην εμφάνιση των βλαβών όσο και στην παραγωγή των αυτοαντισωμάτων [33]. Τα αυτοαντισώματα μπορεί να υπάρχουν ως 'φυσικά' αυτοαντισώματα, που συναντώνται σε φυσιολογικά άτομα, είναι συνήθως χαμηλής συγγένειας IgM αντισώματα και αντιδρούν με ποικιλία αυτοαντιγόνων αλλά ασθενώς [33, 34]. Τα 'φυσικά' αυτά αυτοαντισώματα, όμως, μπορεί να υποστούν ισοτυπική μετατροπή, με τη βοήθεια ενεργοποιημένων Τ λεμφοκυττάρων και να γίνουν IgG, τα οποία έχουν μεγάλη συγγένεια προς το αυτοαντιγόνο και είναι δυνητικά παθογόνα [33, 34]. Επιπλέον, σωματικές μεταλλαγές των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών μπορεί να οδηγήσουν στην παραγωγή υψηλής συγγένειας IgG αυτοαντισωμάτων [33, 34]. Τα αυτοαντισώματα αυτά απαντώνται στις αυτοάνοσες νόσους.

Πίνακας 2.3: Παραδείγματα αυτοανόσων νοσημάτων με γνωστά αυτοαντιγόνα-στόχους [31]

Νόσος	Αυτοαντιγόνα	Συχνότητα (%)
ΟΡΓΑΝΟΕΙΔΙΚΕΣ		
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	Θυρεοσφαιρίνη, θυρεοϋπεροξειδάση	1-2%
Γαστρίτιδα	Αντλία Η/Κ ATPase, ενδογενής παράγοντας	1-2 σε άτομα > 60 χρ
Κοιλιοκάκη	Ιστική διαγλουταμινάση	0,2-1,1
Νόσος Graves	Υποδοχέας TSH	0,2-1,1
Λεύκη (vitiligo)	Τυροσινάση, συσχετιζόμενη πρωτεΐνη 2	0,4
Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης	Ινσουλίνη, αποκαρβοξυλάση γλουταμικού οξέος	0,2-0,4
Πολλαπλή σκλήρυνση	Μυελίνη, πρωτεολιπιδικό πεπτίδιο	0,01-0,15
Πέμφιγα	Δεσμογλεΐνες	<0,01-3
Μυασθένεια Gravis	Υποδοχέας ακετυλοχολίνης	<0,01
Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	Σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής δεϋδρογενάσης.	0,01-0,5
ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΕΣ		
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	IgG, φιμπρίνη, φιλαγγρίνη	0,8
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	Πυρηνικά αντιγόνα (DNA, ιστόνες, ριβονουκλεοπρωτεΐνες)	0,1
Πυλουμοσΐτιδα/δερματομωσΐτιδα	Αμινοάκυλο- t RNA συνθεάση, πυρηνικά αντιγόνα, μυϊκά αντιγόνα	<0,01

Η συχνότητα αναφέρεται στον γενικό πληθυσμό.

Τα αυτοαντισώματα -όπως και η αυτοανοσία γενικότερα- χωρίζονται σε οργανοειδικά και μη οργανοειδικά (non-organ specific, NOSA). Στις οργανοειδικές διαταραχές, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι τα αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν αντιγόνα, που είναι παρόντα στα όργανα στόχους [33]. Στη μη οργανοειδική αυτοανοσία λίγα είναι γνωστά για τα αντιγόνα, που αναγνωρίζονται από τα Τ λεμφοκύτταρα, τα οποία πιθανώς αναγνωρίζουν όχι το αντιγονικό πεπτίδιο, αλλά κάποιον ιδιότυπο του αντισώματος και στη συνέχεια βοηθούν τα Β λεμφοκύτταρα να πολλαπλασιαστούν [33]. Επιπλέον, τα αυτοαντισώματα εναντίον ενδοκυττάρων αντιγόνων θεωρούνταν, γενικώς, μη παθογενετικά, αλλά δευτερογενή αποτελέσματα της νόσου [35]. Πρόσφατα, όμως, από πειράματα σε ζώα με αυτοάνοση αρθρίτιδα, δείχτηκε ότι μεταφορά IgG (που στρέφονταν εναντίον του ενδοκυττάρου αντιγόνου ισομεράση της γλυκοζο-6-

φωσφατάσης) από τα νοσούντα ζώα προκάλεσε αρθρίτιδα στα υγιή ζώα λήπτες [36, 37].

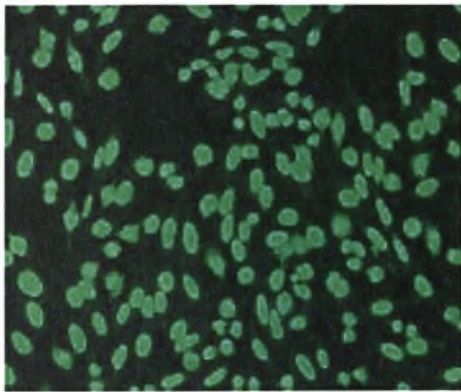
Παρακάτω αναφέρονται συνοπτικά ορισμένα από τα αυτοαντισώματα, στο πλείστο τους μη οργανοειδικά, και η κλινική τους σημασία.

2.1. ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ANA)

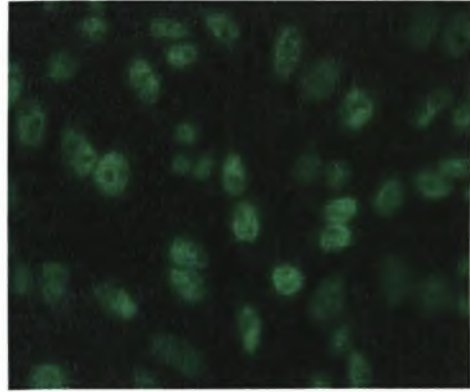
Τα ANA αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων τα οποία στρέφονται έναντι διαφόρων αντιγονικών συστατικών του πυρήνα. Στην καθημερινή πράξη ανιχνεύονται με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού (ΕΑΦ) χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα Her2 κυττάρα ή εναλλακτικά ιστικές τομές ήπατος και νεφρού τρωκτικών [38, 39]. Θεωρείται ευαίσθητη μέθοδος αλλά δεν αποτελεί ειδική εξέταση. Πάντως αποτελεί την εξέταση ρουτίνας για κάθε άτομο με υποψία αυτοάνοσου νοσήματος [40].

Τα ANA μπορούν να παρατηρηθούν σχεδόν σε όλα τα αυτοάνοσα νοσήματα, με διάφορα πρότυπα φθορισμού τα οποία εμφανίζουν σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων (Εικόνα 1) ενώ συγχρόνως μπορούν να παρατηρηθούν και πρότυπα κυτταροπλασματικού φθορισμού [39]. Καθένας από αυτά τα πρότυπα αντιστοιχεί σε διαφορετικούς αντιγονικούς στόχους, γεγονός που σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να έχει διαγνωστική αξία [41]. Στον ομοιογενή τύπο έχουμε ομοιόμορφο διάχυτο φθορισμό του πυρήνα, με βασικά αντιγόνα στόχους κυρίως τις ιστόνες. Ο τύπος αυτός παρατηρείται σε αρκετά αυτοάνοσα νοσήματα. Ο σπικτός τύπος χαρακτηρίζεται από εμφάνιση κοκκίων που διαφέρουν στο μέγεθος και τον αριθμό και χαρακτηρίζονται ανάλογα σε λεπτό ή αδρό σπικτό φθορισμό. Τέτοιο τύπο φθορισμού δίνουν κυρίως πυρηνικά αντιγόνα όπως τα Sm, U1RNP, La, Scl70 [39]. Ο αντι-

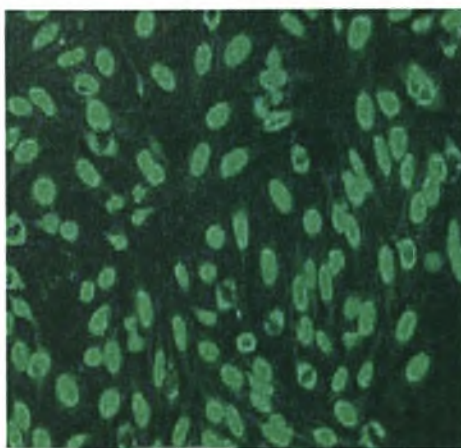
κεντρομεριδιακός τύπος έχει αριθμό κοκκίων που αντιστοιχούν στον αριθμό των χρωμοσωμάτων κάτι που μπορεί να φανεί κυρίως στα μιτωτικά κύτταρα. Το αυτοαντίσωμα αυτό εμφανίζεται σε υψηλή συχνότητα στο σύνδρομο CREST (Calcinosis cutis, Raynaud's phenomenon, Esophageal involvement, Sclerodactyly, Telangectasia), και σε μικρότερο ποσοστό στο διάχυτο σκληρόδερμα και στο φαινόμενο Raynaud [39]. Τέλος στον πυρηνισκικό τύπο το αντιγόνο στόχος είναι κυρίως το 4 ή 6s RNA του πυρηνίσκου και απαντάται κυρίως σε καταστάσεις όπως το σκληρόδερμα, το σύνδρομο Sjogren και ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (ΣΕΛ) [39].



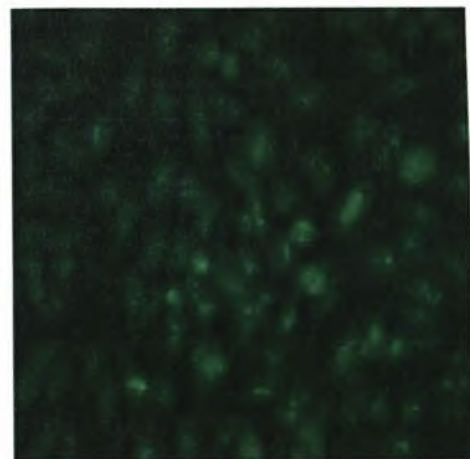
1. Ομοιογενής τύπος φθορισμού



2. Αδρός στικτός τύπος φθορισμού



3. Λεπτός στικτός τύπος φθορισμού



4. Πυρηνισκικός τύπος φθορισμού

Εικόνα 1: Τύποι φθορισμού των ANA σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων

Τα ANA είναι θετικά στο 95-99% των ατόμων με ΣΕΛ και συνήθως σε υψηλούς τίτλους [38] αλλά η ειδικότητα τους είναι χαμηλή καθώς μπορούν να ανιχνευθούν σε πλήθος αυτοανόσων και άλλων νοσημάτων με διαφορετικές συχνότητες και πρότυπα φθορισμού (Πίνακας 2.4). Αποτελούν πάντως διαγνωστικό κριτήριο για το φαρμακευτικό λύκο, το ΣΕΛ, την αυτοάνοση ηπατίτιδα και τη μικτή νόσο του συνδετικού ιστού. Τα ANA μπορούν να ανιχνευθούν όμως και σε άλλες μη-αυτοάνοσες καταστάσεις όπως σε λοιμώξεις, σε χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες, σε όγκους, σε τοξικομανία κ.α. [41-43]. Επιπλέον ένα ποσοστό 1-4% του υγιούς πληθυσμού εμφανίζει ANA σε χαμηλούς όμως τίτλους (συνήθως 1/40) και το ποσοστό αυτό φαίνεται να αυξάνεται με την ηλικία φτάνοντας μέχρι το 20% σε άτομα άνω των 60 ετών [39, 41, 44]. Επίσης οι συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με αυτοάνοση νόσο έχουν αυξημένη συχνότητα ANA, ομοίως όμως σε χαμηλούς τίτλους [41].

Πίνακας 2.4: Κυριότερα πρότυπα ανοσοφθορισμού των ANA σε υπόστρωμα Her2 κυττάρων.

ΠΡΟΤΥΠΟ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΥ	ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΣΤΟΧΟΣ	ΠΑΘΗΣΗ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
Ομοιογενής διάχυτος	dsDNA	ΣΕΛ	60-90
	Ιστόνες	Φαρμακευτικός λύκος	95
		ΣΕΛ	60
	Τοποϊσομεράση 1	Σκληρόδερμα	15-70
Λεπτός σπικτός	SS-B/La 48	ΣΕΛ	15
		Sjogren	40
	SS-A/Ro 60,52	ΣΕΛ	35
		Sjogren	60
Scl 70	Σκληρόδερμα	15-70	
	CREST	7-21	
Αδρός σπικτός	U1 snRNP 70, 33, 22	Μικτή νόσος συνδετικού ιστού	100
		ΣΕΛ	25
	Sm snRNP core 29,28, 16	ΣΕΛ	20
	Ki 66, 86	ΣΕΛ	10
Αντικεντρομεριδιακός	Πρωτεΐνη κεντρομεριδίου 17,80,160	CREST	80-95
Πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων	Πρωτεΐνη sp 100	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση	10-25
Πυρηνισκικός	RNA πολυμεράση, U3 snRNP, οργανωτής πυρηνίσκου	Σκληρόδερμα	2-43
		Πολυμοσοσίδα	8

Εκτός όμως από τα ANA που δίνουν ένα πρότυπο φθορισμού σε υπόστρωμα Hep2 κυττάρων υπάρχει και ένα πλήθος άλλων αυτοαντισωμάτων έναντι διαφόρων πυρηνικών στόχων, που ανιχνεύονται με άλλες μεθόδους κυρίως με ELISA ή με ανοσοαποτύπωση. Η ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων αυτών με τις ανωτέρω μεθόδους μπορεί να αποτελέσει επιπρόσθετο χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο (Πίνακας 2.5).

Πίνακας 2.5: Αυτοαντισώματα έναντι πυρηνικών αντιγόνων και κλινικοί συσχετισμοί τους.

Αυτοαντιγόνο	Νόσος	Συχνότητα (%)
Απλής έλικας DNA	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	70-95
	Φαρμακευτικός λύκος	60
	Μικτή νόσος συνδετικού ιστού	20-50
	Πολυμοσοσίπδα/δερματομοσοσίπδα	40-50
	Σκληρόδερμα, σύνδρομο Sjogren, ρευματοειδής αρθρίτιδα	8-14
Διπλής έλικας DNA	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	60-90
RNA	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	50
	Σκληρόδερμα, σύνδρομο Sjogren	65
Ιστόνες	Φαρμακευτικός λύκος	95
	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	30-70
	Ρευματοειδή Αρθρίτιδα	15-50
U1-nRNP	Μικτή νόσος συνδετικού ιστού	95-100
	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	30-70
	Ρευματοειδή Αρθρίτιδα	3
Sm	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	20-40
SS-A (Ro)	Σύνδρομο Sjogren	40-95
	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	20-60
	Νεογνικός λύκος	100
SS-B (La)	Σύνδρομο Sjogren	40-95
	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	10-20
Fibrillarin	Διάχυτη μορφή συστηματικής σκλήρυνσης	5-10
RNA πολυμεράση I	Διάχυτη μορφή συστηματικής σκλήρυνσης	4
PM-Scl	Πολυμοσοσίπδα/δερματομοσοσίπδα	50-70
	Διάχυτη μορφή συστηματικής σκλήρυνσης	5-10
Κεντρομερίδιο	Εστιακή μορφή συστηματικής σκλήρυνσης (CREST)	80-95
Scl-70	Διάχυτη μορφή συστηματικής σκλήρυνσης	25-75
Κυκλίνη (PCNA)	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	3
Ku	Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	10
	Πολυμοσοσίπδα / δερματομοσοσίπδα, συστηματική σκλήρυνση	30-55
Mi-1, Mi-2	Δερματομοσοσίπδα	5-10

2.2. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ DNA (anti-dsDNA)

Τα αντι-dsDNA είναι αντισώματα που στρέφονται κατά της διπλής έλικας του DNA (dsDNA). Είναι αντισώματα συνήθως IgG τάξης και υψηλής

συγγένειας για το DNA σε αντίθεση με τα αντισώματα κατά μονής έλικας DNA (αντι-ssDNA) που είναι πολύ χαμηλής συγγένειας για το DNA, δίνουν συχνά διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλα αντιγόνα, είναι συνήθως IgM τάξης και γενικά θεωρούνται φυσικά αντισώματα που ανιχνεύονται στον ορό των περισσότερων φυσιολογικών ατόμων. Η ανίχνευση των αντι-dsDNA αντισωμάτων θεωρείται σημαντική για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της πορείας των ασθενών με ΣΕΛ, καθώς ανιχνεύονται σε ποσοστό πάνω από το 60% των πασχόντων. Επίσης φαίνεται ότι στην περίπτωση του ΣΕΛ, τα αντι-dsDNA διαδραματίζουν και σημαντικό παθογενετικό ρόλο.

Η μέθοδος εκλογής για τον προσδιορισμό των αντι-dsDNA θεωρείται η ραδιοανοσολογική μέθοδος υγρής φάσης Farr [34, 38, 45, 46] κατά την οποία χρησιμοποιείται ραδιοσημασμένο με τρίτιο dsDNA και καθίζηση με θειικό αμμώνιο. Με την τεχνική αυτή ανιχνεύονται μόνο τα αντι-dsDNA με υψηλή συγγένεια [45, 46]. Το υψηλό όμως κόστος, ο εργαστηριακός εξοπλισμός και ο μεγάλος χρόνος εκτέλεσης καθιστούν δύσκολη τη χρησιμοποίηση της τεχνικής ως μεθόδου ρουτίνας [46]. Μια δεύτερη τεχνική που έχει αναπτυχθεί είναι αυτή του ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα *Criethidia Lucilliae*, ένα πρωτόζωο με μεγάλα μιτοχόνδρια που περιέχουν άφθονο DNA. Τα τελευταία όμως χρόνια μειώνεται συνεχώς η χρησιμοποίησή της ως μεθόδου ρουτίνας διότι υπάρχουν πολλά ερωτηματικά ως προς την ευαισθησία της μεθόδου (ανιχνεύει και αντι-dsDNA χαμηλής συγγένειας, ενώ αμφισβητείται και το αν τα μιτοχόνδρια περιέχουν μόνο dsDNA χωρίς την συνύπαρξη και άλλων πυρηνικών αντιγόνων [34, 38, 46].

Ένας τρίτος τρόπος προσδιορισμού των αντι-dsDNA αντισωμάτων είναι με εμπορικά διαθέσιμες ELISA, αλλά οι μέθοδοι αυτοί θεωρούνται από πολλούς

αναξιόπιστες διότι ανιχνεύουν αντισώματα τόσο υψηλής όσο και χαμηλής συγγένειας για το dsDNA, και επομένως απαιτείται προσοχή στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ιδιαίτερα όταν αυτά είναι ασθενώς θετικά [47]. Οι Τζιούφας και συν ανέπτυξαν μια ευαίσθητη και αυξημένης ειδικότητας ELISA, για την ανίχνευση των αντι-dsDNA που προσδιορίζει IgG και IgM τάξεις αντισωμάτων [48]. Η ειδικότητα της παραπάνω τεχνικής επαληθεύτηκε με πειράματα αναστολής του θετικού μάρτυρα χρησιμοποιώντας dsDNA: το dsDNA προκάλούσε αναστολή της ELISA για IgG αντι-dsDNA σε ποσοστό 90% και των IgM αντι-dsDNA σε ποσοστό 76% [48]. Η μέθοδος αυτή αν και λιγότερο ειδική φαίνεται να έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από τη μέθοδο Farr καθώς επίσης και από εκείνη του ΕΑΦ [49].

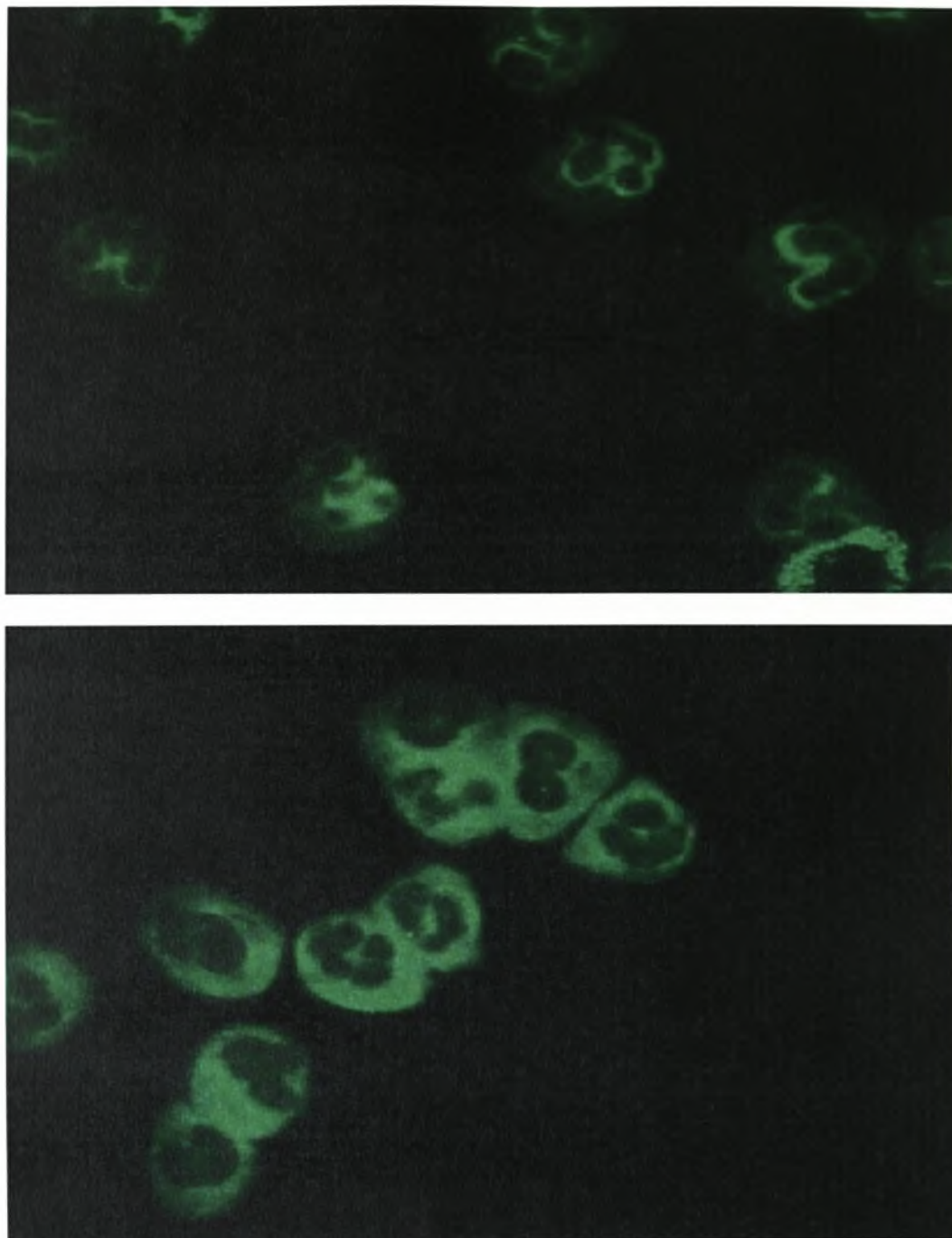
2.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ (ANCA)

Τα ANCA αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων που στρέφονται έναντι διαφόρων στοιχείων του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων. Ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ουδετερόφιλα κύτταρα μονιμοποιημένα σε αιθανόλη. Με την τεχνική αυτή μπορούν να παρατηρηθούν δύο πρότυπα ανοσοφθορισμού. Ένα με κυτταροπλασματικό φθορισμό (cytoplasmic, c-ANCA) και ένα με περιπυρηνικό φθορισμό (perinuclear, p-ANCA) (Εικόνα 2).

Το πρώτο αυτοαντιγόνο στόχος των c-ANCA που ανιχνεύθηκε είναι η πρωτεΐνωση 3 (PR3) [50], μια πρωτεΐνωση σερίνης 29 kDa, που αποτελεί βασικό συστατικό των αζουρόφιλων κοκκίων των ουδετεροφίλων [51]. Τα αντισώματα αυτά αποτελούν πολύ ευαίσθητους δείκτες για τη διάγνωση της κοκκιωμάτωσης Wegener (μια κοκκιωματώδης φλεγμονή της αναπνευστικής

οδού με συστηματική αγγειίτιδα και νεκρωτική σπειραματονεφρίτιδα με μηνοειδείς σχηματισμούς) καθώς ανιχνεύονται στο 70-100% των ασθενών [52]. Αντίθετα τα p-ANCA στρέφονται κυρίως κατά της μυελοϋπεροξειδάσης (ΜΠΟ) [53], μιας γλυκοζυλιωμένης πρωτεΐνης των αζουρόφιλων κοκκίων των πολυμορφοκυττάρων, μοριακού βάρους 140 kDa, που είναι απαραίτητη για την αμυντική λειτουργία των φαγοκυττάρων, μέσω της παραγωγής υποχλωρικών ιόντων [54, 55]. Τα αντισώματα αυτά έχουν βρεθεί σε διάφορους τύπους αγγειϊτίδων και κυρίως στην οζώδη πολυαρθρίτιδα, στο σύνδρομο Churg-Strauss και στην μικροσκοπική πολυαγγειϊτιδα [56-58]. Σε όλες αυτές τις παραπάνω περιπτώσεις των αγγειϊτίδων τα c-και τα p- ANCA, φαίνεται ότι εκτός από διαγνωστικοί δείκτες συμμετέχουν και στην παθογένεια των νοσημάτων αυτών [59, 60] καθώς φαίνεται να συσχετίζονται με τις κλινικές εκδηλώσεις, την ενεργότητα και τον κίνδυνο υποτροπής των αγγειϊτίδων [61, 62].

Εκτός όμως από τα παραπάνω αντιγόνα, βρέθηκε ότι τα ANCA μπορούν να έχουν δραστικότητα και έναντι άλλων συστατικών του κυτταροπλάσματος όπως καθεψίνης G [63], λακτοφερίνης [64], λυσοζύμης [65], ελαστάσης [66], α-ενολάσης, καταλάσης [67], BPI (bactericidal/permeability-increasing protein) [68, 69], αζουροσιδίνης [69], β-γλυκουρονιδάσης [70] καθώς επίσης και έναντι πυρηνικών αντιγόνων με περιφερική κατανομή, όπως ιστόνη H1 [71], high mobility group proteins –HMG1 και HMG2 [72], συστατικά πυρηνικών μεμβρανών, όπως λαμινίνη B1 [73] κ.α. Τα αντισώματα έναντι όλων των παραπάνω αντιγόνων συνήθως δίνουν ένα διάχυτο και άτυπο πρότυπο ανοσοφθορισμού και συχνά χαρακτηρίζονται ως άτυπα ANCA ή x-ANCA ή snow-drift like ANCA [74-77].



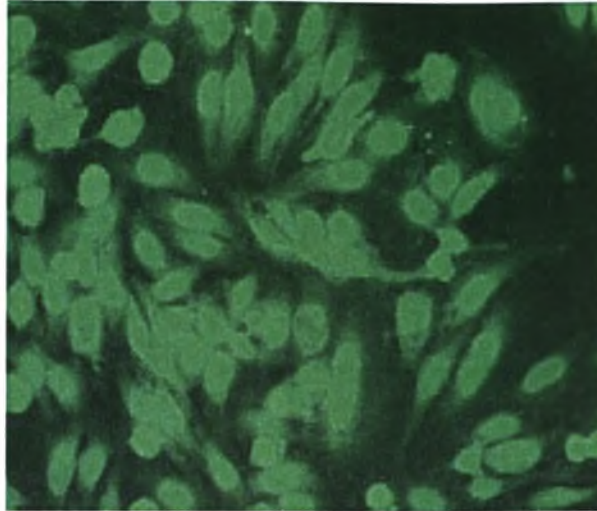
Εικόνα 2: Περιπυρηνικός κυτταροπλασματικός φθορισμός (p-ANCA) και διάχυτος κυτταροπλασματικός (c-ANCA) των ουδετεροφίλων.

Τα άτυπα αυτά ANCA μπορεί να τα ανιχνεύσει κανείς σε διάφορες παθήσεις. Τα c-ANCA έχουν παρατηρηθεί σε περιπτώσεις φυματίωσης και λεμφώματος [78, 79], ενώ τα άτυπα p-ANCA έχουν βρεθεί σε ασθενείς με

χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες [80], αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος [81, 82], ρευματοειδή αρθρίτιδα [83], νεανική αρθρίτιδα [84], κυστική ίνωση [85], ελκώδη κολίτιδα [86], νόσο Crohn [87], ελονοσία [88], αμοιβάδωση [89], HIV λοίμωξη [79, 90], λοιμώδη ενδοκαρδίτιδα [78, 79, 91] κ.α. Στις μη-αγγειίτιδικές αυτές καταστάσεις τα ANCA αποτελούν ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων έναντι περισσοτέρων του ενός αντιγόνων, ενώ σε μικρό μόνο ποσοστό μπορεί να συνυπάρχει και αντιδραστικότητα έναντι PR3, όπως στον ΣΕΛ [52, 92, 93], σε ενδοκαρδίτιδα [91] κ.α. Πρέπει επομένως να υπάρχει μεγάλη προσοχή για την διαγνωστική εκτίμηση ενός θετικού ANCA αποτελέσματος.

2.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΛΕΙΩΝ ΜΥΙΚΩΝ ΙΝΩΝ (SMA)

Τα αντισώματα αυτά στέφονται έναντι αντιγόνων του κυτταροσκελετού. Ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ΗEr2 κύτταρα (Εικόνα 3), ή και τομές ήπατος, νεφρού και στομάχου αρουραίων (προτεινόμενο υπόστρωμα, εικόνα 4) [94]. Το αντιγόνο στόχος ποικίλει και μπορεί να είναι η F ή G ακτίνη, βινκουλίνη, βιμεντίνη, δεσμίνη, κερατίνη, τομπουλίνη, μυσίνη κ.α. [95, 96]. Τα SMA έχουν παρατηρηθεί σε ιογενείς ηπατίτιδες (A, B και C) και σε διάφορες άλλες παθήσεις, σε χαμηλούς όμως τίτλους και χωρίς να έχουν κατά κανόνα ειδικότητα έναντι F ακτίνης [97-103]. Έχουν βρεθεί επίσης και σε αιμοδότες και υγιή άτομα, ομοίως σε χαμηλούς τίτλους [104, 105]. Αντίθετα στην αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) τύπου Ι συναντάμε κυρίως SMA κατά κανόνα σε υψηλούς τίτλους και με ειδικότητα έναντι F ακτίνης, τα οποία και χαρακτηρίζουν την νόσο [95, 106].



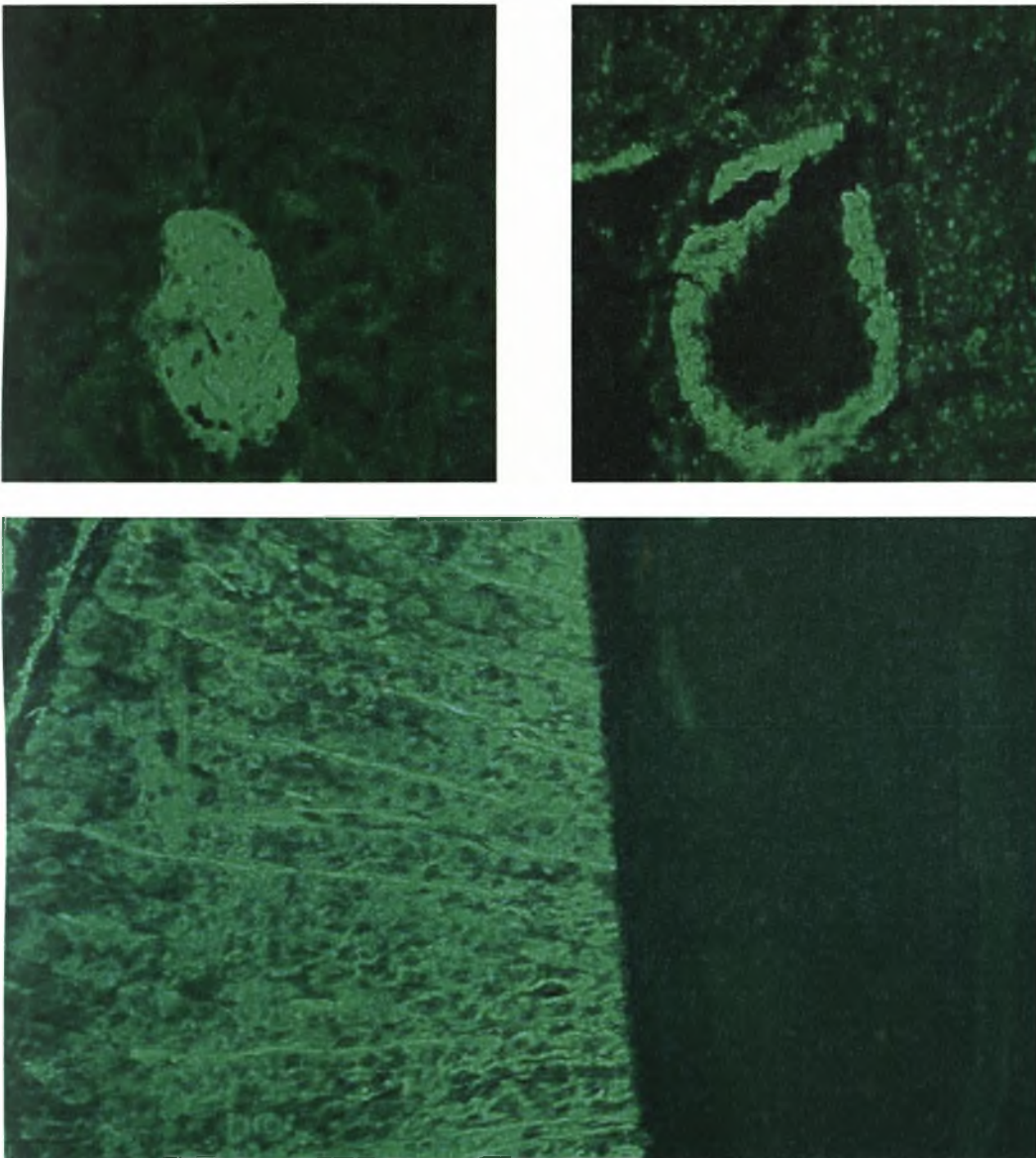
Εικόνα 3: Πρότυπο φθορισμού των SMA σε υπόστρωμα HEr2 κυττάρων

2.5. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΜΑΧΟΥ (PCA)

Τα PCA είναι οργανοειδικά αντισώματα που στρέφονται έναντι της αντλίας H/K ATPase των γαστρικών τοιχωματικών κυττάρων [107, 108]. Η ανίχνευση τους γίνεται με την τεχνική του ΕΑΦ σε τομές στομάχου αρουραίου (Εικόνα 5), καθώς και με εμπορικά διαθέσιμες ELISA. Ανευρίσκονται κυρίως στον ορό ασθενών με κακοήγη αναιμία Biermer σε ποσοστό έως 90%, σε άτομα με ατροφική γαστρίτιδα του σώματος (τύπου A) σε μικρότερο ποσοστό [109] καθώς επίσης και στα πλαίσια αυτοανόσων ενδοκρινοπαθειών που περιλαμβάνουν και άλλες καταστάσεις όπως αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, σακχαρώδη διαβήτη τύπου I, λεύκη κ.α. σε ποσοστό έως και 60% [110, 111]. Στις καταστάσεις αυτές ο τίτλος των PCA φαίνεται ότι αυξάνει με την ηλικία, σχετίζεται με τα επίπεδα γαστρίνης [112, 113], καθώς και τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σιδηροπενίας [114] και έλλειψης B12 [115].

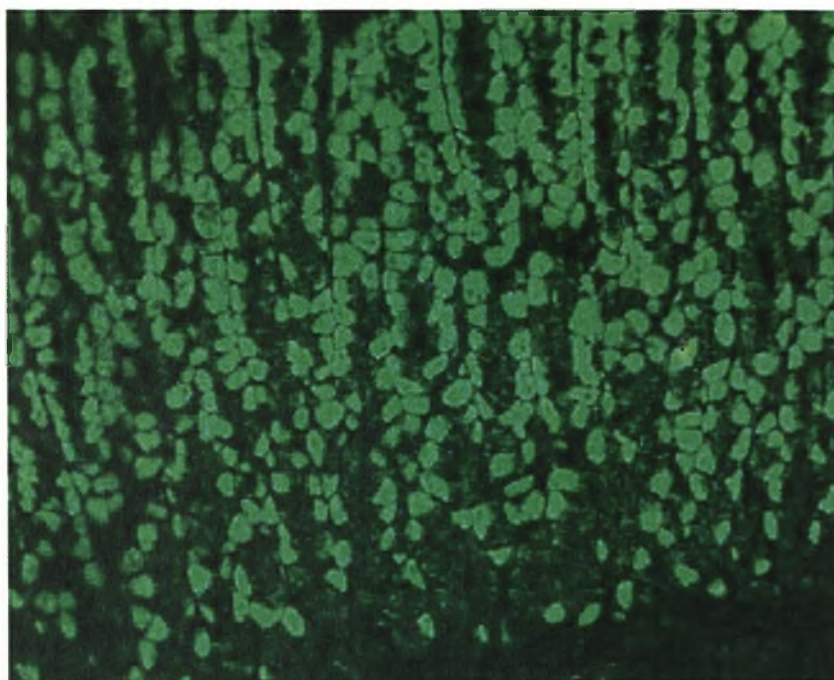
Τελευταία έχει βρεθεί ότι περίπου 20-30% των ατόμων με γαστρίτιδα προκαλούμενη από *Helicobacter pylori* έχει PCA αντισώματα [116, 117], ο

τίτλος των οποίων έχει συσχετισθεί και με τον βαθμό της ατροφίας [118, 119]. Έχει προταθεί ότι το βακτήριο μπορεί να προκαλεί ατροφική γαστρίτιδα και παραγωγή PCA αντισωμάτων διαμέσου μηχανισμού μοριακής μίμησης [120]. PCA έχουν ανιχνευθεί επίσης και σε ασυμπτωματικά άτομα με θετική δοκιμασία για *H. Pylori* [121] όπως και στο 2-3% του γενικού πληθυσμού.



Εικόνα 4: Πρότυπο φθορισμού των SMA στο νεφρό (φθορισμός σπειράματος και τοιχώματος αγγείου-επάνω) και στο στομάχι (φθορισμός νηματίων F-ακτίνης-κάτω).

Τέλος, τα αντισώματα αυτά έχουν ανιχνευθεί σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ηπατίτιδα C, με αυξητική τάση κατά την διάρκεια αγωγής με αντερφερόνη καθώς και αρνητική συσχέτιση με την ανταπόκριση στην παραπάνω θεραπεία [122, 123].



Εικόνα 5: Φθορισμός των PCA (έναντι τοιχωματικών κυττάρων στομάχου) σε τομές στομάχου.

3. ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ (ΑΝΤΙΡΗΟΣΦΟΛΙΠΙΔ ΣΥΝΔΡΟΜΟ; APS).

Το σύνδρομο αυτό κλινικά χαρακτηρίζεται από αρτηριακές ή/και φλεβικές θρομβώσεις, νοσηρότητα κύησης (καθ'εξιν αποβολές, ανεξήγητοι θάνατοι εμβρύου, προεκλαμψία κ.α.) και συνήθως μέτρια θρομβοπενία [124]. Στα πλαίσια του συνδρόμου αυτού έχουν επίσης αναφερθεί νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές, δικτυωτή πελίωση, νεφρικές διαταραχές, ηπατικές διαταραχές, αρθραλγίες ή αρθρίτιδα, αιμολυτική αναιμία, βαλβιδοπάθειες κ.α. (Πίνακας 3.1). Το APS μπορεί να είναι πρωτοπαθές όταν δεν υπάρχει άλλη υποκείμενη διαταραχή ή δευτεροπαθές στα πλαίσια άλλων καταστάσεων κυρίως αυτοανόσων, αλλά και κακοηθειών καθώς και μετά από χρήση ορισμένων φαρμάκων. Το APS χαρακτηρίζεται από την παρουσία χαρακτηριστικών αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (a-PL) τα οποία αναφέρονται εκτενώς στην συνέχεια [125]. Η Scientific and Standardization subcommittee on Lupus Anticoagulants/Phospholipids-Dependent Antibodies της International Society of Thrombosis and Hemostasis μέσα από διεθνή συμπόσια έχει καθιερώσει κριτήρια για την διάγνωση του APS. Επιπλέον, στο 8^ο συμπόσιο του Sapporo (1999), θεσπίστηκαν τα τροποποιημένα κριτήρια για την διάγνωση του APS που απαιτούν την παρουσία ενός τουλάχιστον κλινικού και ενός εργαστηριακού κριτηρίου για την διάγνωση του συνδρόμου [126] (Πίνακας 3.2).

3.1. ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΙΚΟ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Το 1992 μελετήθηκε για πρώτη φορά μια ασυνήθιστη μορφή APS η οποία χαρακτηρίζονταν από οξεία και ταχύτατη προσβολή των μικρών αγγείων

προκαλώντας βλάβες σε πολλά παρεγγυματικά όργανα [127]. Η κατάσταση αυτή ονομάστηκε καταστροφικό APS (catastrophic antiphospholipid syndrome-CAPS) το οποίο έχει υψηλό ποσοστό θνητότητας που φτάνει το 50%.

Πίνακας 3.1: Εκδηλώσεις αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου

	Κλινικές εκδηλώσεις	Συχνότητα (%)
Αναπνευστικό σύστημα		39
	Σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας ενηλίκων	24
	Πνευμονική εμβολή	18
	Πνευμονική αιμορραγία	3
	Πνευμονική υπέρταση	1
Δέρμα		36
	Δικτυωτή πελίωση	16
	Συρρέουσα πορφύρα	9
	Έλκη δέρματος	8
	Νεκρώσεις	3
Ουροποιητικό		35
	Νεφρική θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια	9
Νευρικό		31
	Εγκεφαλικά επεισόδια	21
	Εγκεφαλοπάθεια	7
Περιφερικές θρομβώσεις		30
	Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση	15
	Θρόμβωση μηριαίας αρτηρίας	9
	Θρόμβωση άνω ή / και κάτω κοίλης	4
	Ακτινική	1
	Άλλες αρτηρίες	3
Καρδιακό		24
	Έμφραγμα μυοκαρδίου	12
	Βαλτιδοπάθεια (συνήθως ανεπάρκεια)	10
	Καρδιακές μικροθρομβώσεις	1
	Άλλα	3
Προσβολή εσωτερικών ενδοκοιλιακών αγγείων		
	Ήπατική αρτηρία	12
	Σπληνική αρτηρία	8
	Εντερική	6
	Μεσεντέριος	5
	Πυλαία αγγεία	4
	Πάγκρεατική	3
Άλλα		
	Άσηπτη νέκρωση ισχίου	10
	Προσβολή γεννητικού	2
	Amaurosis fugax	2

Πίνακας 3.2 :Κριτήρια διάγνωσης αντιφωσφολιπιδικού συνδρόμου

1. ΚΛΙΝΙΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ
<i>A. Αγγειακή θρόμβωση</i>
-Ένα ή περισσότερα επεισόδια αρτηριακής ή φλεβικής θρόμβωσης ή θρόμβωσης των μικρών αγγείων, επιβεβαιωμένα απεικονιστικά ή με μελέτη Doppler ή ιστολογικά. Για την ιστολογική επιβεβαίωση, η θρόμβωση δεν θα πρέπει να συνοδεύεται από σημαντική φλεγμονή του αγγειακού τοιχώματος. Δεν χρειάζεται ιστολογική επιβεβαίωση για τις επιπολής φλεβικές θρομβώσεις.
<i>B. Νοσηρότητα κύησης</i>
-Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι μορφολογικά φυσιολογικού εμβρύου κατά ή μετά την 10 ^η εβδομάδα της κύησης. Η φυσιολογική μορφολογία του εμβρύου πρέπει να έχει τεκμηριωθεί υπερηχογραφικά ή με άμεση εξέταση
ή
-Μία ή περισσότερες γεννήσεις μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού κατά ή μετά την 34 ^η εβδομάδα της κύησης, λόγω βαριάς προεκλαμψίας ή ανεπάρκειας του πλακούντα
ή
-Τρεις ή περισσότερες ανεξήγητες διαδοχικές αυτόματες αποβολές πριν από την 10 ^η εβδομάδα της κύησης, οι οποίες δεν οφείλονται σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες του παιδιού ή σε ανατομικές ή ορμονικές ανωμαλίες της μητέρας.
2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ
<i>A. Αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (a-CL)</i>
-Μέτριοι ή υψηλοί τίτλοι a-CL αντισωμάτων IgG ή/και IgM ισotypes, σε δύο διαδοχικές μετρήσεις χρονικής διαφοράς τουλάχιστον 6 εβδομάδων, που μετρήθηκαν με ELISA
<i>B. Αντιπηκτικό του λύκου (LAC)</i>
-Ανίχνευση στο πλάσμα σε δύο ή περισσότερες μετρήσεις που έγιναν με διαφορά 6 εβδομάδων σύμφωνα με τις οδηγίες της International Society of Thrombosis and Hemostasis, που περιλαμβάνει τα παρακάτω:
i. παράταση του χρόνου των δοκιμασιών πήξεως που εξαρτώνται από την παρουσία φωσφολιπιδίων (χρόνος προθρομβίνης, χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης, χρόνος όφους Russel, χρόνος καολίνης, χρόνος τεταρίνης)
ii. αδυναμία διόρθωσης του παρατεταμένου χρόνου μετά την προσθήκη ίσου όγκου φυσιολογικού πλάσματος.
iii. διόρθωση ή βελτίωση του παρατεταμένου χρόνου μετά την προσθήκη περίσσειας φωσφολιπιδίων
iv. αποκλεισμός άλλων διαταραχών πήκτικότητας όπως αναστολή του παράγοντα VIII ή ύπαρξη ηπαρίνης.

Η συνολική κλινική εικόνα του CAPS είναι αποτέλεσμα: α. των οργάνων που θα προσβληθούν εξαιτίας των θρομβωτικών γεγονότων και β. των εκδηλώσεων του συνδρόμου της συστηματικής φλεβμονώδους απόκρισης, λόγω της τεράστιας απελευθέρωσης κυτταροκινών από τους μολυσμένους και νεκρωμένους ιστούς [128]. Στον εργαστηριακό έλεγχο μπορεί να παρατηρηθεί θρομβοκυτταροπενία σε ποσοστό περισσότερο από 60% που

συνήθως είναι σοβαρού βαθμού. Επίσης 35% των ατόμων έχουν ενδείξεις αιμόλυσης και 20% εκδηλώσεις διάχυτης ενδαγγειακής πήξης χωρίς όμως παρουσία σχιστοκυττάρων [128]. Η διαφορική διάγνωση του συνδρόμου θα πρέπει να γίνει από άλλα μικροαγγειοπαθητικά σύνδρομα όπως η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα, το αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο, η θρομβοκυτταροπενία επαγόμενη από ηπαρίνη και το σύνδρομο HELLP (haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets).

Μέχρι σήμερα πάνω από 230 ασθενείς με CAPS έχουν περιγραφεί στην διεθνή βιβλιογραφία. Επεξεργάζοντας τα δεδομένα αυτά σε μια πρόσφατη ανασκόπηση μελετήθηκε η συχνότητα των βασικών αιτίων και των υποκείμενων νόσων που μπορούν να οδηγήσουν στην εκδήλωση CAPS (Πίνακες 3.3 και 3.4) [128].

Πίνακας 3.3: Αιτιολογία CAPS [128].

ΑΙΤΙΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)
Άγνωστη	90	45
Λοιμώξεις (ιογενείς, πνευμονία, τυφοειδής πυρετός, έλκη ποδός, malaria, ουρολοιμώξεις)	40	20
Τραύμα	28	14
Αντιπηκτικές διαταραχές	14	7
Νεοπλασίες	11	5,5
Γυναικολογικά προβλήματα - προβλήματα εγκυμοσύνης /τοκετού	10	5
Εξάρσεις συστηματικού ερυθματώδη λύκου	6	3
Άλλα (αντισυλληπτικά, θειαζίδες, Danazol)	11	5,5

Όπως φαίνεται και από τους πίνακες, οι λοιμώξεις αποτελούν την κυριότερη αιτία που μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση CAPS, ιδιαίτερα σε άτομα που έχουν κάποια υποκείμενη διαταραχή (αυτοάνοσο νόσημα, γενετική προδιάθεση). Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός παραμένει άγνωστος. Για την περίπτωση των λοιμώξεων από *S. typhi* έχει προταθεί ότι αντιγόνα του μικροοργανισμού όπως οι πολυσακχαρίτες μπορεί να έχουν ανοσολογική και

προθρομβωτική δράση [129]. Αντίθετα, συστατικά βακτηρίων όπως των *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Eschericia coli* και *M. penetrans* μπορούν να λειτουργήσουν σαν υπεραντιγόνα προάγοντας μια δυσανόλογα μεγάλη ανοσολογική απόκριση [127, 128].

Πίνακας 3.4: Υποκείμενες παθήσεις των ατόμων που εκδήλωσαν CAPS [128].

ΠΑΘΗΣΗ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ %
Πρωτοπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	44
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ)	40
Σύνδρομο προσομοιάζων σε ΣΕΛ	6
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	2
Συστηματική σκλήρυνση	1,5
Άλλες (πολυχονδρίτιδα, ελκώδης κολίτιδα, νόσος Bechcet, σύνδρομο Sjogren)	2,5

3.2. ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (a-PL)

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (a-PL) είναι μια ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων, που αντίθετα με αυτό που δηλώνει ο όρος, δεν συνδέονται με φωσφολιπίδια, αλλά στρέφονται έναντι πρωτεϊνών, οι αντιγονικοί επίτοποι των οποίων αποκαλύπτονται (κρυπτικοί) ή δημιουργούνται (νεοεπίτοποι) μόνο όταν συνδεθούν με αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια ή γενικότερα ανιονικές επιφάνειες [125]. Δύο είναι τα κυριότερα μέλη των a-PL, που συνδέονται με κλινική έκφραση του APS, τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (a-CL) και το αντιπηκτικό του λύκου (lupus anticoagulant-LAC).

Τα a-CL μελετήθηκαν για πρώτη φορά το 1941 όταν διαπιστώθηκε ότι η καρδιολιπίνη, ένα ανιονικό φωσφολιπίδιο που βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων, ήταν υπεύθυνο για τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα των παλαιότερων ορολογικών δοκιμασιών για τη σύφιλη (BFP-VDRL, biologic false positive-VDRL) [130]. Λίγο αργότερα μελετήθηκε για πρώτη φορά η παρουσία BFP-VDRL αντίδρασης σε ασθενείς με ΣΕΛ [131-133] και ακολούθησαν βιβλιογραφικές αναφορές για λέπτρα, ρευματοειδή

αρθρίτιδα (PA) και σύνδρομο Sjogren [134, 135]. Μέχρι το 1983 η BFP-VDRL αποτελούσε την κύρια εργαστηριακή δοκιμασία ανίχνευσης των a-CL, όταν ο Harris σχεδίασε μια ειδική ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA) για την ανίχνευση τους [136]. Σήμερα τα a-CL σε εξετάσεις ρουτίνας ανιχνεύονται με ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA) [137].

Η μελέτη του LAC, ξεκίνησε το 1952 ως αποτέλεσμα της παρατήρησης ότι σε ορισμένους ασθενείς με ΣΕΛ, υπάρχει κάποιος παράγοντας στο αίμα που επιμηκύνει τις δοκιμασίες πήξεως που εξαρτώνται από την παρουσία φωσφολιπιδίων (χρόνος προθρομβίνης, χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης, χρόνος όφεως Russel κ.α.) [138]. Στη συνέχεια βρέθηκε ότι ο παράγοντας αυτός δεν είναι τίποτε άλλο παρά αντισώματα [139] που στρέφονται έναντι παραγόντων πήξης [140-142].

Οι πρωτεΐνες του πλάσματος έναντι των οποίων στρέφονται τα a-PL αποτελούν τους λεγόμενους συμπαράγοντες (co-factors) [143-145], οι κυριότεροι των οποίων είναι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I (β2-GPI) [146], η προθρομβίνη [147] και κατά δεύτερο λόγο η ανεξίνη V [148], η πρωτεΐνη C [149], η πρωτεΐνη S [150], η θρομβομοδουλίνη, το μικρού και μεγάλου μοριακού βάρους κινιδογόνο [151], το συστατικό του συμπληρώματος C4 και ο παράγοντας H [152]. Στην πράξη, τα αντι-β2-GPI αντισώματα αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των a-CL, ενώ τα αντισώματα έναντι προθρομβίνης ευθύνονται κατά κύριο λόγο για την δραστηριότητα του LAC.

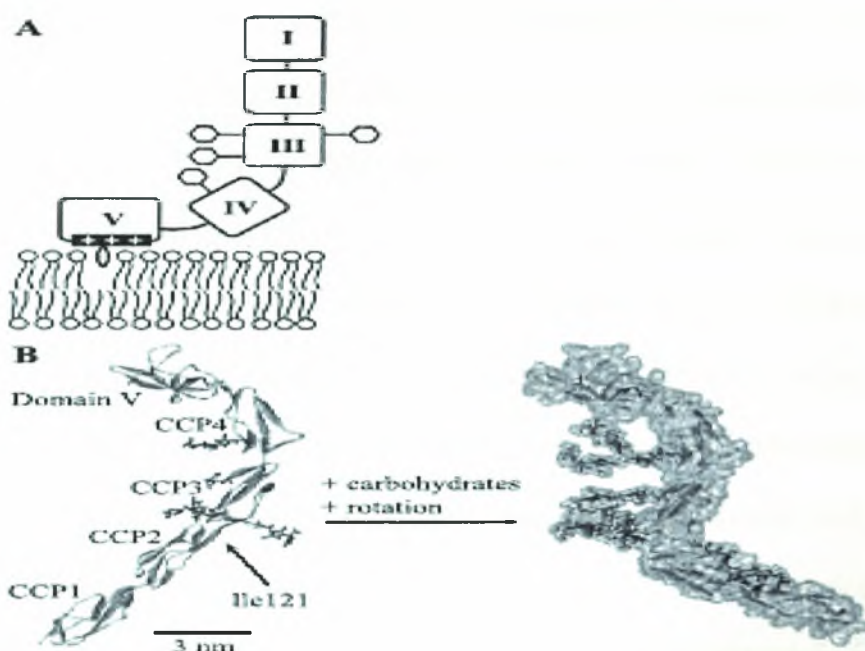
3.3. Β2-ΓΛΥΚΟΠΡΩΤΕΙΝΗ I (β2-GPI)

Η β2-GPI είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 54,2 kDa που συντίθεται κατά κύριο λόγο στο ήπαρ και λιγότερο στα ενδοθηλιακά κύτταρα

των αγγείων, στα λεμφοκύτταρα και τους νευρώνες και αποτελείται από αλυσίδα 326 αμινοξέων [153-155]. Με κρυσταλλογραφία τριών διαστάσεων αποκρυπτογραφήθηκε η δομή της πρωτεΐνης: αποτελείται από 5 δομικές περιοχές (short consensus repeats-SCR), 4 αμινοτελικές επαναλαμβανόμενες και μια 5^η καρβοξυτελική που δίνουν μια συνολική στερεοδιαμόρφωση δομής αγκίστρου [154-156]. Από πλευράς δομής ανήκει στην υπεροικογένεια πρωτεϊνών στην οποία επίσης ανήκουν οι υποδοχείς συστατικών του συμπληρώματος 1 και 2, ο υποδοχέας της IL-2, ο παράγοντας πήξης XIII και η απποσφαιρίνη 2 [157]. Στο μόριο της β2-GPI υπάρχουν 4 θέσεις γλυκοζυλίωσης στις SCR 3 και 4 [155]. Υπάρχει μια πολύ μεγάλη ετερογένεια στον τύπο των πολυσακχαριτών που συνδέονται στις θέσεις αυτές και αυτό πιθανότατα να αντανakλά και στη φυσιολογική λειτουργία του μορίου [155]. Η SCR 5 είναι πολύ πλούσια σε λυσίνη (22 αμινοξέα συνολικά) και επομένως είναι έντονα φορτισμένη θετικά ενώ επιπρόσθετα υπάρχει και μια υδροφοβική περιοχή (Σχήμα 5) [158]. Τα δύο αυτά δομικά στοιχεία (συνδυασμός υδροφοβικότητας και ηλεκτροστατικότητας) είναι απαραίτητα για την ικανότητα της β2-GPI να συνδέεται με τα φωσφολιπίδια. Επομένως η SCR 5 είναι η περιοχή εκείνη του μορίου που μπορεί να αλληλεπιδρά με τις ανιονικές επιφάνειες [158]. Τελευταία όμως βρέθηκε ότι σε συνθήκες χαμηλής ιονικής ισχύος η δέσμευση του φωσφολιπιδίου μπορεί να γίνει και στη SCR1 [159]. Επίσης έχουν βρεθεί τρεις κύριοι πολυμορφισμοί του γονιδίου της β2-GPI (αντικαταστάσεις Val247Leu, Cys306Gly και Trp316Ser) σε θέσεις που επηρεάζουν την συγγένεια δέσμευσης με ανιονικά φωσφολιπίδια [160].

Η συγκέντρωση της β2-GPI στο αίμα είναι περίπου 200 mg/L. Κυκλοφορεί τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και συνδεδεμένη με διάφορα λιπίδια [157]. Η

συγκέντρωσή της αυξάνει σε χρόνιες λοιμώξεις ενώ έχει επίσης βρεθεί θετικός συσχετισμός των επιπέδων της με το κάπνισμα, το ανδρικό φύλο, την προχωρημένη ηλικία και την υπερλιπιδαιμία [161].

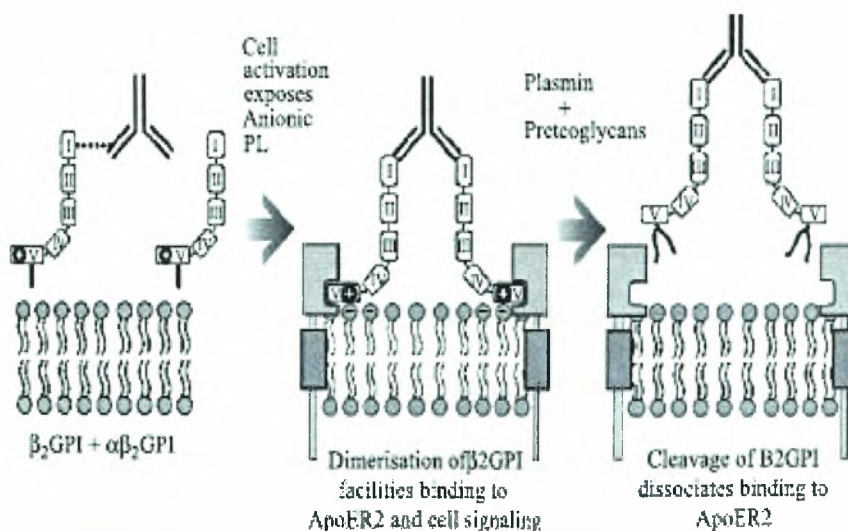


Σχήμα 5: Α. Σχηματική παρουσίαση της δομής της β2-GPI. Η πρωτεΐνη αποτελείται από πέντε δομικές περιοχές (CCP). Οι περιοχές 3 και 4 έχουν θέσεις γλυκοζυλίωσης, ενώ η 5 είναι πλούσια σε λυσίνη (θετικά φορτισμένη) και περιέχει και μια υδροφοβική θηλειά, στοιχεία απαραίτητα για την δέσμευση της στην ανιονική επιφάνεια. Β. Κρυσταλλογραφική δομή του μορίου με τρισδιάστατη διαμόρφωση αγκίστρου. Γ. Ατομικό μοντέλο του μορίου [157].

Ο φυσιολογικός της ρόλος παραμένει άγνωστος. Η αρχική κρατούσα άποψη ότι συμμετέχει στον μεταβολισμό των λιπιδίων λόγω της ικανότητας σύνδεσής της με την λιποπρωτεΐνη Α (η β2-GPI είναι επίσης γνωστή και ως απολιποπρωτεΐνη Η) σήμερα αμφισβητείται. Σε δοκιμασίες *in vitro* μπορεί να λειτουργήσει ως αντιπηκτικό παρεμποδίζοντας σε πολλαπλά σημεία την πήκτική διαδικασία (αναστολή της δραστηριότητας της προθρομβινάσης, της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της παραγωγής των παραγόντων πήξης ΙΧ και ΧΙΙ, μείωση της πρωτεΐνης C) [162, 163]. Συμμετέχει επίσης και στην απομάκρυνση των αποπτωτικών σωματιδίων από την κυκλοφορία [164, 165].

Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι δεν μπορεί να αναγνωρίζει την LDL στην φυσική της μορφή, αλλά αλληλεπιδρά έντονα με οξειδωμένες μορφές LDL για αυτό και έχει συχνά ανιχνευθεί σε αθηρωματικές πλάκες [166].

Ένα άλλο ενδιαφέρον στοιχείο της φυσιολογίας του μορίου είναι ότι γενικά η β_2 -GPI είναι μόριο με σχετικά χαμηλή συγγένεια δέσμευσης με ανιονικά φωσφολιπίδια συγκρινόμενη με άλλες πρωτεΐνες του αίματος όπως για παράδειγμα οι παράγοντες πήξεως [167]. Έτσι αμφισβητείται το κατά πόσο η πρωτεΐνη αυτή φυσιολογικά έχει λειτουργική δυνατότητα σύνδεσης με κυτταρικές επιφάνειες. Όταν όμως ενώνεται με τα αντι- β_2 -GPI αντισώματα, τότε η συγγένεια δέσμευσης της αυξάνεται έως και 100 φορές [153]. Αυτό πιθανότατα είναι αποτέλεσμα της δημιουργίας δισθενούς συμπλέγματος που αποτελείται από 2 μόρια β_2 -GPI και ένα αντίσωμα (Σχήμα 6) . Επιπρόσθετα η δομή αυτή μπορεί να αλληλεπιδράσει ταυτόχρονα με ενδοθηλιακά κύτταρα και ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προάγοντας τη δημιουργία θρομβώσεων [153, 168].



Σχήμα 6: Μηχανισμός δράσης των αντι- β_2 GPI αντισωμάτων στους ασθενείς με APS. Η ικανότητα της β_2 GPI να συνδέεται με φωσφολιπίδια είναι πολύ μικρή λόγω χαμηλής συγγένειας. Ο διμερισμός της όμως εξαιτίας ένωσής της με το αντίσωμα μπορεί να αυξήσει την συγγένεια δέσμευσης και να οδηγήσει στην σύνδεση της πάνω σε κυτταρικές επιφάνειες (τοίχωμα αγγείων ή αιμοπετάλια) [157].

Αν και υπάρχουν μερικά ερευνητικά κέντρα που υποστηρίζουν ότι τα αυτοαντισώματα έναντι της β2-GPI, έχουν ως κύριο αντιγονικό επίτοπο τη SCR1 [169], θεωρείται γενικά παραδεκτό ότι τα αντι-β2-GPI είναι κατά κανόνα μια ετερογενής ομάδα αντισωμάτων καθώς έχει βρεθεί αντιδραστικότητα έναντι διαφορετικών επιτόπων και των 5 δομικών περιοχών της πρωτεΐνης [167]. Δεν έχει εξακριβωθεί όμως ακόμα αν υπάρχουν συγκεκριμένοι επίτοποι έναντι των οποίων τα αντισώματα να δρουν παθογενετικά προκαλώντας εκδηλώσεις APS. Επίσης ο IgG αντι-β2-GPI ισότυπος φαίνεται ότι σχετίζεται περισσότερο με ιστορικό θρομβοεμβολικών επεισοδίων σε σχέση με τον IgM ισότυπο. Η κλινική σημασία του IgA ισότυπου των αντισωμάτων αυτών είναι αδιευκρίνιστη αλλά υπάρχουν όλο και περισσότερες αναφορές για συμμετοχή τους στην παθογένεια του συνδρόμου [170].

3.4. ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΦΩΣΦΟΛΙΠΙΔΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ.

Εκτός από το APS, τα a-CL αντισώματα έχουν ανιχνευθεί και σε διάφορες άλλες παθήσεις και καταστάσεις. Ανάμεσα σε αυτές κυρίαρχη θέση έχουν οι βιβλιογραφικές αναφορές συσχέτισμού με διάφορες λοιμώξεις ως επί το πλείστον ιογενείς. Τα a-CL αντισώματα ανάλογα με το αν χρειάζονται ή όχι την παρουσία του συμπαραγόνα για να συνδεθούν με τα φωσφολιπίδια, μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: i. Στα παθογενετικά ή θρομβογενή ή β2-GPI-εξαρτώμενα ή αυτοάνοσα, στα οποία είναι απαραίτητη η παρουσία του συμπαραγόνα για την σύνδεση τους με την καρδιολιπίνη και είναι αυτά που σχετίζονται με τις εκδηλώσεις του APS, και ii. Στα μη θρομβογενή ή μη παθογενετικά που συνδέονται απευθείας στην καρδιολιπίνη δίχως την συμμετοχή των συμπαραγόντων. Τα τελευταία ανιχνεύονται κυρίως

στις διάφορες λοιμώξεις και σε άλλες καταστάσεις που κατά τεκμήριο, φαίνεται ότι δεν σχετίζονται με κλινικές εκδηλώσεις του APS. Τα μη παθογενετικά a-CL αντισώματα έχουν συνήθως χαμηλούς ή μέτριους τίτλους και επομένως η χρησιμοποίηση τεχνικών με πολύ αυστηρά όρια θετικότητας (cut-off της μεθόδου) καθώς και η χρησιμοποίηση τεχνικών ELISA που χρησιμοποιούν ως αντιγόνο-υπόστρωμα τη β2-GPI μπορεί να βοηθήσουν στη διάκριση των παθογενετικών από τα μη. Παρακάτω δίνονται συνοπτικά οι τρέχουσες απόψεις για τον επιπολασμό και τη σημασία των αντι-CL αντισωμάτων στην ηπατίτιδα C, την λοίμωξη από τον ιό επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (HIV) και άλλες λοιμώξεις.

Ηπατίτιδα C. Η παρουσία a-CL αντισωμάτων σε διάφορες λοιμώξεις έχει επισημανθεί από πολύ νωρίς [171]. Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) έχει στενά συσχετισθεί με την παρουσία a-CL, η συχνότητα των οποίων κυμαίνεται μεταξύ 22% και 44% στις διάφορες μελέτες [42, 172-177]. Η κλινική σημασία της παρουσίας των αυτοαντισωμάτων αυτών στους ασθενείς με λοίμωξη από τον HCV παραμένει αδιευκρίνιστη. Αν και υπάρχουν λίγες βιβλιογραφικές αναφορές που αναφέρουν θρομβωτικά φαινόμενα σε τέτοιους ασθενείς, όπως νεφρική θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια (renal thrombotic microangiopathy) [178] και τεταρτοημιανοψία (quadrihemianopsia) εξαιτίας εμφράκτου στο οπτικό χίασμα του εγκεφάλου [179], καθώς και η εργασία των Prieto et al που υποστηρίζει ότι η παρουσία a-CL σε ασθενείς με ηπατίτιδα C, μπορεί να οδηγήσει σε εκδήλωση θρομβώσεων και εμφάνιση θρομβοπενίας [180], η γενική πεποίθηση είναι ότι τα a-CL αντισώματα στην ηπατίτιδα C, είναι κατά τεκμήριο μάλλον μη παθογενετικά.

Πράγματι, όπως φαίνεται από πρόσφατη ανασκόπηση των Dalekos et al [181], οι περισσότερες μελέτες δε βρίσκουν αιτιοπαθογενετική συσχέτιση μεταξύ APS και HCV λοίμωξης, καθώς η ύπαρξη θετικών aPL αντισωμάτων στους HCV θετικούς ασθενείς δε σχετίζεται με κλινικές εκδηλώσεις APS ούτε πριν ούτε μετά τη διάγνωση της HCV λοίμωξης [42, 173-177, 182-185] (Πίνακας 3.5). Επιπλέον, στις περισσότερες μελέτες, τα αντι-CL αντισώματα, που ανιχνεύονται σε ασθενείς με HCV λοίμωξη, είναι μη θρομβογενετικά, δηλαδή ανεξάρτητα από συμπαράγοντες [175, 176, 184, 185]. Όπως όμως προαναφέρθηκε, σε αντίθεση με την πλειονότητα των μελετών, η Ισπανική μελέτη των Prieto et al [180], βρήκε ότι η ανίχνευση αντι-CL αντισωμάτων σε 100 ασθενείς με HCV λοίμωξη, συσχετιζόνταν σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με την παρουσία θρομβοπενίας και προηγούμενο ιστορικό θρομβωτικών επεισοδίων, ενώ παράλληλα ανίχνευσαν δείκτες HCV λοίμωξης στο 16.7% των ασθενών τους με πρωτοπαθές APS. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής μπορούν εύκολα να αμφισβητηθούν τόσο λόγω των κριτηρίων της επιλογής των ασθενών (το 25% των ασθενών που υποβλήθηκαν σε βιοψία ήπατος είχαν κίρρωση, που είναι γνωστό ότι σχετίζεται συχνά, ανεξάρτητα από την αιτιολογία της, με την παρουσία αντι-CL αντισωμάτων [175, 186]) όσο και της μεθόδου προσδιορισμού των αντισωμάτων (η μη ειδική δέυσμευση συνυπολογίσθηκε στις μετρήσεις αυξάνοντας τους τίτλους, ενώ δεν προσδιορίσθηκε η εξάρτηση των ανιχνευόμενων αντι-CL αντισωμάτων από συμπαράγοντες, ώστε να αποδειχθεί ότι ανήκουν στα αυτοάνοσα ή θρομβογενή, παθογενετικά a-PL αντισώματα). Επιπλέον, η εύρεση HCV λοίμωξης σε μερικούς ασθενείς με APS, μπορεί να συσχετίζεται με την αυξημένη πιθανότητα μετάδοσης της λοίμωξης που έχουν γενικώς οι

χρόνιοι ασθενείς, λόγω των πολλαπλών εισαγωγών τους στα διάφορα νοσοκομεία για διάφορες επεμβατικές, διαγνωστικές και θεραπευτικές επεμβάσεις [181]. Εξάλλου, πιο πρόσφατη μελέτη από την ίδια χώρα (Ισπανία) των Munoz-Rodriguez et al [187], έδειξε αντίθετα αποτελέσματα από αυτή των Prieto et al, βρίσκοντας την ίδια συχνότητα HCV λοίμωξης σε 88 ασθενείς με APS και σε υγιείς μάρτυρες της ίδιας γεωγραφικής περιοχής.

Πίνακας 3.7 Συχνότητα των α-PL σε ασθενείς με ηπατίτιδα C [181]

Μελέτη	Αριθμός ασθενών	α-CL θετικοί (%)	LA θετικοί (%)	Εκδηλώσεις APS
Dalekos et al [42]	82	21,9		
Al-Saeed et al [188]	44	27,3		
Matsuda et al [183]	56	12,5		
Prieto et al [180]	100	22		10/22 (45,4%)
Giordano et al [185]	50	12/46*	2	
Leroy et al [175]	115	20,8/30,4**		6/37 (16,2)
Cacoub et al [182]	46	19,5		
Biron et al [186]	124	33	1,6	1/41 (2,4%)
Mangia et al [184]	136	8,1		
Baid et al [178]	18	33,3		5/6 (83,3%)
Dalekos et al [177]	75	37,3	0	3/28 (12%)
Ordi-Ros et al [174]	243	3,3	0	
Cacoub et al [172]	298	26,5		3/79 (3,8%)
Sthoeger et al [176]	48	44		
Harada et al [173]	40	40		2/16 (12,5%)

Οι εκδηλώσεις του APS αναφέρονται στο σύνολο των α-CL θετικών απόμων, * δύο συχνότητες ανάλογα με την τεχνική, ** δύο συχνότητες προ και μετά θεραπεία με αντιτερφερόνη.

Η απουσία αιτιοπαθογενετικής συσχέτισης της HCV λοίμωξης με το APS φάνηκε και από πρόσφατη μελέτη της ομάδας μας [189], κατά την οποία βρέθηκαν θετικά αντι-CL αντισώματα σε 37 από τους 174 HCV θετικούς ασθενείς (21,3%), ποσοστό, που δε διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτό των 50 ασθενών με χρόνια λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β (HBV) που συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη (θετικοί για αντι-CL αντισώματα βρέθηκαν οι 7 από τους 50 HBV θετικούς ασθενείς, 14%). Επιπρόσθετα, εξετάζοντας εάν τα αντι-CL αντισώματα ήταν εξαρτώμενα από τον συμπαράγοντα β2-GPI,

βρέθηκαν θετικοί μόνο οι 4 από τους 174 ασθενείς (2,3%) με HCV λοίμωξη και 1 από τους 50 HBV θετικούς (2%) [189].

HIV λοίμωξη. Ο HIV έχει επίσης βιβλιογραφικά συσχετιστεί με την παρουσία a-CL αντισωμάτων, με συχνότητα από 36% έως 96%, καθώς και αντι-β2-GPI σε ποσοστό μέχρι 5% [190-199]. Ομοίως με την ηπατίτιδα C, ο ρόλος των αντισωμάτων αυτών στην λοίμωξη από τον HIV είναι υπό συζήτηση, με τους περισσότερους ερευνητές να συγκλίνουν στην άποψη ότι μάλλον είναι μη θρομβογενή, αν και έχουν αναφερθεί επαναλαμβανόμενα παροδικά καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια [200], σπληνικά έμφρακτα [201] και νεκρωτικές αγγειακές δερματικές βλάβες [202] σε HIV-θετικούς ασθενείς με θετικούς τίτλους a-CL αντισωμάτων.

Άλλες λοιμώξεις. Εκτός των ατόμων με HCV και HIV λοίμωξη, a-CL αντισώματα έχουν επίσης αναφερθεί και σε διάφορες άλλες λοιμώξεις όπως από τον ιό Epstein-Barr [203, 204], παρβοϊό B19 [205, 206], CMV [207-209], HTLV-I [210, 211], αδενοϊούς [212], τον ιό ανεμοβλογιάς-έρπητος ζωστήρα [213-215], βακτηριακές λοιμώξεις από *Klebsiella* [216], *Salmonella typhi* [129], *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Mycoplasma penetrans* [217] και το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης [216] (Πίνακας 3.6). Σε μερικές από τις λοιμώξεις αυτές η παρουσία των a-CL αντισωμάτων, έχει συσχετισθεί με την εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων APS (Πίνακας 3.7) [218].

3.5. ANTI-PL ANΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΕ ΑΛΛΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Τα αντι-PL αντισώματα έχουν επίσης μελετηθεί και ανιχνευθεί σε μια μεγάλη σειρά καταστάσεων της Εσωτερικής Παθολογίας όπως στην ελκώδη

κολίτιδα, κακοήθη νοσήματα, χρήση φαρμάκων και διάφορες άλλες καταστάσεις (Πίνακας 3.8) [86, 181, 219-221]. Στις περισσότερες των περιπτώσεων, δεν διαπιστώνεται ιδιαίτερη συσχέτιση με εκδηλώσεις του APS.

Πίνακας 3.6. Συχνότητα των a-CL αντισωμάτων σε διάφορες λοιμώξεις [218]

Λοίμωξη/ μικροοργανισμός	Συχνότητα (%)
Τύφος	20
Λέπρα	33-67
Φυματίωση	27-53
Βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα	5-44
Helicobacter pylori	αναφορά
Μυκόπλασμα πνευμονίας	20-53
St. aureus	43
Streptococcus	80
Streptococcus pyogenus	0-80
Σαλμονέλλα	60
E. coli	67
Ορνίθωση	33
Coxiella burneti	42-84
Λεπτοσπείρωση	50
Borrelia burgdoferi	14-41
Saccharomyces cerevisiae	αναφορά
Ελονοσία	30
Kalaazar	αναφορά

Πίνακας 3.7: Εκδηλώσεις του APS που σχετίζονται με διάφορες λοιμώξεις

Κλινικές εκδηλώσεις του APS που έχουν συσχετιστεί με ιογενείς λοιμώξεις και παρουσία a-PL αντισωμάτων.	
Λοίμωξη	Εκδηλώσεις
Ηπατίτιδα C	Νεφρική θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια [178], Εγκεφαλικό έμφρακτο στο οπτικό χίασμα [179]
HIV	Επαναλαμβανόμενα παροδικά καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια [200], Σπληνικά έμφρακτα [201] Νεκρωτικές αγγειακές δερματικές βλάβες [202]
CMV	Θρόμβωση λαγονίου φλέβας [208] Θρόμβωση μεσεντερίου,μηριαίας και ιγνυακής [209]
Ανεμοβλογιά-έρπηης ζωστήρας *	Θρόμβωση λαγονο-μηριαίας και ιγνυακής Κεραυνοβόλος πορφύρα και διάχυτη ενδαγγειακή πήξη [213] Θρόμβωση μπρόσθιας μηριαίας και ιγνυακής αρτηρίας [214] Εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις [215]
Epstein-Barr *	Εν τω βάθει φλεβικές θρομβώσεις και πνευμονική εμβολή [204]
Parvo-B19	Θρομβώσεις [218]
Αδενοϊοί	Θρομβοκυταροπενία [218]

* αναφέρεται στην παρουσία μόνο LAC και όχι a-CL.

Επίσης αντι-PL αντισώματα έχουν ανιχνευθεί και σε ένα μικρό αριθμό υγιών ατόμων του αιμοδοτικού πληθυσμού (2-6,5% για IgG αντι-CL αντισώματα, 4,6-9,4% για IgM αντι-CL αντισώματα και 3,6% για το αντιπηκτικό του λύκου), χωρίς να φαίνεται ιδιαίτερος συσχετισμός με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης θρομβωτικών γεγονότων [222, 223].

Πίνακας 3.8: Καταστάσεις και νοσήματα που σχετίζονται με την παρουσία a-PL αντισωμάτων

1. Πρωτοπαθές αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο
2. Δευτεροπαθές αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο στα πλαίσια: ΣΕΛ, ρευματοειδούς αρθρίτιδας, συστηματικής σκλήρυνσης, κροταφικής αρτηρίτιδας, ψωριασικής αρθρίτιδας, συνδρόμου Sjogren, συνδρόμου Αδαμαντιάδη- Behcet
3. Κακοήθη νοσήματα λεμφώματα, παραπρωτεΐναιμίες, όγκοι συμπαγών οργάνων
4. Φάρμακα φαινοθειαζίδες, προκαΐναμίδη, φαινυτοΐνη, υδραλαζίνη, οιστρογόνα, β-αποκλειστές
5. Λοιμώξεις <u>Ιογενείς:</u> HIV, ηπατίτιδα Α, Β και C, ιλαρά, ανεμοβλογιά-έρπης ζωστήρας, παρωτίτιδα, λοιμώδης μονοπυρήνωση, λοιμώξεις από CMV, ραγνο-B19, αδενοϊοί. <u>Βακτηριακές:</u> Σύφιλη, λέπτρα, φυματίωση, μπορελίωση, λοιμώξεις από κολοβακτηρίδιο, στρεπτόκοκκο, σαλμονέλλες. <u>Παρασιτικές:</u> Ελονοσία
6. Άλλα Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, αυτοάνοση θρομβοπενία, δρεπανοκυτταρική αναιμία, δικτυωτή πελίωση, σύνδρομο Guillain-Barre, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών ουσιών
7. Υγιής πληθυσμός 2-6,5%

ΣΕΛ: συστηματικός ερυθματώδης λύκος, HIV: ανθρώπινος ιός επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας, CMV:κυτταρομεγαλιός.

4.ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

4.1.ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΑΗ)

Η ΑΗ είναι μια χρόνια νεκροφλεγμονώδης ηπατική νόσος άγνωστης αιτιολογίας που οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή του ήπατος, με αποτέλεσμα τη συχνή μετάπτωση σε κίρρωση και την αυξημένη θνητότητα, ιδιαίτερα αν η νόσος δε διαγνωστεί έγκαιρα και αφεθεί χωρίς θεραπεία.

Η νόσος προσβάλλει κυρίως γυναίκες, με αναλογία γυναικών/ανδρών 4:1. Ενώ μέχρι πρόσφατα υπήρχε η άποψη ότι η νόσος προσβάλλει συχνότερα κορίτσια 5-20 ετών, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι κατά την έναρξη της νόσου, οι περισσότεροι ασθενείς είναι ηλικίας 50-70 ετών, διαπίστωση που αναγνωρίζεται και από τα τροποποιημένα κριτήρια για τη διάγνωση της ΑΗ.

Ο επιπολασμός της νόσου στην Βορειοδυτική Ευρώπη υπολογίζεται σε 140-170 ασθενείς/ 1 εκατομμύριο κατοίκους ενώ η μέση ετήσια επίπτωση κυμαίνεται μεταξύ 0,7-1,9 νέες περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους [224, 225]. Αντίθετα στην Ιαπωνία η συχνότητα της νόσου θεωρείται πιο μικρή υπολογιζόμενη σε 0.8 έως 1.5 ασθενείς/1 εκατομμύριο κατοίκους. Υπολογίζεται ότι στη Βόρεια Αμερική και τη Δυτική Ευρώπη αποτελεί το 20% του συνόλου των χρόνιων ηπατιτίδων ενώ στη Νότια Αμερική φαίνεται να αντιπροσωπεύει μόνο το 5 έως 10% [226]. Στη χώρα μας δεν υπάρχουν σαφή στοιχεία για την επιδημιολογία της νόσου. Εντούτοις, πρόδρομες μελέτες στην Κεντρική Ελλάδα έχουν δείξει συχνότητα $8.25/10^5$ κατοίκους [227].

4.1.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΑΗ

Η ΑΗ μπορεί να εκδηλωθεί ως εξής [228-232]:

A). Ήπια συμπτωματική μορφή. Αποτελεί την πιο συχνή μορφή (περίπου 60%) και συνήθως τα άτομα αυτά μπορεί να αναπτύξουν κίρρωση χωρίς να έχουν ιδιαίτερα ενοχλήματα. Υπάρχουν διάφορα γενικά μη ειδικά συμπτώματα, όπως κακουχία, ανορεξία, απώλεια βάρους, αίσθημα αδυναμίας και εύκολης κόπωσης, διάχυτες αρθραλγίες και μυαλγίες. Στο 10% μπορεί να υπάρξει μετρίου βαθμού πυρετική κίνηση (θ : 38-38.5 °C) και σπανιότατα υψηλός πυρετός (έως 39.5 °C). Αντικειμενικά μπορεί να διαπιστωθεί υπερτρίχωση, σταγονοειδής ακμή, πολλαπλές τηλεαγγειεκτασίες και ηπατοσπληνομεγαλία. Αμηνόρροια και ίκτερος μπορεί επίσης να συνυπάρχουν.

B). Οξεία μορφή. Απαντάται στο 20-30% των ασθενών, με κλινική εικόνα παρόμοια με αυτή της οξείας ιογενούς ηπατίτιδας. Σπάνια η οξεία μορφή μπορεί να είναι ανικτερική ενώ σπανιότερα μπορεί να εκδηλωθεί με τη μορφή οξείας κεραυνοβόλου ηπατικής ανεπάρκειας (2-10% του συνόλου των περιπτώσεων ΑΗ), συνήθως σε παιδιά μικρότερα των 10 ετών.

Γ). Ασυμπτωματική μορφή. Απαντάται στο 10-20 % των ασθενών με ΑΗ. Η νόσος διαδράμει εντελώς ασυμπτωματικά, οπότε και η διάγνωση γίνεται τυχαία (στα πλαίσια κλινικής εξέτασης με διαπίστωση ηπατοσπληνομεγαλίας και βιοχημικών εξετάσεων ρουτίνας οπότε μπορεί να διαπιστωθεί τρανσαμινασαιμία) και συνήθως σε προχωρημένα στάδια.

Η ΑΗ συχνά συσχετίζεται με διάφορες άλλες αυτοάνοσες καταστάσεις όπως αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (η πιο συχνή συνυπάρχουσα διαταραχή), νόσος Graves, ελκώδης κολίτιδα, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, ιδιοπαθής θρομβοκυττοπενία, ΣΕΛ, ρευματοειδής αρθρίτιδα, σύνδρομο Sjogren, πολυμυοσίτιδα, μικτή νόσος του συνδετικού ιστού, κοιλιοκάκη, μυασθένεια

Gravis, αλωπεκία, ονυχοδυστροφία, υμενίτιδα, ομαλό λειχήνα κ.α. [225, 233].

Οι εξωηπατικές αυτές εκδηλώσεις παρατηρούνται στο 10-50% των ασθενών με ΑΗ [233].

Πίνακας 4.1: Εξωηπατικές συσχετίσεις της ΑΗ [233]

ΣΥΧΝΕΣ	ΣΠΑΝΙΟΤΕΡΕΣ
Αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα	Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
Νόσος Graves	Ιδιοπαθής θρομβοκυττοπενία
Ελκώδης κολίτιδα	Συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος
	Σύνδρομο Sjogren
	Πολυμυοσίτιδα
	Μικτή νόσος του συνδετικού ιστού
	Κοιλιοκάκη
	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
	Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης
	Αλωπεκία
	Ομαλός λειχήνας
	Μιασθένεια Gravis

4.1.2. ΕΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΗ

Εκτός των επηρεασμένων ηπατικών βιοχημικών δεικτών (κυρίως αύξηση της χολερυθρίνης και των αμινοτρανσφερασών), χαρακτηριστική είναι και η παρουσία διάχυτης υπεργαμμασφαιραιμίας (κυρίως IgG, ενώ η IgA μπορεί να είναι μειωμένη) καθώς και διαφόρων αυτοαντισωμάτων, που αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικούς εργαστηριακούς δείκτες για τη διάγνωση, τη διαφορική διάγνωση και ταξινόμηση της ΑΗ [228-230, 233, 234].

Σύμφωνα με τα αυτοαντισώματα, που ανιχνεύονται, η ΑΗ υποδιαιρέθηκε αρχικά σε τρεις τύπους [228, 235-237]: α) την ΑΗ τύπου 1 (ΑΗ-1), που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ANA ή/και SMA και ήταν παλαιότερα γνωστή ως κλασσική ή λυκοειδής ηπατίτιδα. Επιπλέον, ανιχνεύονται p-ANCA και αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (αντι-ASGP-R). β) Την ΑΗ τύπου 2 (ΑΗ-2), που χαρακτηρίζεται από την παρουσία ειδικών αυτοαντισωμάτων έναντι μικροσωμιακών αντιγόνων ήπατος-νεφρών τύπου 1 (liver-kidney microsomal antibodies, αντι-LKM 1) ή/και αυτοαντισωμάτων κατά

κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (antibodies against liver cytosol type 1, αντι-LC 1). γ) Την ΑΗ τύπου 3 (ΑΗ-3), που χαρακτηρίζεται από την ανίχνευση αντισωμάτων κατά διαλυτών αντιγόνων ήπατος (antibodies against soluble liver antigens, αντι-SLA), τα οποία, πολύ πρόσφατα, βρέθηκε ότι είναι ίδια με τα αυτοαντισώματα εκείνα κατά αντιγόνου ήπατος-παγκρέατος (antibodies against liver-pancreas antigen, αντι-LP) [238]. Για τον παραπάνω λόγο σήμερα πλέον μιλάμε για αντι-SLA/LP αυτοαντισώματα.

Όμως μετά από πρόσφατα κλινικά, ορολογικά και γενετικά δεδομένα, έγινε σαφές ότι οι ασθενείς με ΑΗ-3 παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά με εκείνα των ασθενών με ΑΗ-1. έτσι έχει προταθεί πλέον η ταξινόμηση της ΑΗ σε δύο κύριες κατηγορίες: την ΑΗ-1, με θετικά ANA, SMA, p-ANCA, αντι-ASGPR ή/και αντι-SLA/LP αντισώματα και την ΑΗ-2, με θετικά αντι-LKM ή αντι-LC 1 αντισώματα [230, 235, 237, 239, 240].

Επιπλέον, πολύ πρόσφατα, έχει αναγνωρισθεί μια ειδική μορφή ΑΗ στα πλαίσια του συνδρόμου αυτοάνοσης πολυενδοκρινολοπίας τύπου 1 (ΣΑΠΕ-1), που χαρακτηρίζεται από χρόνια καντιντίαση βλεννογόνων και δέρματος, αυτοάνοση προσβολή πολλαπλών ενδοκρινών αδένων και στο 10-18% των ασθενών από προσβολή του ήπατος. Η ΑΗ στα πλαίσια του ΣΑΠΕ-1 χαρακτηρίζεται από την ανίχνευση αντισωμάτων κατά μικροσωμίων ήπατος (liver microsomal antibodies, αντι-LM) [241-244].

Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι ορισμένοι ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα C ή D μπορούν να αναπτύξουν αντισώματα που είναι παρόμοια με αυτά που ανιχνεύονται στην ΑΗ [244-246]. Στις περιπτώσεις αυτές είναι πολύ σημαντική η κλινική διάκριση μεταξύ των δυο αυτών μορφών, καθώς τυχόν χορήγηση α-ιντερφερόνης (που δίνεται στις χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες)

μπορεί να επάγει έξαρση ή ενεργοποίηση μιας λανθάνουσας ΑΗ [247-250], ενώ χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής (βασική θεραπευτική στρατηγική στην αντιμετώπιση της ΑΗ), οδηγεί σε αυξημένο ιικό πολλαπλασιασμό και επιδείνωση της ηπατικής βλάβης στις περιπτώσεις ιογενών λοιμώξεων [245, 251]. Επιπρόσθετα, ανίχνευση ANA, αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων (AMA), και αντι-μικροσωμιακών αντισωμάτων έχει παρατηρηθεί και σε περιπτώσεις φαρμακευτικών ηπατιτίδων που επάγονται από αυτοάνοσους μηχανισμούς [244, 252].

4.1.3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΗ-1

α. Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)

Η ΑΗ-1 χαρακτηρίζεται από την παρουσία ANA σε σημαντικούς τίτλους (θετικός τίτλος $\geq 1:80$ σε ενήλικες και $\geq 1:40$ σε παιδιά). Τα ANA ανιχνεύονται με ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα HEp2 κύτταρα [95, 232]. Έχουν παρατηρηθεί διάφοροι τύποι ανοσοφθορισμού σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων, με ποιο συχνούς τον ομοιογενή ή διάχυτο (homogenous) (συχνότητα 34-58%) και τον λεπτό στικτό (fine speckled) (συχνότητα 21-34%) [95, 228, 253]. Τα αυτοαντιγόνα στόχοι των ANA που ανιχνεύονται στην ΑΗ-1, ποικίλλουν (έναντι μονής ή διπλής έλικας DNA, ιστόνες, κυκλίνη A, t-RNA, sn-RNPs, λαμινίνη A και C, κεντρομεριδίο κ.λ.π.), αλλά δεν φαίνεται να έχουν ιδιαίτερη διαγνωστική ή άλλη αξία, ώστε να χρησιμοποιηθούν για την διάκριση διαφορετικών κλινικών υποομάδων της ΑΗ-1 [254-258].

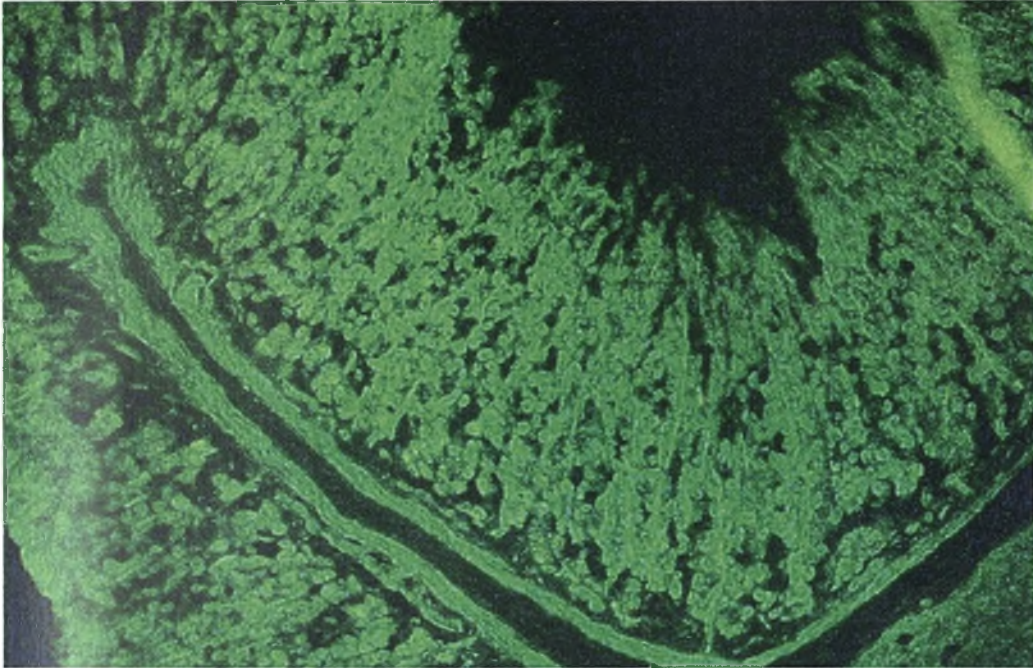
β. Αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών (SMA)

Τα SMA ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ΗEr2 κύτταρα, ή επί το ιδανικότερο τομές ήπατος-νεφρών-στομάχου σε κρουστάτη (θετικός τίτλος $\geq 1:40$) [95, 232]. Το βασικότερο αυτοαντιγόνο στόχος είναι η F-ακτίνη του κυτταροσκελετού, αλλά εμφανίζεται αντιδραστικότητα και έναντι άλλων συστατικών του κυτταροσκελετού (τουμπουλίνη, βιμεντίνη, δεσμίνη, σκελετίνη). Σε γενικές γραμμές δεν φαίνεται ότι οι αντιδραστικότητες αυτές να έχουν προγνωστική ή διαγνωστική αξία [237, 244, 257, 259]. Εντούτοις η παρουσία SMA κατά F-ακτίνης χαρακτηρίζει συνήθως την πορεία και την έκβαση των προσβληθέντων (Εικόνα 6) [95, 260, 261]. Οι ασθενείς αυτοί είναι νεότεροι, συνήθως HLA-DR3 θετικοί, με φτωχή ανταπόκριση στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή, και η ανάγκη μεταμόσχευσης εμφανίζεται σχετικά πρώιμα, σε σχέση με τους ANA-θετικούς, αλλά SMA-Φακτίνη-αρνητικούς ασθενείς [95, 260, 261].

Χαμηλοί τίτλοι SMA (1:40-1:160) ανιχνεύονται συχνά και σε ασθενείς με οξείες ή χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες, αλλά στις περισσότερες από τις περιπτώσεις αυτές δεν παρουσιάζεται ειδικότητα έναντι της F-ακτίνης [42, 43, 95, 97, 228, 230].

Τόσο τα ANA όσο και τα SMA, μπορεί να εξαφανιστούν κατά την διάρκεια της ανοσοκατασταλτικής αγωγής, χωρίς όμως αυτό να αποτελεί προγνωστικό παράγοντα καλύτερης έκβασης της θεραπείας της AH-1 [262]. Επιπλέον, ο τίτλος των ANA και SMA κατά τη διάγνωση ή η ελάττωσή του στη διάρκεια της θεραπείας δεν φαίνεται να αποτελούν αξιόπιστο δείκτη εκτίμησης της βαρύτητας και της πρόγνωσης της νόσου [262]. Σύμφωνα με τα παραπάνω

ευρήματα, τα ANA και τα SMA μάλλον δεν συμμετέχουν στην παθογένεια της AH-1.



Εικόνα 6: Φθορισμός SMA έναντι νηματίων F-ακτίνης σε υπόστρωμα τομής στομάχου αρουραίου που χαρακτηρίζει τους ασθενείς με AH.

γ. Αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA)

Τα ANCA ανιχνεύονται με ΕΑΦ, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα απομονωμένα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, ανευρίσκονται στο 65-96% των ασθενών με AH-1. Στην πλειονότητά τους πρόκειται για p-ANCA [73, 81, 95, 230, 261, 263-265] και μέχρι στιγμής δεν έχουν ανιχνευθεί στην AH-2 [263]. Οι τίτλοι ανίχνευσης τους είναι σημαντικά υψηλότεροι σε σχέση με άλλες χρόνιες ηπατικές παθήσεις, ενώ η παρουσία τους φαίνεται να σχετίζεται με πιο βαριά ηπατική νόσο [81, 263, 264]. Τα αυτοαντιγόνα στόχοι των p-ANCA στην AH-1 ποικίλλουν, όπως καθεψίνη G, καταλάση, α-ενολάση, λακτοφερίνη, ομάδα χρωμοσωμικών πρωτεϊνών υψηλής κινητικότητας (HMG1 και HMG2-high mobility group non-histone chromosomal proteins) [72, 95,

264-267]. Η ετερογένεια αυτή, υποδεικνύει την μικρή μάλλον, κλινική σημασία της αντιγονοειδικότητας των αυτοαντισωμάτων αυτών στην AH-1 [264, 265].

δ. Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (anti-ASGP-R)

Ο ASGP-R είναι ένας ειδικός υποδοχέας των ηπατοκυττάρων, που εκφράζεται κυρίως στην επιφάνεια των κυττάρων που βρίσκονται στις περιπυλαίες περιοχές των ηπατικών λόβιων και η κύρια λειτουργία του είναι η σύνθεση και μεταφορά εντός του κυττάρου γλυκοπρωτεϊνών που φέρουν ομάδες γαλακτόζης [244, 259]. Αντι-ASGP-R αντισώματα ανιχνεύονται στο 75-90% των ασθενών με AH-1 [228, 230, 241] και η παρουσία τους σχετίζεται θετικά με την ενεργότητα της νόσου [241, 261, 268]. Η ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων αυτών παρουσιάζει αρκετές τεχνικές δυσκολίες καθώς είναι δύσκολη η απομόνωση καθαρού αντιγόνου [237]. Αντι-ASGP-R αντισώματα ανιχνεύονται σε χαμηλούς όμως τίτλους και σε μικρότερο ποσοστό και σε άλλες ηπατικές παθήσεις όπως πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ), αλκοολική ηπατοπάθεια και οξείες ιογενείς ηπατίτιδες (κυρίως Α και Β). Το γεγονός αυτό μειώνει την ειδικότητα του αυτοαντισώματος αυτού [261, 268]. Εντούτοις, τα αντι-ASGP-R αντισώματα μπορούν να βοηθήσουν στη διάγνωση της AH-1 όταν τα άλλα αυτοαντισώματα είναι αρνητικά.

ε. Αντι-SLA/LP αντισώματα

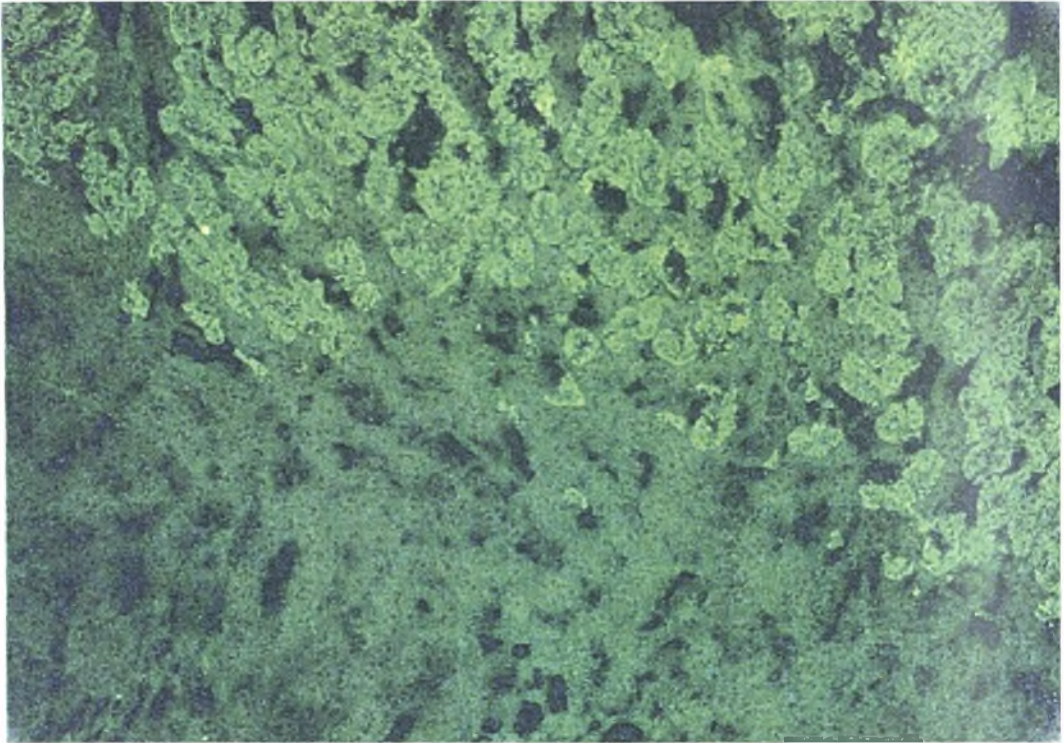
Τα αντι-SLA/LP ανιχνεύονται με μεθόδους ELISA, με ραδιοανοσοενζυμικές μεθόδους, με μεθόδους ανοσοαποτύπωσης και ανοσοκαθίζηση με ραδιοδεδμευτικές μεθόδους [95, 238, 240, 268-271]. Είναι αυτοαντισώματα ειδικά για την AH-1, ανευρίσκονται στο 10-30% των ατόμων, δεν ανιχνεύονται

ποτέ σε οξείες ή χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες [228, 230, 240, 272] και αποτελούν δείκτη σοβαρότερης μορφής της νόσου [273]. Το αυτοαντιγόνο στόχος είναι μια πρωτεΐνη του κυτοσολίου μοριακού βάρους 50 kDa, με άγνωστη μέχρι στιγμής λειτουργία [238] όπως φαίνεται από μελέτες του πρόσφατα απομονωμένου αυτοαντιγόνου των αντι-SLA/LP, σε αντίθεση με προηγούμενα ευρήματα που θεωρούσαν ότι ανήκε στις κυτοκερατίνες [274] ή τις πρωτεϊνικές υπομονάδες της S-τρανσφεράσης της γλουταθειόνης (GST, υπομονάδες γ_a , γ_{b1} και γ_c) [275]. Τελευταία το αυτοαντιγόνο στόχος έχει κλωνοποιηθεί και φαίνεται να είναι μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που σχετίζεται με το σύμπλεγμα της t RNP (Ser)Sec και ανήκει στην οικογένεια των υδρόξυ-μέθυλο-τρανσφερασών σερίνης [238, 276].

4.1.4. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΠΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΗ-2

α. Αντι-LKM αντισώματα

Τα αντισώματα αυτά περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1973 [277] και ανιχνεύονται με την τεχνική του ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα ήπαρ και νεφρό αρουραίου, δίνοντας ένα διάχυτο σήμα στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων, και αποκλειστική αντιδραστικότητα μόνο του P3 τμήματος των εγγύς νεφρικών σωληναρίων, με αποτέλεσμα την εμφάνιση χαρακτηριστικής διαχωριστικής γραμμής (borderline) (Εικόνα 7) [278]. Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται κυρίως στην ΑΗ-2, ενώ σπανιότερα ανευρίσκονται στην χρόνια ηπατίτιδα C, τη χρόνια ηπατίτιδα D και σε ορισμένες περιπτώσεις φαρμακευτικών ηπατιτίδων.



Εικόνα 7: Αντι-LKM αντισώματα. Υπάρχει φθορισμός μόνο των εγγύς εσπειραμένων σωληναρίων σε τομή νεφρού αρουραίου με αποτέλεσμα την δημιουργία χαρακτηριστικής διαχωριστικής γραμμής (borderline).

Τα αντι-LKM διακρίνονται σε τρεις επιμέρους τύπους [95, 228, 241, 244, 259, 261]. Τα αντι-LKM-1, ανιχνεύονται στην πλειονότητα των περιπτώσεων της AH-2 (90-95 %) καθώς και στο 2-10% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C [95, 228, 244, 259, 261, 279], και έχουν ως αυτοαντιγόνο-στόχο το κυτόχρωμα P450 2D6 (ΚΥΤ P4502D6) [280-282]. Τα αντι-LKM-2 ανιχνεύονται σε ορισμένες περιπτώσεις φαρμακευτικών ηπατιτίδων (ιδιαίτερα από πιενλικό οξύ) [241, 244, 259, 261], με αυτοαντιγόνο στόχο το ΚΥΤP4502C9 [283]. Τέλος τα αντι-LKM-3, έχουν ως αυτοαντιγόνο-στόχο την οικογένεια 1 των UDP-γλυκουρονικών τρανσφερασών (UGT-1), ανιχνεύονται στο υπόλοιπο 5-10 % των ασθενών με AH-2 και στο 10-13% των ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα D [284-288]. Με τεχνικές ανοσοαποτύπωσης χρησιμοποιώντας εκχύλισμα ηπατικών μικροσωμίων διαπιστώθηκε ότι τα αντι-LKM-1

αντιστοιχούν σε μια πρωτεϊνική μπάντα 50 kDa, τα αντι-LKM-3 σε μια μπάντα 55 kDa, ενώ μπορεί επίσης να ανιχνευθούν και μπάντες 64 και 80 kDa [279].

Τα αντι-LKM-1 που ανιχνεύονται στην AH-2 σε σύγκριση με εκείνα που ανιχνεύονται στους ασθενείς με HCV λοίμωξη, φαίνεται ότι αναγνωρίζουν διαφορετικούς επίτοπους. Στην AH-2 τα αντι-LKM-1 αναγνωρίζουν μικρούς και κυρίως γραμμικούς επίτοπους του KYT P4502D6 [289], ενώ στην HCV λοίμωξη τα αντισώματα αυτά στρέφονται συχνότερα έναντι διαφορετικών επιτόπων του KYT P4502D6, τόσο γραμμικών όσο και τρισδιάστατων [279, 284, 290-293]. Συγκεκριμένα στην AH-2, αναγνωρίζονται πέντε κύριοι γραμμικοί B κυτταρικής σειράς επίτοποι του CYP2D6 : 257-269 στο 85% των ατόμων, 321-351 στο 53%, 373-389 στο 7%, 410-429 στο 13% [294] και πρόσφατα ο επίτοπος 193-212 στο 93% των ατόμων με AH-2 [295].

Οι τίτλοι των αντι-LKM-1 αντισωμάτων των ατόμων με AH-2 σε σχέση με εκείνους των LKM-1 θετικών/HCV θετικών ασθενών φαίνεται να είναι υψηλότεροι χρησιμοποιώντας ΕΑΦ σαν μέθοδο ανίχνευσης, αλλά η εφαρμογή πιο ευαίσθητων ποσοτικών τεχνικών όπως η ανοσοκαθίζηση ανασυνδυασμένου KYT P4502D6 σημασμένου με ³⁵S-μεθειονίνη, δείχνει ότι δεν υπάρχουν στατιστικές σημαντικές διαφορές στους τίτλους των αντισωμάτων αυτών μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών [296, 297].

Τα αντι-LKM-1 είναι πολύ πιθανό να συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου δεδομένου ότι στους ασθενείς με AH-2, υπάρχει έκφραση του KYT P4502D6 στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων [298-301] και επομένως μπορεί δυνητικά να προκληθεί ενεργοποίηση ανοσολογικών μηχανισμών είτε μέσω συμπληρώματος είτε μέσω της εξαρτώμενης από αντίσωμα κυτταροτοξικότητας [228, 241]. Επιπρόσθετα, η παρουσία αντι-LKM-1 στους

ασθενείς με ηπατίτιδα C, δεν φαίνεται να σχετίζεται με την βαρύτητα της νόσου ή την ανταπόκριση στην θεραπεία με ιντερφερόνη. Επίσης φαίνεται λογικό να υποθέσει κανείς ότι τα αντι-LKM-1 αντισώματα εμφανίζονται νωρίς, σχεδόν αμέσως με την έναρξη της ανοσολογικά ρυθμιζόμενης ηπατικής βλάβης, δεδομένου ότι έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη τους σε περιπτώσεις απόρριψης ηπατικού μοσχεύματος [302].

β. Αντι-LC1 αντισώματα

Τα αντι-LC1, ανιχνεύονται με ΕΑΦ, με διπλή ανοσοδιάχυση, με ανάστροφη ανοσοηλεκτροφόρηση και με ανοσοαποτύπωση [303, 304]. Μετά την ταυτοποίηση του αυτοαντιγόνου-στόχου των αντι-LC1 (ένζυμο φορμυλίνο-τρανσφεράση-κυκλοδεαμινάση που εμπλέκεται στον μεταβολισμό του φυλικού οξέος) [305], έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι ELISA και ανοσοκαθίζησης [95, 257, 261, 306]. Με την τεχνική του ΕΑΦ μπορεί να παρατηρηθεί φθορισμός των ηπατοκυττάρων που διακόπτεται γύρω από την κεντρική φλέβα, αλλά λόγω συνύπαρξης τους με την παρουσία των αντι-LKM-1 αντισωμάτων στο 50% των ασθενών, το πρότυπο αυτό δεν είναι εμφανές. Εκτός από την AH-2, τα αντι-LC1 μπορούν να παρατηρηθούν και σε ασθενείς με ηπατίτιδα C /αντι-LKM-1 θετικούς, ενώ πρόσφατα έχει δημοσιευθεί η παρουσία τους και σε HCV ασθενείς που ήταν αρνητικοί για αντι-LKM1 αντισώματα [306, 307]. Η ύπαρξη των αντι-LC1 στους ασθενείς με AH-2, φαίνεται να συσχετίζεται με την ενεργότητα και τη βαρύτητα της νόσου υποδεικνύοντας τον πιθανό παθογενετικό ρόλο αυτών των αντισωμάτων [308].

4.1.5.ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΠΟΛΥΕΝΔΟΚΡΙΝΟΠΑΘΕΙΑΣ 1 (ΣΑΠΕ-1)

Το ΣΑΠΕ-1 είναι ένα σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση ποικίλων αυτοάνοσων διαταραχών. Πιο αναλυτικά, χαρακτηρίζεται από τρία κύρια συστατικά στοιχεία: χρόνια καντιντίαση βλεννογόνων ή δέρματος, υποπαραθυρεοειδισμό και νόσο Addison (δύο από τα τρία απαιτούνται για τη διάγνωση). Σε μικρότερο ποσοστό παρατηρούνται αλωπεκία, ονυχοδυστροφία, λεύκη κ.α. (πίνακας 4.2) [243, 309]. Σε ποσοστό 10-15 % υπάρχει και προσβολή του ήπατος με τη μορφή ΑΗ, που όπως αναφέρθηκε χαρακτηρίζεται από την ανίχνευση αντι-LM αντισωμάτων. Η γενετική βάση του συνδρόμου αυτού έχει βρεθεί και έχει να κάνει με ετερογενείς μεταλλάξεις του γονιδίου AIRE (autoimmune regulator gene) στο χρωμόσωμα 21 [241-244]. Το σύνδρομο αυτό αποτελεί μέχρι στιγμής τη μόνη γνωστή αυτοάνοση διαταραχή που έχει σαφή μονογονιδιακή συσχέτιση [242, 243]. Το γονίδιο AIRE κωδικογραφεί μια πρωτεΐνη που λειτουργεί ως πυρηνικός μεταγραφικός ενεργοποιητής ενώ συγχρόνως επηρεάζει και την έκφραση των HLA II μορίων. Εκφράζεται κυρίως στο θύμο και τα περιφερικά λεμφικά όργανα και πιστεύεται ότι είναι σημαντικός παράγοντας για τη διαδικασία επιλογής των ανοσοδραστικών κυττάρων στο θύμο [310].

Πίνακας 4.2: Συχνότητα των πιο κοινών διαταραχών στο ΣΑΠΕ-1 [309]

ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
Υποπαραθυρεοειδισμός	79
Νόσος Addison	72
Ωοθηκική δυσλειτουργία	60
Ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης	12
Υποθυρεοειδισμός	4
Χρόνια καντιντίαση δέρματος ή βλεννογόνων	100
Δυστροφία αδαμαντίνης δοντιών	77
Κερατοπάθεια	35
Σύνδρομο δυσαπορρόφησης	18
Αποχρωματισμός δέρματος	13
Αναιμία	13
Αυτοάνοση ηπατίτιδα	12

Αντι-LM αντισώματα

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως είναι χαρακτηριστικά αντισώματα που ανιχνεύονται στην ειδική μορφή ΑΗ στα πλαίσια του ΣΑΠΕ-1 και θεωρούνται πολύ υψηλής ειδικότητας [241, 243]. Δίνουν χαρακτηριστικό φθορισμό με την τεχνική του ΕΑΦ μόνο σε τομές ήπατος (κυρίως στα πέριξ των κεντρικών φλεβών ηπατοκύτταρα, σε αντίθεση με το ομοιόμορφο πρότυπο ανοσοφθορισμού των ηπατοκυττάρων των αντι-LKM αντισωμάτων) ενώ δεν δίνουν καθόλου φθορισμό σε τομές νεφρού (επίσης σε αντίθεση με τα αντι-LKM) [311-313]. Το αυτοαντιγόνο στόχος των αντι-LM είναι το ΚΥΤΡ4501Α2 [311-313]. Στο ΣΑΠΕ-1 εκτός των αντισωμάτων κατά του ΚΥΤΡ4501Α2 έχουν ανιχνευθεί επίσης και αντισώματα έναντι του ΚΥΤΡ4501Α1, του ΚΥΤΡ4502Β6 και του ΚΥΤΡ4502Α6 (τα τελευταία ανευρίσκονται και στο 2% των ασθενών με ηπατίτιδα C) [314], αλλά η παρουσία των αυτοαντισωμάτων αυτών δεν φαίνεται να σχετίζεται με κλινικές εκδηλώσεις ΑΗ στο ΣΑΠΕ-1 [313]. Παρόμοια αντι-LM αντισώματα έχουν παρατηρηθεί εκτός του ΣΑΠΕ-1 και στην φαρμακευτική ηπατίτιδα επαγόμενη από διυδραλαζίνη (ίδιο αυτοαντιγόνο ΚΥΤΡ4501Α2) [315].

4.1.6. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΑΗ

Όπως σε όλες τις αυτοάνοσες νόσους, οι περισσότερες μελέτες γενετικής προδιάθεσης έχουν γίνει στα γονίδια του συμπλέγματος ΜΗC. Δύο είναι οι κυριότεροι συσχετισμοί που έχουν βρεθεί: ο απλότυπος HLA A1-B8-DR3 που παρατηρείται κυρίως σε νεαρότερους ασθενείς, με μεγαλύτερη συχνότητα υποτροπής μετά τη θεραπεία, και ο απλότυπος HLA-DR4 που σχετίζεται με

μεγαλύτερη ηλικία και φαινομενικά ηπιότερη νόσο [316, 317]. Επίσης έχουν βρεθεί ασθενέστερες συσχετίσεις με τα αλληλόμορφα γονίδια DRB4*0103, DRB4*0301 (φτωχή ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή) και DRB4*0401 (ηπιότερη νόσος) [317]. Σε μοριακό επίπεδο βρέθηκε ότι σημαντικό ρόλο παίζει η εξαμερής αλληλουχία αμινοξέων LLEQKR στην θέση 67-72 του γονιδίου της HLA-DRβ πολυπρωτεϊνικής αλυσίδας του HLA-DR μορίου και κυρίως η τοποθέτηση λυσίνης ή αργινίνης στην θέση 71, που θεωρείται κρίσιμης σημασίας γιατί αυτή η περιοχή συνδέεται με την α-έλικα της αντιγονοδευσμευτικής περιοχής [318].

Οι παραπάνω μελέτες αναφέρονται κατά κύριο λόγο σε Καυκάσιους πληθυσμούς. Αντίθετα στην Ιαπωνία ο απλότυπος HLA A1-B8-DR3 είναι πολύ σπάνιος και υπάρχει επιπλέον αυξημένη συχνότητα απλότυπου Bw54 [319, 320] , ενώ σε περιοχές όπως η Βραζιλία και η Αργεντινή υπάρχει ισχυρή συσχέτιση σε παιδιατρικούς ασθενείς με τα αλληλόμορφα γονίδια HLA-DRB1*1301-DQB1*0603 [321] και στο Μεξικό συσχέτιση με HLA-DRB1*0404 [322].

Πίνακας 4.3 : Αλληλόμορφα γονίδια που σχετίζονται με την ΑΗ.

ΑΛΛΗΛΙΟ	ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ
DRB1*0301	3,0	Αργεντινή, παιδιά
DRB1*0301	3,39	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0401 (σε DRB1*0301 αρνητικούς)	3,35	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0404	7,71	Μεξικό
DRB1*0405	10,45	Αργεντινή, ενήλικες
DRB1*0405		Ιαπωνία
DRB1*1301	16,3	Αργεντινή, παιδιά
DRB1*1501	0,52	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0301/DRB1*0301	7,61	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0301/DRB1*04	5,09	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
Lysine-71	4,65	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι

Η AH-2 φαίνεται να συσχετίζεται γενετικά με το αλληλόμορφο γονίδιο DRB1*0701 [323], ενώ έχουν επίσης ενοχοποιηθεί και οι απλότυποι B14, DR3 C4A-QO [324].

Η οικογενής προδιάθεση για AH, δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά και υπάρχουν μόνο μερικές αναφορές εμφάνισης AH και σε άλλο μέλος της οικογένειας [325, 326]. Πάντως, είναι πολύ συχνή η παρατήρηση γενικά αυτοάνοσης διαταραχής σε συγγενείς πρώτου βαθμού ατόμων με AH, κάτι που έχει συμπεριληφθεί στα πρόσφατα τροποποιημένα κριτήρια για τη διάγνωση της AH [230].

4.1.7. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ AH

Τα ιστοπαθολογικά ευρήματα είναι χαρακτηριστικά αλλά όχι παθογνωμονικά της AH και δεν διαφέρουν στους διάφορους τύπους. Η βιοψία θεωρείται σημαντικό εργαλείο για τη βαθμοποίηση και σταδιοποίηση της νόσου καθώς επίσης και για την εκτίμηση του θεραπευτικού αποτελέσματος. Τα κυριότερα από τα ιστολογικά αυτά ευρήματα είναι: φλεγμονώδεις διηθήσεις στα πυλαία διαστήματα κυρίως από CD4+ αλλά και αρκετά πλασματοκύτταρα όπως και μερικά ηωσινόφιλα, περιπυλαία ή διαφραγματική ηπατίτιδα (interface hepatitis), γεφυροποιές νεκρώσεις μεταξύ πυλαίων διαστημάτων, λοβιακή φλεγμονή με ποικίλη ένταση κυρίως στην ζώνη 1 συχνά με σχηματισμό ψευδοαδενίων (ροζέτες) χωρίς εμφανή αυλό, παρουσία πολυπύρηνων ηπατοκυττάρων (γιγαντοκυτταρική ηπατίτιδα) και σπάνια χολόσταση στις ζώνες 2 και 3 [327-329]. Η παρουσία των στοιχείων αυτών είναι σημαντική για τη διάγνωση της AH και συμπεριλαμβάνεται στο τροποποιημένο σύστημα βαθμολόγησης (Πίνακας 4.4) .

Πίνακας 4.4: Βαθμοποίηση των ιστολογικών βλαβών που συμπεριλαμβάνονται στο τροποποιημένο σύστημα βαθμολόγησης για την διάγνωση της ΑΗ [230].

Περιπυλαία-διαφραγματική ηπατίτιδα	+3
Λεμφοκυτταρική και/ή πλασματοκυτταρική φλεγμονή	+1
Σχηματισμός ροζετών	+1
Τίποτε από τα παραπάνω	-5
Αλλοιώσεις χοληφόρων	-3
Άλλες βλάβες	-3

4.1.8. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΑΗ

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι στο ήπαρ των ατόμων με ΑΗ υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως CD4 Τα/β κυττάρων και κατά δεύτερο λόγο κυττάρων CD8, NK (CD16/CD56), μακροφάγων και Β-λεμφοκυττάρων [330]. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την παρατήρηση ότι στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων των ατόμων με ΑΗ, σε αντίθεση με τους υγιείς υπάρχει έκφραση MHC II μορίων [331], δείχνει ότι πιθανότατα υπάρχει αντιγονοπαρουσίαση, με συνέπεια την τοπική ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού και τελικό αποτέλεσμα τη φλεγμονή και τη νέκρωση [332, 333].

Τουλάχιστον δύο αντιγόνα έχουν βρεθεί ότι μπορούν να εκφραστούν στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων των ασθενών με ΑΗ: α. το KYTP450 2D6, το βασικό αυτοαντιγόνο των αντι-LKM-1 αντισωμάτων και β. ο ASGP-R συστατικό ενός μακρομοριακού συμπλέγματος LSP (Liver specific protein), με κυριότερη εντόπιση στα περιπυλαία ηπατοκύτταρα. Η παρουσίαση αυτών των αντιγόνων στα λεμφοκύτταρα του ήπατος πιθανότατα ευθύνεται για την ηπατοκυτταρική βλάβη αλλά και για την ενεργοποίηση αυτόλογων Β λεμφοκυττάρων για την παραγωγή αντισωμάτων [333]. Εκτός των παραπάνω, υπάρχουν και αντιγόνα που δεν φαίνεται να εκφράζονται στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων, όπως τα SLA/LP και LC-1, αλλά θεωρούνται

παθογενετικά με άγνωστους μέχρι στιγμής μηχανισμούς, καθώς φαίνεται να σχετίζονται με βαρύτερη κλινική εικόνα και χειρότερη πρόγνωση [95, 257, 261].

Στην προσπάθεια μελέτης της παθογένειας της νόσου, το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί σε διαφορετικά στάδια και συστατικά στοιχεία του ανοσολογικού μηχανισμού. Εκτός από τη γενετική προδιάθεση και το συσχέτισμό με συγκεκριμένους HLA απλότυπους, που έχει ήδη αναφερθεί, έχουν επίσης διερευνηθεί το σύστημα των κυτταροκινών, τα μόρια προσκόλλησης, η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων, αποπτωτικών μηχανισμών, οξειδωτικών μηχανισμών κ.α.

Κυτταροκίνες: ένα διαφορετικό προφίλ κυτταροκινών φαίνεται να υπάρχει στους ασθενείς με ΑΗ. Για παράδειγμα η IL-4 (αναπτυξιακός και διαφοροποιητικός παράγοντας των Th2 κυττάρων) φαίνεται να βρίσκεται σε υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τα υγιή άτομα όπως και η χημειοτακτική πρωτεΐνη 10 (πρωτεΐνη επαγωγική της παραγωγής ιντερφερόνης) [334]. Επίσης έχει βρεθεί πολυμορφισμός στην θέση 308 του γονιδίου του TNF-α, που αντανακλά και σε αυξημένα επίπεδα του στο αίμα και έχει συσχετιστεί με τη σοβαρότητα της νόσου και τη φτωχή ανταπόκριση στην θεραπεία με κορτικοστεροειδή στους παιδιατρικούς ασθενείς [335, 336].

Μόρια προσκόλλησης: έχει βρεθεί ότι ασθενείς με ΑΗ υπερκφράζουν στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων τους μόρια όπως M-1/CD54 και LFA-3/CD58, γεγονός που ενισχύει την πιθανότητα ύπαρξης T-μεσολαβούμενου ανοσολογικού μηχανισμού που οδηγεί στην ηπατική βλάβη [333, 337].

Ενεργοποίηση λεμφοκυττάρων. Το μόριο CTLA-4 στην επιφάνεια των CD 4 T λεμφοκυττάρων θεωρείται σημαντικό για τον έλεγχο της ενεργοποίησής τους.

Στην ΑΗ-1 έχει βρεθεί πολυμορφισμός του γονιδίου του στη θέση 49, που όμως δεν θεωρείται ειδικός της νόσου, καθώς έχει βρεθεί και στην ΠΧΚ [338].

Επίσης έχουν μελετηθεί και έχει βρεθεί ενεργοποίηση αποπτωτικών μηχανισμών, οξειδωτικών μηχανισμών κ.α. [339] που πιθανώς να παίζουν ρόλο στην παθογένεια της ΑΗ.

Η κλινική εμφάνιση ΑΗ έχει γενικά συσχετισθεί με διάφορες ιογενείς λοιμώξεις, αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις ο μηχανισμός με τον οποίον αυτές μπορούν να επάγουν ΑΗ είναι άγνωστος. Υπάρχουν μερικές αναφορές εμφάνισης ΑΗ μετά από οξεία ιογενή ηπατίτιδα Α [340] και Β [341]. Επίσης η λοίμωξη από τον ΗCV, η οποία επάγει γενικά την εμφάνιση αυτοάνοσων φαινομένων έχει ενοχοποιηθεί ως παράγοντας που μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση ΑΗ, αλλά μελέτες με PCR στους ασθενείς με ΑΗ έδειξαν ότι ένα πολύ μικρό μόνο ποσοστό αυτών είχε ιαίμια από τον ΗCV [342]. Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι φάρμακα όπως η μινοκυκλίνη, η ισονιαζίδη, η α-μεθυλοντοπαυδραλαζίνη, η νιτροφουραντοΐνη και διάφορες τοξίνες μπορούν να οδηγήσουν σε εμφάνιση ΑΗ [343].

Ένας πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου μπορεί να εξηγηθεί ο αρχικός υπερκερασμός της ανοσολογικής ανοχής είναι αυτός της μοριακής μίμησης. Υπάρχουν μια σειρά από εργασίες που υποστηρίζουν τη δημιουργία των αντι-LKM-1, σαν αποτέλεσμα μηχανισμού διασταυρούμενης αντίδρασης με ομόλογες περιοχές μικροοργανισμών. Οι Manns και συν. διαπίστωσαν ότι η αντιδραστικότητα έναντι του κύριου επίτοπου του KYT P4502D6, μπορεί να είναι αποτέλεσμα διασταυρούμενης αντίδρασης μετά από λοίμωξη από τον ΗCV ή τον ιό του απλού έρπητος (HSV), καθώς διαπιστώθηκε ότι οι αα 310-324 της E1 περιοχής του ΗCV και η αα 156-170 της IE175 περιοχής του HSV,

παρουσιάζουν μεγάλη ομολογία με την περιοχή 254-271 του KYT P4502D6 [289]. Παρομοίως βρέθηκε ότι το αντίσωμα που παράγεται εναντίον ομόλογων περιοχών του HCV (NS5B HCV2985-2990) και του CMV(Exon CMV 130-135) μπορεί επίσης να αναγνωρίζει τον επίτοπο 204-209 του KYT P4502D6 [295]. Καθώς λοιπόν τα αντι-LKM-1 αντισώματα μπορούν να αναγνωρίζουν ομόλογες περιοχές των CYP450 2D6, HCV, HSV και CMV, έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η πολλαπλή έκθεση ενός ατόμου σε κοινά παθογόνα όπως ο CMV και ο HSV, σε συνδυασμό με τη γενετική προδιάθεση, μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση των ειδικών T και B λεμφοκυττάρων [332]. Αυτός ο μηχανισμός μπορεί να εξηγήσει και την δευτερογενή εμφάνιση ΑΗ μετά από μεταμόσχευση ήπατος καθώς βρέθηκε συσχέτιση με λοιμώξεις από τον CMV, EBV και τον Παρνονίριους [344].

Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι οι αντιγονικές δομές που αναγνωρίζονται από τα αντι-LKM-1 αντισώματα έχουν δομικές ομολογίες με την καρβοξυπεπτιδάση Η, ένα αυτοαντιγόνο στόχο στον ισουλινωεξαρτώμενο διαβήτη, καθώς και με την 21-υδροξυλάση, αυτοαντιγόνο στόχος στη νόσο Addison. Τα παραπάνω στοιχεία μπορεί να εξηγούν την εμφάνιση πολυοργανικών αυτοάνοσων διαταραχών που παρατηρείται στην πορεία της ΑΗ [345].

Όλες οι παραπάνω ενδείξεις δείχνουν ότι ο μηχανισμός μοριακής μίμησης απέναντι σε πρωτεΐνες ιών ή σε αυτοαντιγόνα άλλων αυτοάνοσων διαταραχών μπορεί να παίζει ρόλο στην εκδήλωση και την κλινική έκφραση της ΑΗ.

4.1.9. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΑΗ

Η διάγνωση της ΑΗ είναι στην ουσία μια διάγνωση αποκλεισμού όλων των άλλων αιτιών που προκαλούν οξείες ή χρόνιες ηπατικές βλάβες όπως ιογενή αίτια (ηπατίτιδα Α, Β και C, αλλά και άλλοι ηπατοτρόποι ιοί π.χ. CMV,EBV,HSV, χρήση ηπατοτοξικών φαρμάκων, ΠΧΚ, πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ), νόσος Wilson, αιμοχρωμάτωση, ανεπάρκεια α1-αντιθρυψίνης και άλλα [95, 232, 244, 261]. Πολύ βοηθητικά στοιχεία για την διάγνωση της ΑΗ αποτελούν ο αξιόπιστος ανοσολογικός έλεγχος και η προσεκτική μελέτη της βιοψίας ήπατος [233].

Το διαγνωστικό σκορ που χρησιμοποιείται συχνά για ερευνητικούς κυρίως σκοπούς στηρίζεται σε ένα σύνολο κλινικών, ιστολογικών, εργαστηριακών και δημογραφικών παραμέτρων, που ορίστηκαν για πρώτη φορά από τη Διεθνή Ομάδα Μελέτης της ΑΗ το 1993 [346] και τροποποιήθηκαν το 1999 [230] (Πίνακες 4.5, 4.6 και 4.7). Σύμφωνα με αυτά, ένα άθροισμα μεγαλύτερο του 15 προ θεραπείας ή του 17 μετά από θεραπεία, καθιστά σίγουρη τη διάγνωση της ΑΗ, ενώ όταν υπάρχει ένα άθροισμα 10-15 πρό θεραπείας και 12-17 μετά από τη θεραπεία, η διάγνωση είναι πιθανή [230].

4.1.10. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΑΗ

Η φυσική εξέλιξη και πρόγνωση της ΑΗ επηρεάζεται από τη φλεγμονώδη δραστηριότητα και την παρουσία ή ανάπτυξη της κίρρωσης τη στιγμή της διάγνωσης. Άτομα που έχουν 5-10πλάσιες τιμές τρανσαμινασών και διπλάσιες τιμές γ-σφαιρίνης έχουν θνητότητα πάνω από 90% στα 10 χρόνια χωρίς θεραπεία [233]. Παθολογοανατομική μελέτη έδειξε ότι η πιθανότητα εμφάνισης κίρρωσης σε 5 χρόνια, είναι της τάξης του 17% σε ασθενείς με

περιπυλαία ηπατίτιδα και στο 82% όταν ήδη υπάρχουν γεφυροποιές νεκρώσεις ή ενδολοβιακή νέκρωση στη πρώτη βιοψία ήπατος [347]. Η θνητότητα σε κίρρωτικούς ασθενείς αυτοάνοσης αιτιολογίας χωρίς θεραπεία είναι 58% στα 5 χρόνια παρακολούθησης [347].

Πίνακας 4.5. Τροποποιημένο Σύστημα Βαθμολόγησης για τη Διάγνωση της ΑΗ [230]

Παράμετρος/Χαρακτηριστικά	Βαθμός	Παρατηρήσεις
Θήλυ Φύλο	+2	
Λόνος ALP/AST (ή ALT)		1
<1,5	+2	
1,5-3,0	0	
>3,0	-2	
Αύξηση Ολικών Σφαιρινών ή IgG		
>2.0x της ανώτερης φυσιολογικής	+3	
1,5-2,0x της ανώτερης φυσιολογικής	+2	
1.0-1.5x της ανώτερης φυσιολογικής	+1	
<1.0x της ανώτερης φυσιολογικής	0	
ANA, SMA ή αντι-LKM-1		2
Τίτλος >1:80	+3	
Τίτλος 1:80	+2	
Τίτλος 1:40	+1	
Τίτλος <1:40	0	
AMA θετικά	-4	
Δείκτες Ιογενών Ηπατιτίδων		3
Θετικοί	-3	
Αρνητικοί	+3	
Χρήση Ηπατοτοξικών Παραγόντων		4
ΝΑΙ	-4	
ΟΧΙ	+1	
Μέση Κατανάλωση Οινοπνεύματος		
<25g/ημέρα	+2	
>60g/ημέρα	-2	
Βιοψία Ήπατος		
Περιπυλαία Ηπατίτιδα	+3	
Διήθηση κυρίως από λεμφοκύτταρα και/ή πλασματοκύτταρα	+1	
Σχηματισμός ροζετών	+1	
Τίποτε από τα παραπάνω	-5	
Βλάβες χοληφόρων	-3	5
Άλλες βλάβες	-3	6
Άλλες αυτοάνοσοι νόσοι	+2	7
Άλλοι παράμετροι		8
Οροθετικότητα για άλλα αυτοαντισώματα	+2	9
HLA DR3 ή DR4	+1	10
Απόκριση στην θεραπεία:		11
Πλήρης	+2	12
Υποτροπή	+3	12

Πίνακας 4.6 . Επεξήγηση των παρατηρήσεων του πίνακα 4.5 [230]

1.	Η ALP/AST (ή ALT) αναφέρεται στο βαθμό της αύξησης πάνω από τα ανώτερα φυσιολογικά όρια (ΑΦΟ) π.χ. (IU/L ALP/ΑΦΟ ALP) : (IU/L AST/ΑΦΟ AST)
2.	Με την τεχνική του ΕΑΦ σε παρασκευάσματα αουραιών ή για τα ANA και σε HEp2 κύτταρα. Χαμηλότεροι τίτλοι (ιδιαίτερα των αντι-LKM-1) είναι σημαντικοί στα παιδιά και πρέπει να βαθμολογούνται τουλάχιστον με +1.
3.	Θετική ή αρνητική δοκιμασία των IgM anti-HAV, HBsAg, IgM anti-HBc, anti-HCV και HCV-RNA. Εάν υπάρχει υποψία για λοίμωξη με άλλους-δυννητικά ηπατοτρόπους ιούς- τότε μπορεί να γίνει έλεγχος (π.χ. για CMV και EBV).
4.	Ιστορικό πρόσφατης ή τρέχουσας χρήσης γνωστών ή υπόπτων ηπατοτοξικών παραγόντων.
5.	Αναφέρονται σε βλάβες τυπικές για πρωτοπαθή χολική κίρρωση ή πρωτοπαθή σκληρυντική χολαγγειίτιδα και/ή σημαντική περιπυλαία αντίδραση στα χοληφόρα με συνοδό αυξημένη συγκέντρωση χαλκού.
6.	Οποιαδήποτε άλλη αλλοίωση συμβατή με άλλης αιτιολογίας ηπατοπάθεια.
7.	Ιστορικό άλλων αυτοανόσων νόσων ή συνδρόμων στον ασθενή ή στους συγγενείς πρώτου βαθμού.
8.	Οι βαθμοί για τα άλλα αυτοαντισώματα και τα HLA DR3 και DR4 προστίθενται μόνο όταν τα ANA, SMA και αντι-LKM-1 είναι αρνητικά.
9.	Περιλαμβάνουν τα p-ANCA, anti-LC1, anti-SLA/LP, anti-ASGP-R, και αντισώματα κατά σουλφατιδης (γλυκοσφιγγολιπίδιο της πλάσματοκυτταρικής μεμβράνης των ηπατοκυττάρων).
10.	Ισχύουν κυρίως για ασθενείς από τη Βόρεια Ευρώπη και την Ιαπωνία. Ένας βαθμός μπορεί να προστεθεί για άλλα HLA τάξης II για τα οποία υπάρχει δημοσιευμένη πληροφορία συσχέτισης με ΑΗ σε άλλους πληθυσμούς (π.χ. HLA-DR7).
11.	Εκτίμηση της απόκρισης στη θεραπεία (πίνακας 4.7) μπορεί να γίνει οποτεδήποτε. Βαθμοί προστίθενται όταν βελτιώνονται κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά που είχε ο ασθενής κατά την αρχική πρώτη επίσκεψη.
12.	Η πλήρης απόκριση στη θεραπεία και η υποτροπή ορίζονται στον πίνακα 4.7

Πίνακας 4.7. Ορισμός της πλήρους ανταπόκρισης και της υποτροπής στην ΑΗ [230]

Ανταπόκριση	Ορισμός		
Πλήρης	Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω: α) σημαντική βελτίωση συμπτωμάτων και επάνοδος χολερυθρίνης AST, ALT, και σφαιρινών στα φυσιολογικά εντός 1 έτους, με παραμονή στις φυσιολογικές για επιπρόσθετο διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών και ενώ χορηγείται θεραπεία συντήρησης. β) βιοψία ήπατος οποτεδήποτε στο παραπάνω διάστημα που να δείχνει ελάχιστη δραστηριότητα.	ή	Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω: α) σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων μαζί με μείωση όλων των βιοχημικών ηπατικών δεικτών τουλάχιστον κατά 50% στη διάρκεια του πρώτου μηνός θεραπείας, και συνεχή πτώση των AST, ALT σε επίπεδα < 2x ανωτέρων φυσιολογικών τιμών εντός εξαμήνου. β) βιοψία ήπατος που να δείχνει ελάχιστη δραστηριότητα.
Υποτροπή	Ένα ή και τα δύο από τα παρακάτω : α) αύξηση AST ή ALT > 2x ανωτέρων φυσιολογικών τιμών. β) βιοψία ήπατος που να δείχνει ενεργό νόσο με ή χωρίς επανεμφάνιση των συμπτωμάτων, μετά από πλήρη ανταπόκριση.	ή	Επανεμφάνιση συμπτωμάτων σημαντικής βαρύτητας που απαιτεί αύξηση ή επανέναρξη ανοσοκαταστολής, συνοδευόμενη από οποιουδήποτε βαθμού αύξηση της AST ή της ALT μετά από πλήρη ανταπόκριση.

Επίσης φαίνεται ότι και η γενετική προδιάθεση παίζει κάποιο ρόλο στην πορεία καθώς ο απλότυπος HLA-DR3 και σε δεύτερο βαθμό ο B8 σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπών μετά από θεραπεία καθώς και συχνότερη ανάγκη για μεταμόσχευση. Αντίθετα ο απλότυπος HLA-DR4 σχετίζεται με προχωρημένη ηλικία έναρξης και ηπιότερης μορφής νόσο [316].

4.1.11. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΗ

Παρά τη φτωχή κατανόηση της αιτιοπαθογένειας της ΑΗ, οι περισσότεροι ασθενείς ανταποκρίνονται ικανοποιητικά στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή [233, 348, 349], αποτελώντας άλλωστε και ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου [230]. Τα επικρατούντα σχήματα περιλαμβάνουν θεραπεία με 40-60 mg πρεδνιζόνης ημερησίως, μειούμενα κατά 10 mg κάθε 7-10 ημέρες, φτάνοντας σε μια δόση συντήρησης 5-15 mg ή 2 mg/Kg για τουλάχιστον δύο έτη. Εναλλακτικά πολλοί εφαρμόζουν σχήματα συνδυασμού πρεδνιζόνης και αζαθειοπρίνης (1-2mg/Kg σωματικού βάρους) με σκοπό τη μείωση των απαιτούμενων δόσεων κορτικοστεροειδών και επομένως και των επιπλοκών που σχετίζονται με την μακροχρόνια χορήγηση τους, με συνεχή όμως παρακολούθηση για την πιθανότητα εκδήλωσης μυελοτοξικότητας, ενώ ο σχετικός κίνδυνος καρκινογένεσης από τη μακροχρόνια χορήγηση αζαθειοπρίνης φαίνεται να είναι αρκετά μικρός [233, 348, 349]. Με τα σχήματα αυτά επιτυγχάνεται βιοχημική ύφεση στους 4-12 πρώτους μήνες και ιστολογική ανταπόκριση στους 12-24 μήνες στο 80-90% των ασθενών με δεκαετή επιβίωση στο 90% [233, 348, 349]. Δυστυχώς όμως, το 50-75% των ατόμων αυτών, ανεξαρτήτου σχήματος, υποτροπιάζουν στον πρώτο χρόνο μετά από τη διακοπή της θεραπείας, γεγονός που υποδεικνύει μάλλον την

ανάγκη χορήγησης ανοσοκαταστολής για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (3-5 έτη) [350]. Δεδομένα για μια τέτοια ανάγκη προκύπτουν και από μελέτες στις οποίες φαίνεται ότι η πιθανότητα παρατεταμένης ύφεσης ήταν μεγαλύτερη σε ασθενείς που έλαβαν ανοσοκαταστολή για τέσσερα έτη έναντι εκείνων που πήραν μόνο για ένα έτος [350], όπως επίσης και από μεμονωμένες αναφορές στις οποίες υποστηρίζεται ακόμη και υποστροφή των κίρρωτικών αλλοιώσεων μετά από μακροχρόνια λήψη ανοσοκατασταλτικών [351, 352].

Σε αποτυχία των παραπάνω σχημάτων ή σε έντονη δυσανεξία στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή την αζαθειοπρίνη, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες άλλες θεραπείες, όπως χορήγηση tacrolimus, κυκλοσπορίνης A, κυκλοφωσφαμίδης, βουδεσονίδης, mycophenolate mofetil κ.α. [349, 353].

Σε ασθενείς τελικού σταδίου πρέπει να γίνεται μεταμόσχευση ήπατος. Οι ασθενείς με ΑΗ αποτελούν το 2.6% του συνόλου των μεταμοσχευθέντων ασθενών στις Η.Π.Α. και το 5.9% στην Ευρώπη [354]. Το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης κυμαίνεται στο 90% [355] το ποσοστό όμως των υποτροπών είναι αρκετά μεγάλο και κυμαίνεται μεταξύ 10-35% στις περισσότερες μελέτες [356, 357], ενώ μια πολυκεντρική μελέτη στην Ισπανία διαπιστώνει ποσοστό 68% μετά από 5ετή παρακολούθηση [355]. Το υψηλό ποσοστό υποτροπών ΑΗ υποδεικνύει μάλλον την ανάγκη χορήγησης υψηλότερων δόσεων ανοσοκαταστολής για μεγάλο χρονικό διάστημα στην κατηγορία αυτή των μεταμοσχευμένων ασθενών. Τέλος η de novo επανεμφάνιση ΑΗ στο μόσχευμα δεν είναι σπάνια και παρατηρείται στο 10-30% των περιπτώσεων [344, 357, 358].

4.2. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)

Η ΠΧΚ είναι μια αυτοάνοση χρόνια χολοστατική νόσος του ήπατος που χαρακτηρίζεται από φλεγμονώδη διήθηση και καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων πόρων οδηγώντας προοδευτικά σε κίρρωση και σε έκπτωση της ηπατικής λειτουργίας [359, 360]. Η νόσος προσβάλλει κατά κύριο λόγο γυναίκες (με αναλογία ως προς τους άνδρες 6:1 έως 22:1) μέσης ηλικίας μεταξύ 40 και 60 ετών [361, 362]. Η συχνότητα της νόσου ποικίλει στις διάφορες μελέτες και κυμαίνεται μεταξύ 30 ανά 100.000 κατοίκους σε πληθυσμούς με μεγάλη συχνότητα όπως η Νότια Αγγλία [363], μέχρι και σε λιγότερο από 25 περιπτώσεις ανά εκατομμύριο σε περιοχές όπως ο Καναδάς [364] και η Αυστραλία [365] ή και πρακτικά μηδενική συχνότητα σε περιοχές όπως η Ινδία και η Κεντρική Αφρική [366, 367]. Για την Ελλάδα δεν υπάρχουν σαφή επιδημιολογικά δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό της νόσου στον γενικό πληθυσμό. Δύο πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες στην Αγγλία [368] και την Αμερική [369] δείχνουν ότι υπάρχει μια σημαντική τάση αύξησης της συχνότητας της ΠΧΚ, αλλά δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο εάν τα ευρήματα αυτά αντιπροσωπεύουν αληθή τάση ή εάν είναι απλά αντικατοπτρισμός των καλύτερων διαγνωστικών εργαλείων και της καλύτερης κατανόησης της νόσου στη σημερινή εποχή.

4.2.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΧΚ

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ποικίλλουν από την εντελώς ασυμπτωματική ανικτερική μορφή με ή χωρίς εξωηπατικές εκδηλώσεις μέχρι και την σοβαρής μορφής χολόσταση με εμφάνιση βασανιστικού κνησμού, κίρρωσης και έκπτωσης της ηπατικής λειτουργίας [360]. Για μεγάλο χρονικό

διάστημα η νόσος είναι ασυμπτωματική, ενώ ένας γενικευμένος άλλοτε άλλου βαθμού κνησμός συνήθως αποτελεί το πρώτο σύμπτωμα σε συνδυασμό με ένα αίσθημα κόπωσης που πολλές φορές μπορεί να είναι σημαντικού βαθμού. Αντικειμενικά η εμφάνιση του ικτέρου συνήθως παρατηρείται πολλά χρόνια μετά από την εμφάνιση του κνησμού, ενώ στη φυσική εξέταση μπορούν ακόμη να διαπιστωθούν ξανθώματα και ξανθελάσματα, ηπατομεγαλία καθώς και σημεία πυλαίας υπέρτασης σε προχωρημένα στάδια [370].

Πίνακας 4.8. Κλινικά σημεία και συμπτώματα της ΠΧΚ τη στιγμή της διάγνωσης. [370]

Κλινικές εκδηλώσεις	Συχνότητα (%)
Ασυμπτωματικός ασθενής	25
Κόπωση	65
Κνησμός	55
Ηπατομεγαλία	25
Διαταραχές πήκτικότητας	25
Σπληνομεγαλία	15
Ίκτερος	10
Ξανθελάσματα	10

Αρκετά συχνά η ΠΧΚ επιπλέκεται και με άλλες καταστάσεις όπως στεατόρροια, οστεοπόρωση, οστεομαλακία, ασυμπτωματική βακτηριουρία κ.α. [359, 360, 370].

4.2.2. ΕΞΩΗΠΑΤΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ-ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΗΣ ΠΧΚ

Στην ΠΧΚ είναι πάρα πολύ συχνή η συνύπαρξη και άλλων εξωηπατικών αυτοανόσων καταστάσεων σε ποσοστό που φτάνει μέχρι και το 80% των ασθενών (Πίνακας 4.9) [360, 370]. Η πιο συχνή από αυτές είναι το σύνδρομο Sicca που έχει αναφερθεί σε συχνότητα μέχρι και 80% [371]. Άλλες αυτοάνοσες παθήσεις που μπορεί επίσης να συνυπάρχουν είναι: σκληρόδερμα και σύνδρομο CREST στο 10% [370], αυτοάνοσα νοσήματα του θυροειδούς (θυροειδίτιδα Hashimoto που συνήθως είναι υποκλινική [372]

και νόσος Grave's) στο 15-25% [360, 370, 372], ρευματοειδής αρθρίτιδα (20%) [370], ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση, φλεγμονώδης νόσος του εντέρου [370] κ.α. Επίσης έχουν παρατηρηθεί και καταστάσεις όπως άπω και εγγύς νεφρική σωληναριακή οξέωση [360] σε ποσοστό μέχρι και 50% [373] χολολιθίαση (30%) [370] και εξωκρινής παγκρεατική ανεπάρκεια που φαίνεται όμως ότι στερούνται ιδιαίτερης κλινικής σημασίας.

Πίνακας 4.9: Εξωηπατικές αυτοάνοσες διαταραχές που έχουν συσχετισθεί με την ΠΧΚ [225, 360, 370].

<u>ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ</u>	<u>ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ(%)</u>
Σύνδρομο Sicca	60-80
Σύνδρομο Sjogren	60
Φαινόμενο Raynaud	10
Θυροειδίτιδα Hashimoto	20
Νόσος Grave's	10-25
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	20
Σκληρόδερμα	10
Μικτή νόσος του συνδετικού ιστού	<5
Πολυομυοσίτιδα	<5
Ρευματική πολυμυαλγία	5
Ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση	5-20
Νόσος Addison	10
Σύνδρομο CREST	5
Σπειραματονεφρίτιδα	5
Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου	<5
Μυασθένεια Gravis	<5
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος	<5
Κακοήθης αναιμία Biermer	<5
Θρομβοπενική πορφύρα	<5
Υπερτροφική πνευμονική οστεοαρθροπάθεια	<5
Λεύκη	<5
Αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο	Μεμονωμένες αναφορές

4.2.3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΧΚ

Στην ΠΧΚ, συχνά ανευρίσκεται αύξηση ενός ή περισσότερων χολοστατικών ενζύμων όπως: της αλκαλικής φωσφατάσης, της γ-γλουταμυλικής τρανσφεράσης και της 5-νουκλεοτιδάσης. Εντούτοις, στα

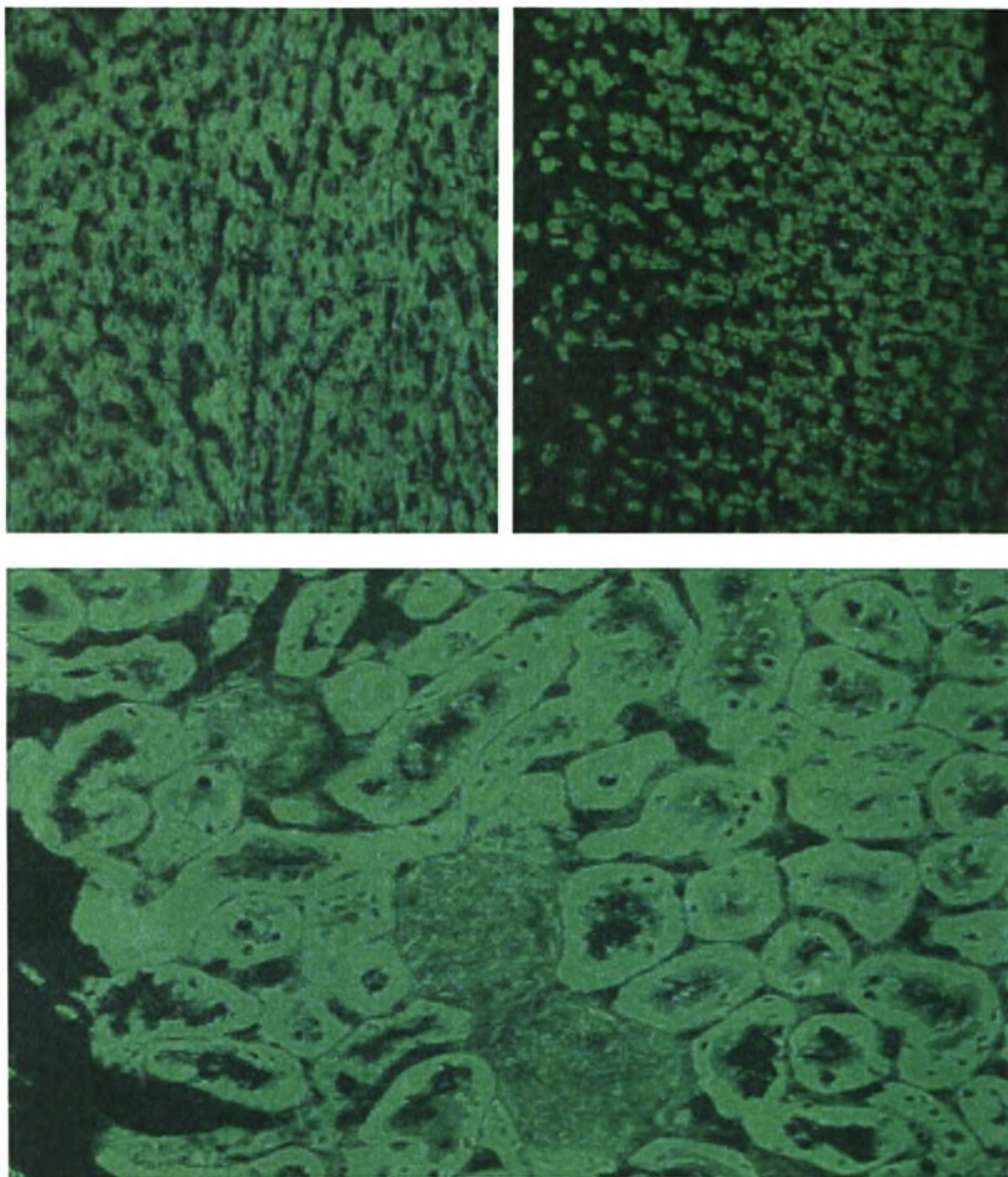
αρχικά προ-συμπτωματικά στάδια, οι δοκιμασίες αυτές είναι συνήθως φυσιολογικές [360]. Οι αμινοτρασφεράσες είναι συνήθως ελαφρά αυξημένες και σπάνια ξεπερνούν το 5-πλάσιο των ανωτέρων φυσιολογικών τιμών. Η ολική χολερυθρίνη είναι συνήθως εντός των φυσιολογικών ορίων στα αρχικά στάδια και αυξάνει με την εξέλιξη της νόσου [360]. Συχνά συνυπάρχει υπερχοληστερολαιμία και μειωμένη τιμή λιποπρωτεΐνης α ενώ η HDL συχνά αυξάνεται στα αρχικά στάδια, αλλά μειώνεται στην πορεία της νόσου [360, 374]. Μπορεί να παρατηρηθεί επίσης παράταση του χρόνου προθρομβίνης, που αντανακλά την ένδεια βιταμίνης Κ, λόγω δυσασπορρόφησης των λιποδιαλυτών βιταμινών εξαιτίας της χρόνιας χολόστασης [360]

Υπάρχει επίσης υπεργαμμασφαιριναιμία, κυρίως των IgM τάξης ανοσοσφαιρινών και κατά δεύτερο λόγο των IgG, ενώ μπορεί να έχουμε και ενεργοποίηση του συμπληρώματος αν και τα επίπεδα του C3 είναι συνήθως φυσιολογικά [375]. Το πιο τυπικό όμως εργαστηριακό εύρημα των ασθενών με ΠΧΚ είναι η παρουσία αντιμιτοχονδριακών αυτοαντισωμάτων (AMA) που θεωρούνται ειδικά για τη νόσο και αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο για την διάγνωση της ΠΧΚ.

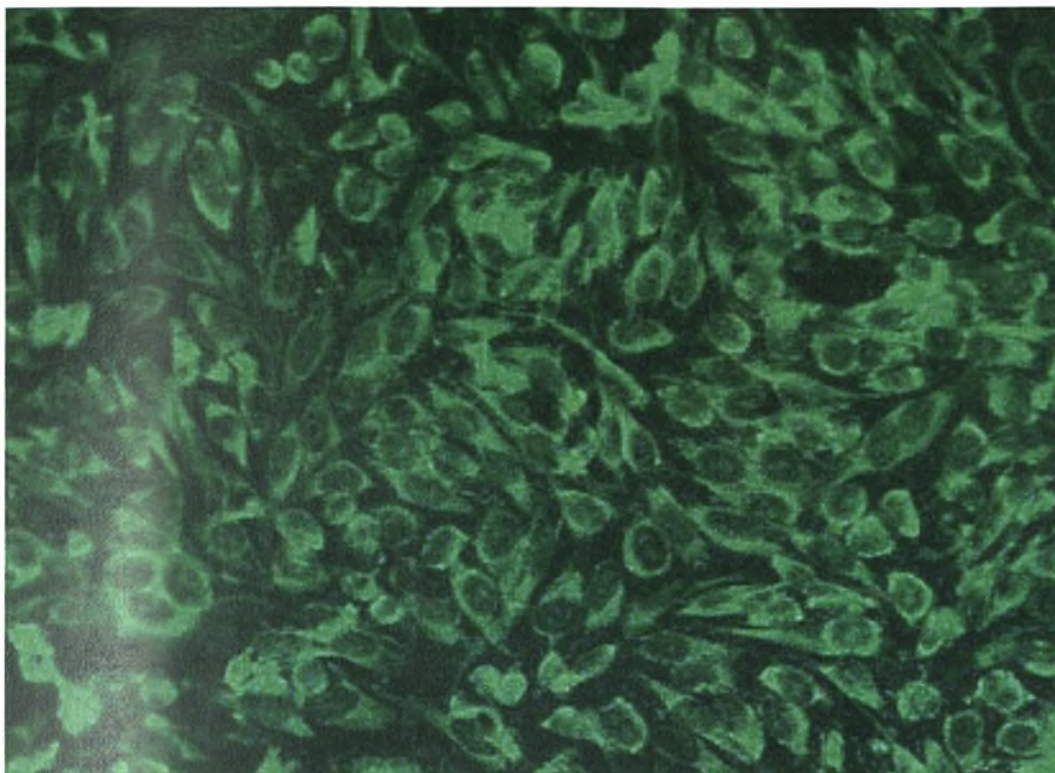
4.2.4. ΑΝΤΙΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (AMA)

Στην δεκαετία του 1960, παρατηρήθηκε για πρώτη φορά, ότι ασθενείς με ΠΧΚ είχαν στο ορό τους κυκλοφορούντα αντισώματα τα οποία στρέφονταν έναντι μιτοχονδριακών αντιγόνων [376, 377]. Τα αντισώματα αυτά υπήρχαν σε όλους τους ασθενείς με ΠΧΚ και δεν ανευρίσκονταν σε κανένα άλλο πληθυσμό ατόμων που αποτελούσαν τις ομάδες ελέγχου (ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες, φαρμακο-επαγόμενη χολόσταση, προσβολή εξω-ηπατικών

χοληφόρων) [378]. Από τότε τα AMA αποτελούν ένα ισχυρό διαγνωστικό εργαλείο για την διαφοροδιάγνωση των χρόνιων χολοστατικών παθήσεων. Τα AMA δίνουν ένα χαρακτηριστικό πρότυπο ανοσοφθορισμού σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου τρωκτικών (Εικόνα 8) ή σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων (Εικόνα 9) [376] .



Εικόνα 8: Φθορισμός των AMA σε τομές ήπατος, στομάχου και νεφρού αρουραίου. Στο ήπαρ δίνουν έναν διάχυτο κυτταροπλασματικό φθορισμό, στο στομάχι φθορισμό όμοιο με αυτό που δίνουν τα PCA και στο νεφρό δίνουν φθορισμό στα εγγύς και άπω σωληνάρια αλλά όχι στα σπειράματα.



Εικόνα 9: Φθορισμός των AMA σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων.

Το 1967 οι Berg et al παρατήρησαν ότι οροί ασθενών με ΠΧΚ αντιδρούσαν *in vitro* με απομονωμένα μιτοχόνδρια και ότι το αντιγόνο στόχος ήταν ευαίσθητο στη δράση θρυψίνης [379]. Αυτά τα μιτοχονδριακά αντιγόνα ονομάστηκαν M2, σε αντιδιαστολή με τα M1, που αποτελούν το αντιγόνο των α -CL αντισωμάτων και που τότε ανευρίσκονταν σε ασθενείς με σύφιλη [380]. Τα M2 βρίσκονται στην εσωτερική επιφάνεια της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων.

Η ταυτοποίηση των αντιγονικών στόχων των AMA αποτέλεσε ένα σημαντικό βήμα για τη μελέτη των ασθενών με ΠΧΚ. Αρχικά παρατηρήθηκε ότι οι οροί των ασθενών με ΠΧΚ είχαν αντιδραστικότητα έναντι μιας μιτοχονδριακής πρωτεΐνης μοριακού βάρους 74 kDa [381, 382]. Αργότερα διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν, σε μικρότερη όμως συχνότητα και άλλοι

αντιγονικοί στόχοι μοριακού βάρους 36, 41, 48 και 56 kDa [383]. Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα μιτοχονδριακά αντιγόνα αποτελούν μέρος του πολυενζυμικού συμπλέγματος της 2-κετοξικής δεϋδρογονάσης το οποίο αποτελείται από επιμέρους συμπλέγματα: το σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής δεϋδρογονάσης (ΠΔΓ) (pyruvate dehydrogenase complex-PDC), το σύμπλεγμα της 2-κετοξικής δεϋδρογονάσης με διακλαδισμένη άλυσσο (ΚΔΓΔΑ) (branched-chain 2-oxoacid pyruvate dehydrogenase complex-BCOADC) και το σύμπλεγμα της κετογλουταρικής δεϋδρογονάσης (ΚΓΔΓ) (2-oxoglutarate pyruvate dehydrogenase complex-OGDC) [384]. Κάθε ένα από τα ενζυμικά αυτά συμπλέγματα παίζει σημαντικό ρόλο στον ενεργειακό μεταβολισμό του κυττάρου: το ΠΔΓ συνδέει την πορεία της γλυκόλυσης με τον κύκλο του Krebs, το ΚΓΔΓ είναι βασικό ένζυμο του κύκλου του Krebs και το ΚΔΓΔΑ συμμετέχει στον μεταβολισμό και την οξείδωση των αμινοξέων με διακλαδισμένη άλυσσο [385, 386]. Κάθε ένα από τα ενζυμικά αυτά συμπλέγματα αποτελείται από 3 υπομονάδες E1, E2 και E3 [386]. Η βασική υπομονάδα είναι η E2, που αποτελείται από μια αμινοτελική περιοχή που περιέχει μια λιποειδική επικρατούσα περιοχή (lipoid domain), μια περιφερική στην οποία γίνεται η σύνδεση με τις άλλες υπομονάδες και μια καρβοξυτελική που έχει και τον ενζυμικό ρόλο της μεταφοράς των ακετυλοομάδων [386]. Το ΠΔΓ περιέχει και ένα τέταρτο πολυπεπίδιο, το E3BP (E3-binding protein), παλαιότερα γνωστό ως πρωτεΐνη Χ, που φαίνεται ότι μάλλον έχει δομικό ρόλο [387].

Από όλα αυτά τα πολυπεπίδια του συμπλέγματος, το βασικό αυτοαντιγόνο στόχος των AMA στους ασθενείς με ΠΧΚ είναι η E2 υπομονάδα του ΠΔΓ (74 kDa) σε ποσοστό πάνω από 92% (Πίνακας 4.10) [388-390].

Αντιδραστικότητα των AMA έναντι ΚΔΓΔΑ-E2 (50 kDa) και ΚΓΔΓ-E2 (48 kDa) ανευρίσκεται στο 50% έως 70% των ασθενών [391]. Συνήθως ασθενείς με αντιδραστικότητα έναντι ΠΔΓ-E2, έχουν και αντιδραστικότητα έναντι ΚΔΓΔΑ-E2 και ΚΓΔΓ-E2, λιγότερο συχνά συναντάμε αντιδραστικότητα μόνο έναντι ΠΔΓ-E2, και πολύ σπάνια αντιδραστικότητα μόνο έναντι ΚΔΓΔΑ-E2 και ΚΓΔΓ-E2 [391]. Η αντιδραστικότητα έναντι ΠΔΓ-E3PB (50-56 kDa), εμφανίζεται πάντοτε όταν υπάρχει ΠΔΓ-E2 αντιδραστικότητα και αυτό συμβαίνει διότι όπως έδειξαν πειράματα αναστολής μάλλον πρόκειται για διασταυρούμενη αντίδραση [391-395].

Πίνακας 4.10: Μιτοχονδριακά αυτοαντιγόνα των AMA.

Υποομάδες του συμπλέγματος της 2-κετοξικής δεϋδρογονάσης				
<i>Μοριακή ταυτοποίηση</i>	<i>Προηγούμενη ονομασία</i>	<i>Μοριακό βάρος (kDa)</i>	<i>Λειτουργία</i>	<i>Συχνότητα (%)</i>
1) ΠΔΓ				
E1-α-αποκαρβοξυλάση	M2d	41	Αποκαρβοξυλίωση πυροσταφυλικού με πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP) σαν συμπράγοντα	41-66
E1-β-αποκαρβοξυλάση	M2e	36	Αποκαρβοξυλίωση πυροσταφυλικού με πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP) σαν συμπράγοντα	2-7
E2 ακετυλοτρανσφεράση	M2a	74	Μεταφορά ακετυλο-ομάδων από E1 στο CoA	92-95
Πρωτεΐνη X (E3BP)	M2c	52	Άγνωστη	95
2) ΚΔΓΔΑ				
E2 ακυλοτρανσφεράση	M2c	50	Μεταφορά ακυλο-ομάδων από E1 στο CoA	53-55
3) ΚΓΔΓ				
E2 ηλεκτρική τρανσφεράση	M2c	48	Μεταφορά ηλεκτρώλο-ομάδων από E1 στο CoA	39-88

ΠΔΓ = πυροσταφυλική δεϋδρογονάση, ΚΔΓΔΑ = 2-κετοξική δεϋδρογονάση με διακλαδισμένη αλυσό, ΚΓΔΓ = κετογλουταρική δεϋδρογονάση, AMA=αντιμιτοχονδριακά αντισώματα.

Εκτός από τα AMA έναντι ΠΔΓ, η παλαιότερη ονομασία των οποίων ήταν M2, υπάρχει και μια σειρά από άλλα AMA που ταξινομούνται σε 9 τύπους M1-M9 (Πίνακας 4.11) [383]. Από αυτά, τα M1 (έναντι καρδιολιπίνης), M4 (οξειδάση θειικών ριζών), M8 (άγνωστο αντιγόνο ευαίσθητο στη θρυψίνη) και

M9 (φωσφορυλάση γλυκογόνου) είχαν θεωρηθεί στο παρελθόν ειδικά για την ΠΧΚ [396] συσχετίζοντάς τα μάλιστα και με την πρωιμότητα (M9) ή τη βαρύτητα (M4) της νόσου [397]. Νεότερες μελέτες όμως δείχνουν ότι δεν είναι ειδικά της ΠΧΚ και δεν αποτελούν προγνωστικό δείκτη της νόσου [398].

Πίνακας 4.11: Τύποι αντιμυτοχονδριακών αντισωμάτων.

Τύπος AMA	ΣΥΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗ ΝΟΣΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)
M1	Σύφιλη (ενεργός)	100
	ΣΕΛ	50
	Συστηματική σκλήρυνση, μεικτή νόσος συνδετικού ιστού, σύνδρομο Sjogren, ρευματοειδή αρθρίτιδα	5-15
M2	ΠΧΚ	95
	Συστηματική σκλήρυνση	7-25
M3	Σύνδρομο προσομοιάζων στο ΣΕΛ	100
M4	ΠΧΚ	55
M5	Μη ειδικές κολλαγονώσεις	
M6	Φαρμακευτική ηπατίτιδα από ιπρονιαζίδη	100
M7	Οξεία μυοκαρδίτιδα	60
	Καρδιομυοπάθειες	30
M8	ΠΧΚ	55
M9	ΠΧΚ	37-82
	Άλλες ηπατοπάθειες	3-10

4.2.5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ AMA

Τα AMA ανιχνεύονται σε επίπεδο ρουτίνας με ΕΑΦ, με ELISA και με ανοσοαποτύπωση. Ο πιο διαδεδομένος τρόπος είναι η τεχνική του ΕΑΦ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου τρωκτικών. Τα AMA δίνουν ένα συνεχές πρότυπο φθορισμού τόσο στα εγγύς όσο και στα άπω εσπειραμένα σωληνάρια του νεφρού, σημαίνουν επίσης τα τοιχωματικά κύτταρα του στομάχου δίνοντας πρότυπο φθορισμού παρόμοιο με αυτό των PCA αντισωμάτων, ενώ παρουσιάζουν και έναν κυτταροπλασματικό φθορισμό σε τομές ήπατος ο οποίος όμως δεν θεωρείται ειδικός (Εικόνα 8). Η συν-χρησιμοποίηση επομένως τριών υποστρωμάτων δίνει ένα σαφές διαγνωστικό πρότυπο [391]. Εναλλακτικά μπορεί να

χρησιμοποιηθεί υπόστρωμα HEp2 κυττάρων στο οποίο επίσης έχουμε χαρακτηριστικό πρότυπο ανοσοφθορισμού (Εικόνα 9).

Η ανοσοαποτύπωση χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα ομογενοποίημα ιστών (συνήθως καρδιά βοός, ήπαρ αρουραίου ή ανθρώπινο πλακούντα). Ο διαχωρισμός των συστατικών γίνεται με SDS-PAGE, ακολουθεί αποτύπωση σε φύλλα νιτροκυτταρίνης και τέλος ανοσοσήμανση με ενζυμο-σημασμένες ανοσοσφαιρίνες. Τα διάφορα αντιγόνα διαχωρίζονται με βάση το μοριακό τους βάρος [391].

Τέλος η ανίχνευση των AMA μπορεί να γίνει και με ELISA, χρησιμοποιώντας ως αντιγόνο απομονωμένο M2 από βόειο ομογενοποίημα ή ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη [257, 399, 400].

4.2.6. AMA-ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΠΧΚ

Από το 1987 και μετά άρχισαν να περιγράφονται στη βιβλιογραφία ασθενείς με "ανοσοχολαγγειίτιδα". Οι ασθενείς αυτοί είχαν τα τυπικά κλινικά, βιοχημικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ, αλλά χωρίς να ανιχνεύονται AMA στον ορό τους [401]. Οι ασθενείς θεωρούνται ότι πάσχουν από AMA-αρνητική ΠΧΚ, ενώ από άλλους ερευνητές έχει χρησιμοποιηθεί και ο όρος πρωτοπαθής αυτοάνοση χολαγγειίτιδα [402-408]. Η συχνότητα της AMA-αρνητικής ΠΧΚ στο σύνολο των ΠΧΚ ασθενών, στη βιβλιογραφία κυμαίνεται περίπου στο 5% [396, 406], αν και υπάρχει αναφορά που διαπιστώνει ποσοστό 32% επί του συνόλου των ασθενών με ΠΧΚ ατόμων [402].

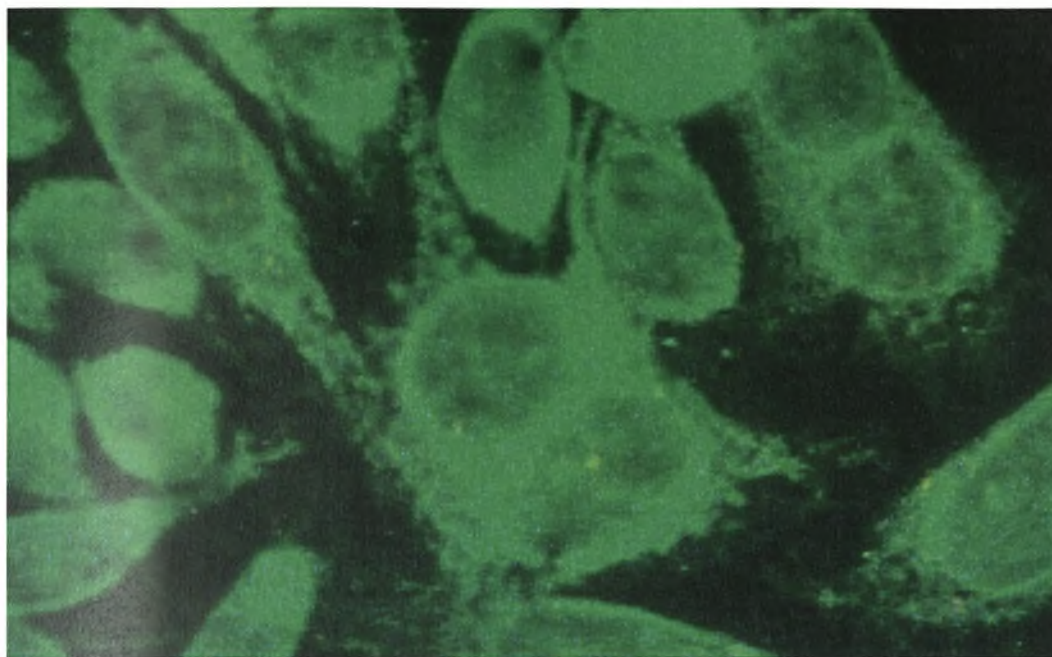
Στην πραγματικότητα, το ποσοστό των AMA-αρνητικών ασθενών είναι ακόμα μικρότερο. Χρησιμοποιώντας πιο ευαίσθητες και ειδικές τεχνικές ανίχνευσης των AMA σε σχέση με αυτή του ανοσοφθορισμού, όπως

ανοσοαποτύπωση, ELISA με ανασυνδυσασμένα πεπτίδια ή μεθόδους αναστολής, πολλοί (έως και όλοι σε μερικές μελέτες) AMA-αρνητικοί ΠΧΚ ασθενείς που εξετάστηκαν έδωσαν θετικό αποτέλεσμα ανίχνευσης AMA [404, 408-412]

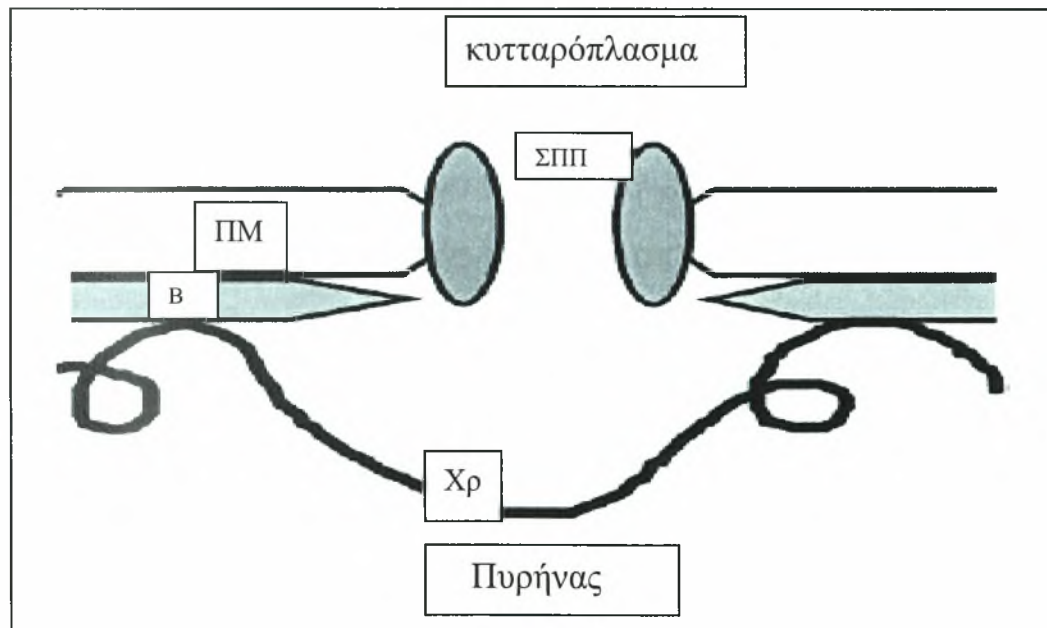
4.2.7. ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ΑΝΑ) ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Εκτός από την ανεύρεση ANA που δεν είναι απόλυτα ειδικά για τη νόσο, όπως anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, Scl-70, αντι-κεντρομεριδιακά, αντι-ιστονικά κ.α., η ΠΧΚ χαρακτηρίζεται από την παρουσία ειδικών για την νόσο ANA [413]. Υπάρχουν δύο κύρια πρότυπα φθορισμού που δίνουν τα αντισώματα αυτά σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων: το πρότυπο του περιπυρηνικού φθορισμού (RLM-rim like membrane), χαρακτηριστικό της ανοσοσήμανσης του πυρηνικού φακέλου και κατά κύριο λόγο του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (NPC-nuclear pore complex) (Εικόνα 10) [414] και το πρότυπο των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων (MND-multiple nuclear dots) (Εικόνα 11) [415].

Περίπου 25 % των ασθενών με ΠΧΚ έχουν αντισώματα έναντι πρωτεϊνών του πυρηνικού φακέλου [360]. Ο πυρηνικός φάκελος αποτελείται από μια εξωτερική και μια εσωτερική στοιβάδα και είναι συνδεδεμένος με το σύμπλεγμα των πρωτεϊνών των πυρηνικών πόρων. Η εσωτερική επιφάνεια είναι επίσης συνδεδεμένη με τη βασική μεμβράνη (lamina) (Σχήμα 6). Τα αντισώματα αυτά δίνουν το χαρακτηριστικό RLM πρότυπο φθορισμού, αν και η παρατήρησή του απαιτεί εμπειρία, στους AMA-θετικούς ασθενείς, λόγω του ταυτόχρονου φθορισμού των AMA (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Πρότυπο φθορισμού RLM, σε ασθενή με ΠΧΚ χαρακτηριστικό της νοσοσήμανσης του πυρηνικού φακέλου.



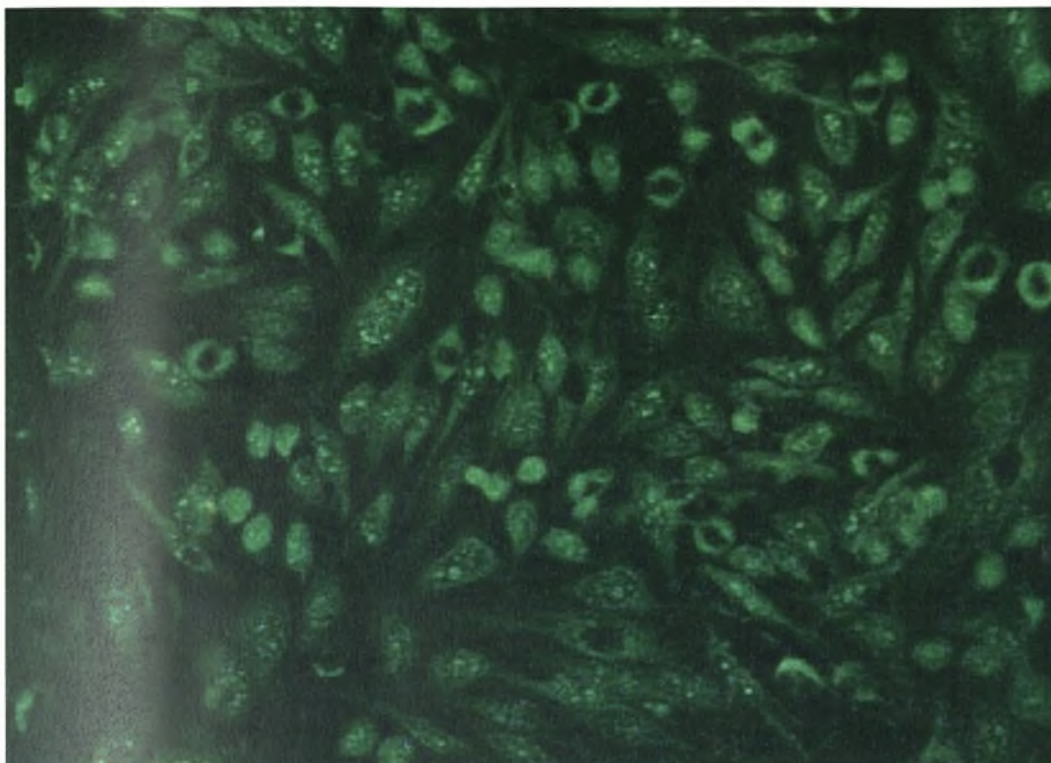
Σχήμα 6: Σχηματικό διάγραμμα της δομής του πυρηνικού φακέλου. ΠΜ:Πυρηνική μεμβράνη (περιλαμβάνει τα LBR και LAP αντιγόνα), Χρ:χρωματίνη, Β:βασική μεμβράνη (αποτελούμενη από υπομονάδες Α, Β1, Β2 και C) , ΣΠΠ:σύμπλεγμα πυρηνικών πόρων (περιέχει τα gp210 και p62 αντιγόνα).

Η συχνότητα ανίχνευσης των RLM και MND αυτοαντισωμάτων στην ΠΧΚ φαίνεται να είναι πολύ υψηλότερη από αυτή του 25%, εάν χρησιμοποιηθούν αντιοροί IgG1, IgG2, IgG3 και IgG4 υποτάξης (αντί ολικής IgG), οπότε και ανευρίσκεται ότι περίπου 75% των ασθενών με ΠΧΚ είναι θετικοί για τουλάχιστον μια υποτάξη [416]. Μάλιστα φαίνεται ότι η παρουσία αυτών των ειδικών για την ΠΧΚ ANA και ιδιαίτερα η υποτάξη IgG3 σχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με σοβαρότερη μορφή νόσου (συσχετισμός με την παρουσία κίρρωσης και με χειρότερη έκβαση της νόσου) [416]

Τα κυριότερα αυτοαντιγόνα-στόχοι έναντι των οποίων στρέφονται τα ειδικά για την ΠΧΚ ANA φαίνονται παρακάτω:

Αντι-gr210 αντισώματα. Έχουν ειδικότητα έναντι μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης 210 kDa (gp210) [417]. Είναι πολυκλωνικά αντισώματα αλλά υπάρχουν δυο κύριοι αντιγονικοί επίτοποι: ένας αμινοτελικός 15 αμινοξέων, και ένας καρβοξυτελικός στο κυτταροπλασματικό τμήμα του μορίου [418-420].

Τα αντισώματα αυτά είναι ειδικά για την ΠΧΚ, είναι υπεύθυνα για το χαρακτηριστικό RLM πρότυπο φθορισμού, ανευρίσκονται στο 10-41% των AMA θετικών ασθενών [420-424] και στο 20-50 % των AMA-αρνητικών [421-423]. Εντούτοις όπως αναφέρθηκε παραπάνω η συχνότητα ανίχνευσης των αντισωμάτων αυτών είναι μάλλον υψηλότερη αν χρησιμοποιηθούν αντιοροί υποτάξεων IgG [416]. Το παραπάνω στοιχείο μπορεί να βοηθήσει σημαντικά για τη διάγνωση της ΠΧΚ ιδιαίτερα σε AMA-αρνητικούς ασθενείς. Υπάρχουν αναφορές που συσχετίζουν την παρουσία των αντι-gr210 αντισωμάτων με εξωηπατικές εκδηλώσεις της ΠΧΚ, όπως με την εμφάνιση αρθρίτιδας [422] καθώς και με την κακή έκβαση και πορεία της νόσου [421].



Εικόνα 11: Πρότυπο φθορισμού πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων (MND) σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων.

Αντι-p62 αντισώματα. Το αντιγόνο-στόχος είναι και εδώ τμήμα του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων. Είναι αντισώματα επίσης ειδικά για την ΠΧΚ, αλλά η ευαισθησία τους είναι μικρή γιατί ανευρίσκονται μόνο στο 23-32% των πασχόντων [425, 426]. Το πρότυπο φθορισμού και εδώ είναι το χαρακτηριστικό RLM πρότυπο σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων.

Αντι-LBR αντισώματα. Είναι αντισώματα έναντι του υποδοχέα της λαμινίνης Β (laminin B receptor-LBR), είναι απόλυτα ειδικά για την ΠΧΚ, ανιχνεύονται όμως μόνο στο 1-3% των πασχόντων. Το πρότυπο φθορισμού είναι παρόμοιο με αυτό των αντι-gr210 και αντι-p62 αντισωμάτων. Η σημασία της παρουσίας των αντισωμάτων αυτών παραμένει αδιευκρίνιστη [422, 423, 426, 427].

Αντι-LAP αντισώματα. Είναι αντισώματα έναντι πρωτεϊνών του πυρηνικού φακέλου που συνδέονται με την βασική μεμβράνη (lamin associated polypeptides-LAP 1 και 2). Ανευρίσκονται στο 16% των ασθενών με ΠΧΚ, αλλά δεν θεωρούνται ειδικά, καθώς παρατηρούνται και σε άλλες παθήσεις, όπως ΣΕΛ, σύνδρομο Sjogren, ρευματική πολυμυαλγία, APS, οπτική νευρίτιδα, νεφρωσικό σύνδρομο κ.α. [428].

Αντι-sp100 αντισώματα. Έχουν ως αντιγόνο-στόχο μια πυρηνική πρωτεΐνη 100 kDa και δίνουν το χαρακτηριστικό πρότυπο MND σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων [415, 429, 430] (εικόνα 11). Ανιχνεύονται περίπου στο 20-30% των ασθενών με ΠΧΚ [431, 432], και θεωρούνται ειδικά αντισώματα για τη διάγνωση της νόσου. Παρόμοιο πρότυπο φθορισμού δίνουν και τα αντισώματα έναντι της PLP (promyelocytic leukaemia protein) τα οποία συνυπάρχουν πάντα με τα αντι-sp100.

Το 2003 οι Muratori et al χρησιμοποιώντας ELISA, έναντι των τριών βασικών, ειδικών για την ΠΧΚ, αντιπυρηνικών αντιγόνων (anti-sp100, anti-grp210 και anti-lamin B receptor), βρήκε αντιδραστικότητα στο 85% των AMA-αρνητικών ασθενών με ΠΧΚ, υποδεικνύοντας ότι η αναζήτηση των αντισωμάτων αυτών μπορεί να αποτελέσει σημαντικό διαγνωστικό δείκτη για την ομάδα αυτή [433]. Επιπλέον η τελευταία μελέτη φαίνεται να συμφωνεί από πλευράς πραγματικής συχνότητας των ειδικών για την ΠΧΚ ANA με τα πολύ πρόσφατα ευρήματα της ομάδας μας [416].

Εκτός των παραπάνω, πολλά άλλα αυτοαντισώματα έχουν ανιχνευθεί στον ορό ασθενών με ΠΧΚ, όπως αντιαιμοπεταλιακά, αντιθυροειδικά, αντισώματα έναντι α-ενολάσης και λεμφοκυτταροτοξικά αντισώματα [360], χωρίς να φαίνεται όμως ότι έχουν ιδιαίτερη διαγνωστική ή κλινική σημασία.

4.2.8. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Σε αντίθεση με την ΑΗ και παρά το μεγάλο αριθμό των αναφορών δεν φαίνεται να υπάρχει πολύ ισχυρή συσχέτιση της ΠΧΚ με κάποιον συγκεκριμένο HLA απλότυπο. Οι πιο κοινοί απλότυποι και αλληλόμορφα γονίδια που παρατηρούνται σε ασθενείς με ΠΧΚ είναι οι HLA-DR8 (DRB1*08), DR3, DPB1*0501 και DRB1*0803 στους Καυκάσιους, και οι DR2, DPB1*0501 και DRB1*0803 σε ασιατικούς πληθυσμούς [225]. Έχουν επίσης μελετηθεί συσχετίσεις και με άλλα γονίδια, όπως πολυμορφισμοί του προαγωγέα του TNFα [434], TAP1/TAP2 [435], της IL-10 [436], του γονιδίου του υποδοχέα της βιταμίνης D [437] και άλλα, χωρίς όμως αξιόλογα αποτελέσματα.

Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι οι ασθενείς με ΠΧΚ έχουν αυξημένη συχνότητα μονοσωμίας Χ στα περιφερικά λεμφοκύτταρα τους σε σύγκριση με πάσχοντες από ηπατίτιδα C καθώς και με υγιή πληθυσμό [438]. Το παραπάνω στοιχείο αν συσχετιστεί με τη γυναικεία υπέροχη της νόσου και το γεγονός ότι πάρα πολλά γονίδια ανοσολογικής ανοχής εδράζονται στο Χ χρωμόσωμα [439] μπορεί να φανεί χρήσιμο για την καλύτερη κατανόηση της παθογένειας της νόσου.

Μελέτες στο οικογενειακό περιβάλλον των ασθενών με ΠΧΚ, έδειξαν ότι υπάρχει σαφής οικογενής προδιάθεση καθώς υπάρχει θετικό ιστορικό συγγενούς πρώτου βαθμού σε ποσοστό από 1,33 έως 6,4% στις διάφορες μελέτες [440-442]. Σε μια πρόσφατη έρευνα στην οποία λήφθηκε υπόψη και η συχνότητα της ΠΧΚ στο γενικό πληθυσμό, ο σχετικός κίνδυνος ήταν 10,5 για τα αδέρφια, 30,6 για τους απογόνους και συνολικά 18,4 για τους συγγενείς πρώτου βαθμού [443].

4.2.9. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΧΚ

Η βιοψία ήπατος είναι σημαντική για τη σταδιοποίηση της νόσου αν και η διαγνωστική της αξία έχει αμφισβητηθεί [444]. Ειδικά όμως για την περίπτωση των AMA-αρνητικών ασθενών, η διάγνωση δεν μπορεί να τεκμηριωθεί χωρίς την ύπαρξη βιοψίας. Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν ηπατικές αλλοιώσεις της χρόνιας χολόστασης (χολοστατικές ηπατικές ροζέτες λιποειδοφόρα ιστοκύτταρα, πτεροειδής εκφύλιση, χολόσταση, χολερυθρινόσταση, διήθηση των πυλαίων διαστημάτων από ουδετερόφιλα, με συνοδό περιπορική ίνωση) αλλά και άλλα στοιχεία πιο ειδικά, όπως υπαρπλασία των κυττάρων Kurffer, λεμφοκυτταρική διήθηση των κολποειδών, ηπατοκυτταρική και αναγεννητική υπερπλασία.

Η ιστολογική ταξινόμηση της ΠΧΚ περιλαμβάνει τέσσερα στάδια [445]: Στο στάδιο I (πυλαία ηπατίτιδα) υπάρχει καταστροφή των διαφραγματικών και ενδολοβιακών χολαγγείων με διήθηση τους από T λεμφοκύτταρα και τάση επέκτασης της φλεγμονής στα πυλαία διαστήματα. Μπορεί να παρατηρηθούν εστιακές ρήξεις των πόρων και επιθηλιοειδή κοκκιώματα γύρω από τους χοληφόρους πόρους. Η καταστροφή αυτή, σε πολύ αρχικό στάδιο είναι περιορισμένη κατά τόπους και εμφανίζεται ασύμμετρα και γι' αυτό πολλές φορές η εξέταση του βιοπτικού υλικού μπορεί να είναι απολύτως φυσιολογική. Στο στάδιο II (χολαγγειακή περιπυλαία ηπατίτιδα ή biliary interface hepatitis) έχουμε την ύπαρξη άτυπων χολαγγείων με ανώμαλο σχήμα και υποπλασμένο αυλό που συνοδεύεται από διάχυτη ίνωση των πυλαίων διαστημάτων. Στο στάδιο III (διαφραγματικό) δημιουργούνται πυλαίο-πυλαίες γεφυροποιές νεκρώσεις. Στο στάδιο IV (κίρρωτικό) υπάρχει εικόνα κίρρωσης

με έντονη ίνωση και αναγεννητικά οζία και πολλές φορές η διαφοροδιάγνωση είναι δύσκολη.

4.2.10. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΠΧΚ

Υπάρχει ένα πλήθος διαταραχών της κυτταρικής και χυμικής ανοσίας που έχουν παρατηρηθεί στους ασθενείς με ΠΧΚ και που υποδηλώνουν ότι πρόκειται για μια νόσο ανοσολογικής αρχής. Το βασικό σημείο από το οποίο ξεκινάει η πορεία της νόσου φαίνεται να είναι η καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων των χοληφόρων.

Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι στις πυλαίες και περιπυλαίες περιοχές του ήπατος υπάρχει συγκέντρωση μεγάλου αριθμού CD4 και CD8 T-λεμφοκυττάρων καθώς επίσης και ηωσινοφίλων από τα αρχικά ακόμη στάδια της νόσου [446]. Επίσης τα επιθηλιακά κύτταρα αρχίζουν να παρουσιάζουν φαινοτυπικές αλλαγές εκφράζοντας στην επιφάνεια τους μόρια MHC II, αντιγόνα ΠΔΓ καθώς και διάφορα συνδιεγερτικά μόρια (ICAM-1, B7) που φαίνεται ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην παθογένεια της νόσου [447]. Επιπρόσθετα, υπάρχει ένα παθολογικό προφίλ κυτταροκινών με κυριότερο στοιχείο την αύξηση της συγκέντρωσης των: ιντερφερόνης γ , TNF- α , IL -4, IL-5, IL -8 και IL-12 κυρίως σε προχωρημένα στάδια της νόσου [447]. Τέλος υπάρχουν πολλές ενδείξεις για ενεργοποίηση των αποπτωτικών μηχανισμών τόσο στο ήπαρ όσο και στο μυελό των οστών ασθενών με ΠΧΚ (υπερέκφραση των Fas, Lewis Y και bax γονιδίων και μείωση των αντιαποπτωτικών μορίων bcl-2) [448, 449].

Ο παθογενετικός ρόλος της παρουσίας των AMA δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος. Μελέτες τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* δείχνουν ότι υπάρχει

έκφραση της E2 υπομονάδας της ΠΔΓ στην επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων και μάλιστα το γεγονός αυτό φαίνεται να συμβαίνει πριν την εμφάνιση των μορίων MHC II [450]. Επομένως μπορεί δυνητικά να προκληθεί ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού μέσω της εξαρτώμενης από το αντίσωμα κυτταροτοξικότητας. Αντίθετα ενδείξεις υποδηλωτικές του μη παθογενετικού ρόλου των AMA αποτελούν γεγονότα όπως ο μη συσχετισμός της παρουσίας ή του τίτλου τους με καμμία κλινική εκδήλωση, η παραμονή των AMA ακόμη και μετά τη μεταμόσχευση ήπατος και χωρίς επανεμφάνιση της νόσου στο μόσχευμα, καθώς και οι περιπτώσεις των AMA-αρνητικών ασθενών με ΠΧΚ [370]. Ο βασικός επίτοπος που αναγνωρίζεται από τα AMA βρίσκεται στην εσωτερική λιποειδική περιοχή της ΠΔΓ και φαίνεται να είναι τρισδιάστατος, διότι η ελάχιστη αμινοξική αλληλουχία που απαιτείται είναι η 91-227 [451]. Αντίθετα οι T αυτοεπίτοποι είναι γραμμικοί και έχουν προσδιοριστεί και μελετηθεί με ακρίβεια. Τα CD4 λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος αναγνωρίζουν κυρίως το πεπτίδιο 163-176 (GDLLAEIETDKATI) της εσωτερικής λιποειδικής περιοχής της ΠΔΓ, ενώ πειράματα αντικατάστασης βάσεων έδειξαν ότι τα απαραίτητα αμινοξέα είναι τα 170 (γλουταμίνη-E), 172 (ασπαρτικό οξύ-D) και 173 (λυσίνη-K), επομένως υπάρχει ένα βασικό μοτίβο ExDK [452]. Κατά δεύτερο λόγο υπάρχει και ένας άλλος επίτοπος στην εξωτερική δομή της ΠΔΓ και αντιστοιχεί στην αα 36-49 (GDLIAEVUETDKATV) [452].

Υπάρχουν αρκετές αναφορές και επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν ότι οι ασθενείς με ΠΧΚ έχουν αυξημένη συχνότητα βακτηριακών λοιμώξεων. Για παράδειγμα φαίνεται ότι οι ασθενείς με ΠΧΚ έχουν πολύ υψηλή συχνότητα επαναλαμβανομένων ουρολοιμώξεων κατά κύριο ρόλο από *Escherichia coli*

[453, 454]. Επιπρόσθετα, σε μια μελέτη διαπιστώθηκε ότι το 69% των ατόμων με επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις του ουροποιητικού είχαν αντισώματα που μπορούσαν να αναγνωρίσουν την ΠΔΓ-E2 υπομονάδα του συμπλέγματος [454]. Επίσης έχει γίνει συσχετισμός και με την φυματίωση καθώς έχει βρεθεί ότι οι οροί ασθενών με ΠΧΚ παρουσιάζουν αντιδραστικότητα έναντι πρωτεϊνών του *Mycobacterium gordonae* [455, 456]. Κατά καιρούς μια σειρά από διάφορους άλλους μικροοργανισμούς όπως, *Helicobacter* sp [457], *Chlamydia pneumoniae* [458], *Propionibacterium acnes* [459], *Pseudomonas* sp, *Azotobacter vinelandii*, N καθώς και ρετροϊοί [460, 461] έχουν ενοχοποιηθεί για την παθογένεια της νόσου δεδομένου ότι ανιχνεύονται με μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με ΠΧΚ συγκριτικά με τον υπόλοιπο πληθυσμό. Οι διάφοροι αυτοί λοιμογόνοι παράγοντες μπορούν να εμπλακούν στην παθογένεια της ΠΧΚ με δύο τρόπους: είτε λόγω της άμεσης τοξικής δράσης τους στα επιθηλιακά κύτταρα προάγοντας αποπτωτικούς μηχανισμούς και ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού για την απομάκρυνση των μολυσμένων κυττάρων, είτε σαν αντιγόνα που προάγουν την αυτοανοσία μέσω μοριακής μίμησης. Αντίθετα είναι επίσης πιθανό οι μικροοργανισμοί αυτοί να μην αποτελούν πρωτογενές στοιχείο στην πορεία της νόσου αλλά να αντανakλούν απλά μια δευτερογενή λοίμωξη των ήδη κατεστραμμένων επιθηλιακών κυττάρων [447].

Ο μηχανισμός της μοριακής μίμησης από μικροβιακά αντιγόνα που δίνουν διασταυρούμενη αντίδραση με αυτοαντιγόνα έχει διεξοδικά μελετηθεί στην περίπτωση της ΠΧΚ Όπως αναφέρθηκε η αμινοξική ακολουθία ExDK είναι απαραίτητη για την αναγνώριση από τα T λεμφοκύτταρα. Το ίδιο μοτίβο έχει βρεθεί και σε διάφορες πρωτεΐνες σε μικροοργανισμούς όπως *Escherichia Coli*,

Azotobacter vinelandii, *Pseudomonas putiga* και *aeruginosa* και *Novosphingobium aromaticivorans*. Οι πρωτεΐνες αυτές μπορούν επίσης να αναγνωριστούν από τα ειδικά λεμφοκύτταρα έναντι ΠΔΓ-E2 [462-464]. Η δημιουργία επομένως αντισωμάτων έναντι των πρωτεϊνών αυτών που μπορούν να αναγνωρίζουν και τα αυτοαντιγόνα μπορεί να οδηγήσει στον υπερκερασμό της ανοσολογικής ανοχής και να παίξει ένα σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.

4.2.11. ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΧΚ

Το προσδόκιμο επιβίωσης σε ασθενείς συμπτωματικούς κυμαίνεται μεταξύ 10 και 15 χρόνια, ενώ σε άτομα προχωρημένου σταδίου (III ή IV), το προσδόκιμο επιβίωσης είναι περίπου 8 χρόνια) [465]. Διάφορα κέντρα κατά καιρούς προσπάθησαν να προσδιορίσουν προγνωστικούς παράγοντες και να αναπτύξουν προγνωστικά μοντέλα επιβίωσης μελετώντας κλινικές και βιοχημικές παραμέτρους των ασθενών (Πίνακες 4.12 και 4.13) [466-469]. Γενικά πάντως προγνωστικοί παράγοντες κακής έκβασης και πορείας της νόσου θεωρούνται η μεγάλη ηλικία, οι αυξημένες τιμές ολικής χολερυθρίνης, η έκπτωση της ηπατικής λειτουργίας (μετρήσιμη κυρίως από την τιμή της αλβουμίνης) και το προχωρημένο ιστολογικό στάδιο [370].

Πίνακας 4.12: Προγνωστικοί παράγοντες επιβίωσης ασθενών με ΠΧΚ

Yale (n=238) [467]	European (n=216) [468]	Mayo Clinic (n=418) [466]
Ηλικία	Ηλικία	Ηλικία
Χολερυθρίνη	Χολερυθρίνη	Χολερυθρίνη
Ηπατομεγαλία	Αλβουμίνη	Αλβουμίνη
Γεφυροποϊός ίνωση ή εικόνα κίρρωσης στη βιοψία	Χρήση αζαθειοπρίνης	Χρόνος προθρομβίνης
	Εικόνα κίρρωσης και κεντρικής χολόστασης στη βιοψία	Οίδημα

Το Mayo score, είναι ένα τέτοιο μοντέλο που συχνά χρησιμοποιείται. Προκύπτει από μαθηματικό τύπο στον οποίο λαμβάνονται υπόψη παράμετροι όπως η ηλικία, η τιμή της ολικής χολερυθρίνης και της αλβουμίνης, ο χρόνος προθρομβίνης και η παρουσία ή όχι οιδήματος και ασκίτη [466].

Πίνακας 4.13: Προγνωστικά μοντέλα για την έκβαση της ΠΧΚ

ΜΟΝΤΕΛΟ	ΤΥΠΟΣ
European [468]	$R = 1,09 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) + 0,0069 \times \exp [(ηλικία \text{ σε έτη } -20)/10] - 0,05 \times (\text{αλβουμίνη σε g/l}) + 0,88 \times (\text{δείκτη κίρρωσης})^a + 0,68 \times (\text{δείκτη κεντρικής χολόστασης})^b + 0,52 \times (\text{δείκτη θεραπείας})^c + 3,09$
Mayo [466]	$R = 0,871 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) - 2,53 \times \log_e (\text{αλβουμίνη σε g/l}) + 0,039 \times (\text{ηλικία σε έτη}) + 2,38 \times (\text{χρόνο προθρομβίνης}) + 0,859 \times (\text{δείκτης οιδήματος})^d$
Oslo [469]	$R = 0,88 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl } -1,77) + 1,6812 \times (\text{δείκτης κίρρωσης } -0,25)^e$

^a 1: παρουσία, 0: απουσία,

^b 1: παρουσία, 0: απουσία,

^c 1: placebo, 0: αζαθειοπρίνη

^d δείκτης οιδήματος 0: απουσία οιδήματος. 0,5: οίδημα που αντιμετωπίζεται με διουρητική αγωγή 1: ασκίτης ή οίδημα μη αντιμετωπίσιμο με διουρητικά

^e 1: ιστορικό επεισοδίου κίρρωσης, 0: όχι

Ο ρόλος των AMA ως προγνωστικός δείκτης δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένος. Υπάρχουν αναφορές που συσχετίζουν τον τίτλο των IgG AMA, χρησιμοποιώντας ELISA ως μέθοδο ανίχνευσης, με το κλινικό στάδιο της νόσου [465] ή με το ιστολογικό στάδιο, την τιμή της ολικής χολερυθρίνης και της αλβουμίνης [470], όπως και με το βαθμό της φλεγμονώδους δραστηριότητας στην βιοψία. Εντούτοις περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι δεν φαίνεται να υπάρχει ιδιαίτερη συσχέτιση του τίτλου των AMA με το στάδιο της νόσου [471]

Το σημαντικότερο στοιχείο στη φυσική πορεία της ΠΧΚ είναι η έγκαιρη διάγνυσή της. Σε μια μελέτη 29 ασυμπτωματικών ατόμων, χωρίς παθολογικό βιοχημικό προφίλ αλλά με θετικά AMA, η βιοψία ήπατος έδειξε στοιχεία διαγνωστικά ή συμβατά με πρώιμη ΠΧΚ στο 83% (24/29) [472]. Μετά από

μια παρακολούθηση των ατόμων αυτών, μέσου όρου 17,8 ετών, 76% (22/29) ανέπτυξαν συμπτωματολογία που συσχετίζεται με ΠΧΚ, όπως αδυναμία, κνησμό και άλγος δεξιού υποχονδρίου, ενώ το 40% (4/10) είχαν χειροτέρευση του ιστολογικού τους προφίλ, μετά από μέση παρακολούθηση 11,4 ετών [472]. Μια δεύτερη πιο πρόσφατη μελέτη έδειξε επίσης ότι 3/9 ασυμπτωματικά άτομα με θετικά AMA, παρουσίασαν παθολογικό βιοχημικό προφίλ μετά από παρακολούθηση 9 ετών [473]. Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η πορεία της νόσου μπορεί να είναι πολύ αργή και ότι τα AMA μπορεί να θεωρηθούν ως ένας ισχυρός δείκτης για την μελλοντική εκδήλωση της νόσου. Η πρώιμη επομένως διάγνωση και επομένως θεραπεία (;) μετά από ένα ανοσολογικό έλεγχο ασυμπτωματικών ατόμων για την παρουσία AMA, πριν αυτή γίνει συμπτωματική, μπορεί να βοηθήσει σημαντικά την συνολική επιβίωση των ατόμων με ΠΧΚ. Το ερώτημα βεβαίως που παραμένει είναι ποιο ασυμπτωματικοί 'ασθενείς' θα ελεγχθούν για AMA και για πιο λόγο.

4.2.12. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΣ ΠΧΚ

Το ούρσο-δεόξυ-χολικό οξύ (ursodeoxycholic acid-UDCA) είναι το φάρμακο εκλογής για την ΠΧΚ. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του ακόμα και σήμερα παραμένει αδιευκρίνιστος. Μελέτες δείχνουν ότι μπορεί και επηρεάζει την έκκριση χολικού οξέος, βοηθάει στη σταθεροποίηση των κυτταρικών μεμβρανών [474], επηρεάζει την έκφραση HLA τάξης I στα ηπατοκύτταρα [475], μειώνει την παραγωγή κυτταροκινών [476] και χημειοτακτικών κυττάρων που συνεισφέρουν στην φλεγμονή όπως τα ηωσινόφιλα [477] καθυστερεί την διαδικασία απόπτωσης [478] κ.α.

Σε μια σειρά από μελέτες [479-483], διαπιστώθηκε ότι η χρήση UDCA, μπορεί να μειώσει ή και να εξαφανίσει τα συμπτώματα και να ομαλοποιήσει το βιοχημικό προφίλ των ασθενών. Η μη ανταπόκριση στο UDCA μπορεί να φτάσει στο 66% και αυτό παρατηρείται πιο συχνά σε προχωρημένα στάδια της νόσου [484]. Η δοσολογία του κυμαίνεται από 13-20mg/Kgr/ημέρα. Το κατά πόσο όμως μπορεί να καθυστερήσει την πορεία της νόσου και να αυξήσει το προσδόκιμο επιβίωσης αμφισβητείται έντονα. Δυο σημαντικές μετααναλύσεις έδειξαν ότι η χορήγηση UDCA δεν επηρέαζε στατιστικώς σημαντικά την πορεία της νόσου, την επιβίωση ή την ανάγκη για μεταμόσχευση [485, 486].

Εκτός του UDCA, έχει κατά καιρούς δοκιμαστεί η χρήση και άλλων φαρμάκων, όπως ανοσοκατασταλτικών (κορτικοστεροειδή [487, 488], αζαθειοπρίνη [468, 489] κυκλοσπορίνη [490, 491], μεθοτρεξάτη [492, 493]), αντι-ινωτικών παραγόντων (πενικιλλαμίνη [494], κολχικίνη [495]), θαλιδομίδη [496], χλώραμβουκίλη [497], σιλυμαρίνη [498], βεζαφιμπράτη [499], mycophenolate mofetil [500] χωρίς αξιόλογα αποτελέσματα. Η σύγχρονη στρατηγική στους ασθενείς με ΠΧΚ που δεν ανταποκρίνονται στην μονοθεραπεία με UDCA είναι ο συνδυασμός UDCA με κορτικοστεροειδή [501-503], αζαθειοπρίνη [504], μεθοτρεξάτη [505, 506], κολχικίνη [507] ή ακόμα και χορήγηση τριπλού σχήματος [504]. Το ιστολογικό όφελος δεν φαίνεται και πάλι να είναι ιδιαίτερο, εκτός από μια αναφορά που διαπιστώνει βελτίωση των ιστολογικών βλαβών μετά από χορήγηση σχήματος συνδυασμού UDCA-κολχικίνης [508].

4.3. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΑΓΓΕΙΤΙΔΑ (ΠΣΧ)

Η ΠΣΧ είναι μια χρόνια χολοστατική νόσος άγνωστης αιτιολογίας που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή, ίνωση και τελικά στένωση του αυλού και καταστροφή του ένδο- και έξω-ηπατικού χοληφόρου δέντρου, με έκταση βλάβης που μπορεί να ποικίλει σημαντικά [509]. Σε αντίθεση με τα άλλα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος προσβάλλει πιο συχνά τους άνδρες με αναλογία ανδρών:γυναικών μεταξύ 2:1 και 5:1 στις διάφορες μελέτες [225, 510], ενώ στην πλειονότητα των ασθενών εκδηλώνεται στην τρίτη με τέταρτη δεκαετία της ζωής τους [511]. Εντούτοις, τελευταία αναγνωρίζεται όλο και πιο συχνά σαν βασική αιτία χρόνιας ηπατικής νόσου στα παιδιά [512, 513].

Λίγα είναι γνωστά για την επιδημιολογία της νόσου. Η ΠΣΧ έχει μια σαφή συσχέτιση με φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου και οι περισσότερες μελέτες που έχουν γίνει υπολογίζουν τη συχνότητα της ΠΣΧ με βάση αυτή την επιλεγμένη ομάδα ατόμων. Σε μια πραγματική και προσεκτική επιδημιολογική μελέτη στην Σουηδία υπολογίστηκε ότι η ετήσια επίπτωση και ο επιπολασμός της νόσου είναι 1,3 και 8,5 /100.000 κατοίκους αντίστοιχα [224]. Μελέτες από άλλες περιοχές διαφορετικές από την Βόρεια Ευρώπη, υποδεικνύουν μια μάλλον μικρότερη συχνότητα [514-516]. Για την χώρα μας δεν υπάρχουν επαρκή επιδημιολογικά στοιχεία της νόσου.

4.3.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΣΧ

Η ΠΣΧ διατρέχει για μεγάλο χρονικό διάστημα ασυμπτωματικά. Τα πρώτα συμπτώματα που μπορούν να παρατηρηθούν δεν είναι διαγνωστικά και θεωρούνται ήπια και μη ειδικά και επομένως μη ανησυχητικά όπως αίσθημα αδυναμίας, ήπιος κνησμός και ήπιο άλγος στο δεξιό υποχόνδριο, ενώ κλινικά

εμφανής ίκτερος δεν υπάρχει. Αντίθετα σε προχωρημένα στάδια της νόσου, τα συμπτώματα είναι σημαντικά με ευρήματα πυλαίας υπερτάσεως αποτέλεσμα της χολικής κίρρωσης [517].

Υπάρχει μια έντονη συσχέτιση μεταξύ της ΠΣΧ και των φλεγμονωδών παθήσεων του εντέρου καθώς ανευρίσκονται σε ποσοστό μέχρι και 90% των ασθενών με ΠΣΧ [518]. Περίπου στα 2/3 των ασθενών με ΠΣΧ συνυπάρχει και ελκώδης κολίτιδα, αλλά έχει βρεθεί επίσης συσχέτιση (2-13%) και με τη νόσο Crohn. Αντίθετα μόνο ένα μικρό ποσοστό (1-4%) των πασχόντων από ελκώδη κολίτιδα αναπτύσσει κλινικά σημαντική ΠΣΧ [518]. Τα δεδομένα αυτά ισχύουν γενικά για την Ευρώπη αλλά φαίνεται να είναι διαφορετικά σε χώρες όπως η Ιταλία καθώς και στην Ιαπωνία όπου η συνύπαρξη ΠΣΧ και φλεγμονώδους νόσου του εντέρου είναι μόλις 50% και 20% αντίστοιχα [515, 519].

Σε μικρότερο βαθμό η ΠΣΧ μπορεί να συνδυαστεί και με άλλες αυτοάνοσες διαταραχές όπως η ψωρίαση, το σύνδρομο Sicca, η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, ο ινσουλινοεξαρτώμενος διαβήτης, η προσβολή των αρθρώσεων, η ιστιοκυττάρωση Χ, η οπισθοπεριτοναϊκή ίνωση καθώς και με καρκίνο του παχέος εντέρου κ.α. [225, 520].

4.3.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΣΧ

Οι βιοχημικές εξετάσεις στους ασθενείς με ΠΣΧ, συνήθως δείχνουν ένα τυπικό προφίλ χολοστατικής νόσου. Η αλκαλική φωσφατάση είναι αυξημένη στην πλειονότητα των ασθενών, συνήθως σε επίπεδα πάνω από το τριπλάσιο της φυσιολογικής τιμής [521, 522], και μόνο σε ένα ποσοστό της τάξης του 10% μπορεί να είναι φυσιολογική κατά τη στιγμή της διάγνωσης [523]. Συχνά

συνυπάρχει μια μέτρια αύξηση του επιπέδου των τρανσαμινασών (2-3πλάσιο των ανωτέρων φυσιολογικών τιμών) [521, 522]. Η συγκέντρωση της χολερυθρίνης στο αίμα είναι εντός φυσιολογικών ορίων στο 60% των ασθενών τη στιγμή της διάγνωσης και αυξάνεται στην πορεία της νόσου [519, 523]. Η βιοσυνθετική ικανότητα του ήπατος στους περισσότερους ασθενείς στα αρχικά στάδια της νόσου φαίνεται ανεπηρέαστη, με φυσιολογικά επίπεδα αλβουμίνης και παραγόντων πήξης [519, 521, 523]. Επίσης αρκετά συχνά παρατηρείται υπεργαμμασφαιριναιμία (30-50%). Σε μια μελέτη 114 ατόμων με ΠΣΧ, διαπιστώθηκε αύξηση της IgG ανοσοσφαιρίνης σε ποσοστό 61% [524], ενώ τα επίπεδα της IgM βρίσκονται αυξημένα στο 20-45% των ασθενών [521, 525]. Τιμές του νεοπλασματικού δείκτη CA 19-9 >100 U/ml σε ασθενείς με ΠΣΧ θεωρούνται ότι αποτελούν ισχυρή ένδειξη ανάπτυξης χολαγγειοκαρκινώματος.

Στον ανοσολογικό έλεγχο μπορεί να παρατηρηθεί η παρουσία ANA και SMA, αλλά σε μικρή συχνότητα (5-35%) και σε χαμηλούς τίτλους (πίνακας 4.14) [521, 526]. Επίσης p-ANCA ανιχνεύονται στο 26-85% των ασθενών, αν και το εύρημα αυτό μάλλον υποδεικνύει ταυτόχρονη ύπαρξη ελκώδους κολίτιδας [527-529]. Τα παραπάνω αντισώματα φαίνεται ότι στερούνται ιδιαίτερης κλινικής σημασίας, αν και υπάρχουν λίγες μελέτες που υποστηρίζουν ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ τίτλου ή συχνότητας των p-ANCA, με κλινικές παραμέτρους της νόσου [267, 530, 531]. Τα αντιγόνα στόχοι που κατά καιρούς έχουν ανιχνευθεί όπως και στις περιπτώσεις ασθενών με AH-1 είναι ποικίλα όπως αζουροσιδίνη, πρωτεΐνη αυξάνουσα την διαπερατότητα, β-γλυκουρονιδάση, καθεψίνη G, ελαστάση, λακτοφερρίνη, λυσοσωματική μεμβρανική πρωτεΐνη h-lamp-2 [532]. Σύμφωνα με πρόσφατες

μελέτες το βασικό αντιγόνο στόχος των p-ANCA στην ΠΣΧ φαίνεται να είναι μια πρωτεΐνη 50kDa του πυρηνικού φακέλου των ουδετεροφίλων, προτείνοντας την μετονομασία των αντισωμάτων αυτών σε p-ANNA (antineutrophil nuclear antibodies) [533]. Επίσης σε μικρότερο ποσοστό ανιχνεύονται και άλλα αντισώματα. AMA δεν ανιχνεύονται σχεδόν ποτέ στην ΠΣΧ, γεγονός που υποδηλώνει μάλλον την έλλειψη συνδρόμου αλληλοεπικάλυψης μεταξύ ΠΧΚ και ΠΣΧ. Εντούτοις υπάρχουν ήδη δύο αναφορές για σύνδρομο επικάλυψης μεταξύ ΠΧΚ και ΠΣΧ [534, 535].

Πίνακας 4.14: Συχνότητα αντισωμάτων στην ΠΣΧ [509, 522, 536].

Αντίσωμα	Συχνότητα (%)
p-ANCA	26-85
Αντιπυρηνικά (ANA)	7-77
Έναντι λείων μυικών ινών (SMA)	13-20
Έναντι ενδοθηλιακών κυττάρων	35
Αντικαρδιολιπινικά	4-66
Έναντι θυρεοϋπεροξειδάσης	7-16
Έναντι θυρεοσφαιρίνης	4
Ρευματοειδής παράγοντας	15
Anti-colon antibodies	>60
Αντιμιτοχονδριακά	0-9%

4.3.3. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ ΠΣΧ

Όπως στην ΑΗ, έτσι και στην ΠΣΧ υπάρχει ένας σαφής συσχετισμός με τον απλότυπο DR3, ενώ ο DR2 ανευρίσκεται συχνά στους DR3-αρνητικούς ασθενείς [537]. Πιο σπάνια ανευρίσκεται ο απλότυπος DR4 που όμως όταν υπάρχει θεωρείται πολύ κακός δείκτης εξέλιξης της νόσου [538], αν και αυτό αμφισβητείται από πιο πρόσφατες μελέτες [539]. Τελευταία, αναφέρθηκε ότι και ασθενείς με ΠΣΧ και ετεροζυγωτία DR3/DR2 έχουν αυξημένο κίνδυνο θανάτου ή ανάγκης για μεταμόσχευση [540].

Μελέτες άλλων γονιδίων εκτός των MHC έχουν γίνει και στην ΠΣΧ σε ότι αφορά πολυμορφισμούς κυρίως γονιδίων κυτταροκινών και άλλων

ανοσοτροποποιητικών παραγόντων, με αρνητικά αποτελέσματα [509, 541]. Ο μόνος πολυμορφισμός που βρέθηκε έχει να κάνει με το γονίδιο του TNFα αλλά επειδή έχει έντονο συσχετισμό με τον απλότυπο HLA-B8-DR3-DQ2 δεν μπορεί να θεωρηθεί ως ανεξάρτητος γενετικός παράγοντας [542]. Αντίθετα έχει βρεθεί ένας έντονος συσχετισμός με λειτουργικό πολυμορφισμό του γονιδίου της μεταλλο-πρωτεΐνωσης MMP-3, ένζυμο απαραίτητο για την παραγωγή του matrix του συνδετικού ιστού, γεγονός που θα μπορούσε να εξηγήσει την προαγωγή της εκτεταμένης ίνωσης γύρω από τα χοληφόρα [543].

Πίνακας 4.15: HLA απλότυποι που σχετίζονται με την ΠΣΧ [509].

B8-TNF*2-DRB3*0101-DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201	Έντονος συσχετισμός
DRB3*0101-DRB1*1301-DQA1*0103-DQB1*0603	Έντονος συσχετισμός
BRB5*0101-DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602	Ασθενής συσχετισμός
DRB4*0103-DRB1*0401-DQA1*03-DQB1*0302	Αρνητικός συσχετισμός (προστατευτικός)

Τέλος αν και υπάρχουν αναφορές για οικογενή εμφάνιση ΠΧΚ, δεν υπάρχουν συστηματικές μελέτες για το σχετικό κίνδυνο εμφάνισης ΠΣΧ σε συγγενείς πρώτου βαθμού [225]. Η μόνη πρόσφατη μελέτη που εκτίμησε τον σχετικό κίνδυνο δημοσιεύθηκε το 2005 [544]. Στη μελέτη αυτή βρέθηκε ότι η συχνότητα εμφάνισης ΠΣΧ σε συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με ΠΣΧ είναι 0,7%, κάτι που σημαίνει ότι κίνδυνος ανάπτυξης ΠΣΧ σε πρώτου βαθμού συγγενείς είναι 100 φορές μεγαλύτερος (συγκρίνοντας το με την συχνότητα της νόσου στον γενικό πληθυσμό).

4.3.4. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΠΣΧ

Ιστολογικά οι βλάβες του ηπατικού παρεγχύματος διακρίνονται σε τέσσερα στάδια, παρόμοια με αυτά της ΠΣΧ . Εντούτοις κανένα από τα ιστολογικά

ευρήματα δεν θεωρείται παθολογικό, αλλά μόνο ενδεικτικό της νόσου. Οι πιο συχνές μεταβολές που παρατηρούνται στο βιοπτικό υλικό είναι η ινοαποφρακτική φλεγμονή και εκφύλιση των χοληφόρων με απώλεια του αυλού και αντικατάσταση από ουλώδη ιστό και χολαγγειοπενία στα τελικά στάδια, η περιχολαγγειακή ίνωση των μικρού μεγέθους χοληφόρων, σε συνδυασμό με παρεγχυματικές αλλαγές όπως οίδημα ορισμένων πυλαίων διαστημάτων, τοπική ίνωση και φλεγμονή, διαβρωτική νέκρωση και υπερπλασία των κυττάρων Kupffer [510, 545].

Πίνακας 4.16: HLA αλληλόμορφα γονίδια στην ΠΣΧ

ΑΛΛΗΛΟΜΟΡΦΑ ΓΟΝΙΔΙΑ	ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ	ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ
DRB1*0301	2,54	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0401	0,35	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0701	0,43	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*1301	1,82	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*1501	1,57	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
MICA*008/MIC*008	4,51-5,51	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
MICA*002	0,00-0,15	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0301/DRB1*0301	5,98	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι
DRB1*0301/DRB1*0501	4,2	Βόρεια Ευρώπη, Καυκάσιοι

4.3.5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΠΣΧ

Η διάγνωση της νόσου στηρίζεται στα χαρακτηριστικά χολαγγειογραφικά ευρήματα των διάχυτων πολυεστιακών στενώσεων και αλλοιώσεων των χοληφόρων, δίνοντας συνήθως μια κομβολογιοειδή εμφάνιση του χοληφόρου δένδρου όπως αυτό απεικονίζεται στην ενδοσκοπική παλίνδρομη χολαγγειογραφία [546]. Συνήθως, και σε ποσοστό πάνω από 80%, υπάρχει ταυτόχρονη προσβολή των ενδο- και εξω- ηπατικών χοληφόρων, στο 20-30% υπάρχει προσβολή μόνο των ενδοηπατικών κάτι που παρατηρείται σχεδόν πάντοτε σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα, ενώ πολύ σπάνια (1-2%) παρατηρούνται αλλοιώσεις μόνο στα εξωηπατικά χοληφόρα [521]. Τέλος, αλλοιώσεις του παγκρεατικού πόρου παρόμοιες με αυτές της χρόνιας

παγκρεατίτιδας, συχνά συνυπάρχουν σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με ΠΣΧ [547], ενώ χολικοί λίθοι ανευρίσκονται στο 15% [510].

4.3.6. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΠΣΧ

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ισχυρών ενδείξεων που υποδεικνύουν ότι αυτοάνοσοι μηχανισμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου, όπως ο συσχετισμός με συγκεκριμένους HLA απλότυπους, η ύπαρξη αυτοαντισωμάτων και η αυξημένη συχνότητα συνύπαρξης άλλων αυτοάνοσων καταστάσεων (Πίνακας 4.17) [548]. Επίσης έχουν βρεθεί μια σειρά από διαταραχές στην χυμική και κυτταρική ανοσία όπως η σταδιακή μείωση των CD8 κυττάρων με την πρόοδο της νόσου, η διήθηση των πυλαίων διαστημάτων με T λεμφοκύτταρα, ο αυξημένος αριθμός Tγδ κυττάρων στην κυκλοφορία και Vβ3 T κυττάρων στο ήπαρ, ανώμαλο προφίλ τόσο Th1 όσο και Th2 κυτταροκινών από τα αρχικά ακόμα στάδια της νόσου, σταδιακή μετατροπή των επιθηλιακών κυττάρων σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (έκφραση HLA II στην επιφάνειά τους καθώς και συνδιεγερτικών μορίων όπως ICAM-I, B7 και CD44) κ.α. [509]

Πίνακας 4.17: Ενδείξεις συμμετοχής ανοσολογικών μηχανισμών στην παθογένεια της ΠΣΧ [548].

Χυμική ανοσία	Αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων
	Αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών IgG και IgM
	Ύπαρξη αυτοαντισωμάτων
Κυτταρική ανοσία	Αύξημένος αριθμός CD8 κυττάρων
	Διήθηση από T κύτταρα στα πυλαία διαστήματα
	Αυξημένος αριθμός T κυττάρων μνήμης
	Συγκεκριμένες μορφές TCR
	Έκφραση HLA-DR στα επιθηλιακά κύτταρα των χοληφόρων
	Αυξημένη έκφραση συν-διεγερτικών μορίων
	Αυξημένη έκφραση κυτταροκινών στο ήπαρ
Γενετική προδιάθεση	Συσχετισμοί με HLA απλότυπους

Σε διάφορα πειραματικά μοντέλα έχει βρεθεί ότι η έγχυση στην ηπατική αρτηρία διαφόρων ουσιών όπως φλουροδεοξουρίνη, 5-φλουορακίλη και μιτομυκίνη C, μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση βλαβών τυπικών ΠΣΧ. Η νόσος επομένως θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα βλαβών στα χοληφόρα από διάφορες ουσίες είτε με άμεση τοξική δράση είτε από ισχαιμία λόγω θρόμβωσης των ηπατικών αγγείων [549, 550].

Επίσης έχει διαπιστωθεί από επιδημιολογικές μελέτες ότι το κάπνισμα όπως και στην ελκώδη κολίτιδα παίζει ένα προστατευτικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου λειτουργώντας μάλιστα ως ανεξάρτητος παράγοντας σε σχέση με την παρουσία ή απουσία φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Σε μια μεγάλη μελέτη 184 ατόμων με ΠΣΧ το ποσοστό των καπνιστών ήταν μόλις 4,9% συγκρινόμενο με το 26,1% του πληθυσμού ελέγχου [551]. Δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο με πιο μηχανισμό το κάπνισμα μπορεί να δράσει προστατευτικά στην εμφάνιση της νόσου. Αντίθετα όμως από το εύρημα αυτό, από την στιγμή που θα εμφανιστούν τα συμπτώματα το κάπνισμα φαίνεται να οδηγεί πιο γρήγορα στην ανάπτυξη χολλαγγειοκαρκινώματος [552].

Στα πλαίσια της διερεύνησης του κατά πόσο η ΠΣΧ μπορεί να θεωρηθεί αποτέλεσμα λοίμωξεων έχουν γίνει διάφορες μελέτες. Σε μία από αυτές διαπιστώθηκε χρησιμοποιώντας τεχνική PCR σε ηπατικό ιστό, αυξημένη συχνότητα ανίχνευσης *Helicobacter pylori* [553]. Σε μια δεύτερη μελέτη χρησιμοποιώντας τεχνικές ανοσοαποτύπωσης ανιχνεύθηκε σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΠΣΧ αντιδραστικότητα έναντι συγκεκριμένων πρωτεϊνών ρετροϊών [460]. Πιθανώς επομένως συγκεκριμένα αντιγόνα να οδηγούν στην εκδήλωση ανοσολογικής απόκρισης.

Η συνύπαρξη σε μεγάλο ποσοστό της ΠΣΧ με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, έχει οδηγήσει στην υπόθεση ότι η νόσος είναι αποτέλεσμα εισόδου μικροοργανισμών διαμέσου του εντερικού τοιχώματος στην πυλαία κυκλοφορία, με τελικό αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ανοσολογικού μηχανισμού και την πρόκληση βλαβών στα χοληφόρα πιθανώς μέσω μηχανισμών μοριακής μίμησης [509]. Αυτό έχει ήδη αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα [554].

Ένας υποθετικός μηχανισμός παθογένειας της ΠΣΧ έχει προταθεί από τον Vierling. Σύμφωνα με αυτόν η είσοδος στην πυλαία κυκλοφορία κάποιου μικροοργανισμού (στα πλαίσια κολίτιδας ή επανελειμένων εντερολοιμώξεων) οδηγεί στην ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer με αποτέλεσμα έκκριση κυτταροκινών και χυμοκινών, επάγωντας με την σειρά τους την ενεργοποίηση μονοκυττάρων, μακροφάγων λεμφοκυττάρων και ινοβλαστών. Η επακόλουθη ίνωση γύρω από τα χοληφόρα οδηγεί σε ισχαιμία και τελικά ατροφία των επιθηλιακών κυττάρων. Τελικό αποτέλεσμα είναι η προοδευτική χολόσταση και τελικά η ανάπτυξη χολικής κίρρωσης [555]. Πιο πρόσφατα διατυπώθηκε και η υπόθεση της εντεροηπατικής κυκλοφορίας κάποιων λεμφοκυττάρων που ενεργοποιούνται εξαιτίας κάποιας εντερικής φλεγμονής και τα οποία εν συνεχεία μπορούν να προάγουν την φλεγμονή στο ήπαρ [556].

4.3.7. ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΠΣΧ

Η εξέλιξη της νόσου ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ασθενών. Στους ασυμπτωματικούς ασθενείς (αποτελούν το 15-40% του συνόλου των πασχόντων από ΠΣΧ) [519, 523] οι περισσότερες μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει μια περίοδος 7 έως 9 ετών όπου το 75% παραμένει χωρίς ιδιαίτερη συμπτωματολογία [511, 557]. Εντούτοις, άλλες μελέτες διαπιστώνουν το

αντίθετο (πχ σε μια έρευνα το 76% των ασθενών γίνονται συμπτωματικοί σε μια περίοδο 6,25 ετών) [558]. Αυτές οι διαφορές πιθανώς να οφείλονται στα κριτήρια που χρησιμοποιούνται από τα διάφορα κέντρα για την αναγνώριση των ασυμπτωματικών ασθενών. Αντίθετα, από τη στιγμή εμφάνισης των συμπτωμάτων ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ασθενών ή μέχρι την ανάγκη μεταμόσχευσης φαίνεται στις διάφορες μελέτες να είναι κατά μέσο όρο 12 έτη [511, 559].

Μελετώντας μια σειρά από διάφορες κλινικές, εργαστηριακές και ιστολογικές παραμέτρους, πολλά κέντρα έχουν συμπεράνει ότι κάποιες από αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες (Πίνακας 4.18). Μάλιστα με εφαρμογή πολυπαραγοντικής ανάλυσης, διάφορα προγνωστικά μοντέλα έχουν κατά καιρούς δημιουργηθεί με σκοπό να προσδιοριστεί ο σχετικός προγνωστικός κίνδυνος του κάθε ασθενούς (Πίνακας 4.19).

Πίνακας 4.18: Προγνωστικοί παράγοντες επιβίωσης ασθενών με ΠΣΧ.

Mayo Clinic (n=174) [511]	King's College Hospital (n=126) [559]	Multicentre (n=426) [560]	Swedish (n=305) [523]
Ηλικία	Ηλικία	Ηλικία	Ηλικία
Χολερυθρίνη	Ηπατομεγαλία	Χολερυθρίνη	Χολερυθρίνη
Ιστολογικό στάδιο	Ιστολογικό στάδιο	Ιστολογικό στάδιο	Ιστολογικό στάδιο
Αιμοσφαιρίνη	Σπληνομεγαλία	Σπληνομεγαλία	
Ύπαρξη φλεγμονώδους νόσου του εντέρου	Αλκαλική φωσφατάση		

Οι ασθενείς με ΠΣΧ έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χολαγγειοκαρκινώματος, η αναφερόμενη συχνότητα εμφάνισης του οποίου κυμαίνεται από 6 έως πάνω από 30% [561, 562]. Σε μια μεγάλη Σουηδική μελέτη με 604 ασθενείς με ΠΣΧ, σε μια διάρκεια παρακολούθησης 5,7 ετών διαπιστώθηκε συχνότητα εμφάνισης ηπατοχολικού καρκινώματος σε ποσοστό

13,3% ενώ παράλληλα ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του παγκρέατος και του εντέρου ήταν 14 και 4 φορές αντίστοιχα μεγαλύτερος σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό [563].

Πίνακας 4.19: Προγνωστικά μοντέλα για την έκβαση της ΠΣΧ

ΜΟΝΤΕΛΟ	ΤΥΠΟΣ
Mayo 1989 [511]	$R = 0,06 \times (\text{ηλικία σε έτη}) + 0,85 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) - 4,39 \times \log_e (\text{αιμοσφαιρίνης σε g/dl}) + 0,51 \times (\text{στάδιο της βιοψίας})^{\alpha} + 1,59 \times (\text{δείκτη ύπαρξης φλεγμονώδους νόσου του εντέρου})^{\beta}$
King's College Hospital 1991 [559]	$R = 1,81 \times (\text{δείκτη ηπατομεγαλίας})^{\gamma} + 0,88 \times (\text{δείκτη σπληνομεγαλίας})^{\delta} + 2,66 \times \log (\text{αλκαλικής φωσφατάσης}) + 0,58 \times (\text{ιστολογικό στάδιο})^{\alpha} + 0,04 \times (\text{ηλικία σε έτη})$
Multicentre 1992 [560]	$R = 0,535 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) + 0,486 \times (\text{ιστολογικό στάδιο})^{\alpha} + 0,041 \times (\text{ηλικία σε έτη}) + 0,705 \times (\text{δείκτη σπληνομεγαλίας})^{\delta}$
New Mayo Model 2000 [564]	$R = 0,03 \times (\text{ηλικία σε έτη}) + 0,54 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) + 0,54 \times \log_e (\text{AST σε U}) + 1,24 \times (\text{ιστορικό κίρρωσής})^{\epsilon} - 0,84 \times (\text{αλβουμίνη σε g/dl})$

^α από 1 έως 4

^β 1: παρουσία, 0 απουσία,

^γ 1: παρουσία, 0: απουσία,

^δ 1: παρουσία, 0: απουσία,

^ε 1: ιστορικό επεισοδίου κίρρωσής, 0: όχι

4.3.8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΣΧ

Μέχρι στιγμής δεν υπάρχει ειδική θεραπεία που να μπορεί να καθυστερεί ή και να αναστρέφει την πορεία της νόσου. Πολλές μελέτες έχουν γίνει σχετικά με τα αποτελέσματα της χρήσης UDCA σε ασθενείς με ΠΣΧ (πίνακας 4.20). Στις περισσότερες από αυτές φαίνεται να υπάρχει βιοχημική και/ή ιστολογική ανταπόκριση αλλά γενικά δε θεωρείται αποδεκτό ότι η χρήση UDCA μπορεί να επηρεάσει το συνολικό χρόνο επιβίωσης μέχρι την ανάγκη για μεταμόσχευση. Επίσης έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί και άλλες θεραπευτικές στρατηγικές όπως η χρήση d-πενικιλαμίνης, ανοσοκατασταλτικών ουσιών (αζαθειοπρίνη, μεθοτρεξάτη, βουδεσονίδη, κυκλοσπορίνη, tacrolimus), αντιπρωτεϊνικών παραγόντων (κολχικίνη, pirfenidone), νικοτίνης, πεντοξυφυλλίνης, μονοκλωνικών αντισωμάτων κατά

TNFα), tacrolimus, καθώς και η εφαρμογή συνδυασμένης θεραπείας (UDCA, αζαθειοπρίνη, πρεδνιζολόνη ή βουδεσονίδη) [565]. Κανένα όμως από τα παραπάνω σχήματα δεν φαίνεται να έχει ιδιαίτερα αποτελέσματα σε ότι αφορά στην επιβίωση του ασθενούς .

Πίνακας 4.20: Μελέτες χρήσης του UDCA στην ΠΣΧ.

Συγγραφέας, χρονιά	Αριθμός ασθενών	Βιοχημική ανταπόκριση	Ιστολογική ανταπόκριση	Mayo Risk Score ή επιβίωση	Δοσολογία και διάρκεια
Beuer 1992 [566]	14	Ναι	Ναι	Καμμία βελτίωση	13-15 mg/Kg/day (1 χρόνο)
Lo 1992 [567]	18	Πολύ μικρή	Όχι	Δεν μελετήθηκε	10 mg/Kg/day (2 χρόνια)
Van Thiel 1992 [568]	48	Ναι	Δεν μελετήθηκε	Δεν μελετήθηκε	600 mg/day (18 μήνες)
Stiehl 1994 [569]	20	Ναι	Ναι	Δεν μελετήθηκε	750 mg/day (1 χρόνο)
De Maria 1996 [570]	59	Όχι	Όχι	Δεν μελετήθηκε	600 mg/day (2 χρόνια)
Lindor 1997 [571]	105	Όχι	Όχι	Καμμία βελτίωση	13-15 mg/Kg/day (2,2 χρόνια)
Van Hoogstraten 1998 [572]	48	Πολύ μικρή	Πολύ μικρή	Καμμία βελτίωση	10 mg/Kg/day (2 χρόνια)
Mitchell 2001 [573]	26	Ναι	ναι	Δεν μελετήθηκε	20 mg/Kg/day (2 χρόνια)
Harnois 2001 [574]	30	Ναι	Δεν μελετήθηκε	βελτίωση	25-30 mg/Kg/day (1 χρόνο)

Εναλλακτικά σε μερικά εξειδικευμένα κέντρα και σε επιλεγμένους ασθενείς μπορεί να γίνει ενδοσκοπική προσέγγιση (σφιγκτηρεκτομή με προοδευτική διάταση του χοληφόρου δένδρου και τοποθέτηση πλέγματος), με σχετικά υψηλό όμως κίνδυνο επιπλοκών και με αβέβαια αποτελέσματα όσο αφορά στην επιβίωση παρά την άμεση αποκατάσταση του βιοχημικού προφίλ [575]. Καλύτερα αποτελέσματα ίσως έχει η εφαρμογή ενδοσκοπικής θεραπείας με ταυτόχρονη χρήση UDCA.

Σε ασθενείς τελικού σταδίου (προχωρημένη χολόσταση, πυλαία υπέρταση με τις επιπλοκές της) γίνεται μεταμόσχευση ήπατος. Τα αποτελέσματα είναι

πολύ ικανοποιητικά με ποσοστό πενταετούς επιβίωσης από 73 έως και 100% στις διάφορες μελέτες [576]. Στις περιπτώσεις ύπαρξης χολαγγειοκαρκινώματος πριν από τη μεταμόσχευση τα αποτελέσματα συνήθως δεν είναι ικανοποιητικά (ετήσια επιβίωση της τάξης του 30%) [577], αν και υπάρχουν μελέτες που δίνουν ποσοστά επιβίωσης παρόμοια με τους ασθενείς χωρίς καρκίνο. Σε πολλά κέντρα επίσης γίνεται προσπάθεια εκτίμησης του χρόνου στον οποίο πρέπει να οδηγηθεί ο ασθενής για μεταμόσχευση [578]. Χρησιμοποιώντας το προγνωστικό μοντέλο της Mayo Clinic πολλοί θεωρούν ότι μια τιμή πάνω από 4 είναι υποδηλωτική της ανάγκης για μεταμόσχευση [577].

Τέλος επανεμφάνιση της ΠΣΧ στο μόσχευμα έχει παρατηρηθεί στο 8-20% των ασθενών [565] χωρίς να έχει βρεθεί μέχρι στιγμής κανένας ιδιαίτερος παράγοντας κινδύνου, εκτός ίσως από την επισήμανση ότι συμβαίνει πιο συχνά σε άτομα σε συνυπάρχουσα ελκώδη κολίτιδα [579].

4.4. ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ

Η καθημερινή κλινική εμπειρία έχει δείξει ότι περίπου το 20% των ατόμων με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, εμφανίζουν κλινικά, εργαστηριακά και ιστολογικά ευρήματα που αποτελούν ένα μείγμα χαρακτηριστικών ΑΗ και αυτοανόσου χολοστατικού νοσήματος [580]. Οι καταστάσεις αυτές ονομάζονται σύνδρομα επικάλυψης και μπορούν να εμφανιστούν με τρεις μορφές: 1. ταυτόχρονη συνύπαρξη δυο αυτοάνοσων καταστάσεων (ΑΗ και ΠΧΚ ή ΑΗ και ΠΣΧ). 2. ύπαρξη μιας βασικής αυτοάνοσης ηπατοπάθειας που έχει και μερικά δευτερεύοντα χαρακτηριστικά άλλης αυτοανόσου νόσου του ήπατος και 3. διαδοχική στο χρόνο εμφάνιση δυο διαφορετικών νόσων, κατάσταση που θεωρείται αρκετά σπάνια [580, 581].

4.4.1. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΑΗ/ΠΧΚ

Η συχνότητα του συνδρόμου επικάλυψης ΑΗ/ΠΧΚ υπολογίζεται στο 10% [581]. Εντούτοις, σύμφωνα με εκτιμήσεις της Διεθνούς Ομάδας για την Μελέτη της ΑΗ η πραγματική συχνότητα φαίνεται να είναι πολύ μικρότερη (1-2% Freiburg 2004). Οι διαφορές στην παρατηρούμενη συχνότητα στις διάφορες μελέτες εξαρτώνται κυρίως από τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση. Σε μια μεγάλη μελέτη σε ασθενείς με ΠΧΚ, υπολογίστηκε ότι ένα ποσοστό 19% των πασχόντων είχε ενδείξεις ΑΗ (score 10-15), χρησιμοποιώντας το τροποποιημένο σύστημα βαθμολόγησης, ενώ το ποσοστό αυτό ανέρχονταν στο 62%, χρησιμοποιώντας το προηγούμενο σύστημα. Το ποσοστό ασθενών με σίγουρη διάγνωση ΑΗ (score >15) ήταν 2,2% [582]. Σε μια άλλη τυχαίοποιημένη μελέτη αναφέρεται συχνότητα 2,7% έως 4,8% [583]. Αντίστροφα σε ένα 5% των ασθενών με διάγνωση ΑΗ,

παρατηρήθηκαν ευρήματα ή συμπτώματα ΠΧΚ (ιστολογικά ευρήματα, αυξημένη χολερυθρίνη και/ή αλκαλική φωσφατάση) [584].

Στις περισσότερες περιπτώσεις οι ασθενείς εμφανίζουν ταυτόχρονα ευρήματα και των δυο αυτοάνοσων διαταραχών. Λιγότερο συχνά υπάρχουν ασθενείς με τυπική διάγνωση ΑΗ, που ανταποκρίνονται καλά στην ανοσοκατασταλτική αγωγή και εν συνεχεία εμφανίζουν σημεία ΠΧΚ [581]. Τέλος υπάρχουν σπάνιες αναφορές μετάβασης από τη μια μορφή στην άλλη με αλλαγή της διάγνωσης και της θεραπείας [585].

Για τη διάγνωση του συνδρόμου αλληλοεπικάλυσης ΑΗ/ΠΧΚ πρέπει να υπάρχουν τουλάχιστον δύο από τα τρία κριτήρια για κάθε νόσο. Για την ΑΗ τα κριτήρια είναι: 1. επίπεδα ALT τουλάχιστον πέντε φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο. 2. τιμές IgG ανοσοσφαιρίνης τουλάχιστον δύο φορές πάνω από το φυσιολογικό όριο ή παρουσία SMA αντισωμάτων και 3. βιοψία ήπατος με εικόνα μέτριας ή σοβαρής περιπυλαίας διαβρωτικής νέκρωσης. Τα κριτήρια για την διάγνωση της ΠΧΚ είναι: 1. επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης δύο φορές πάνω από τη φυσιολογική τιμή ή γ-GT πέντε φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο. 2. ανίχνευση AMA και 3. βιοψία ήπατος με εικόνα βλάβης στα χοληφόρα. Κάθε ασθενής επίσης θα πρέπει να έχει ελεγθεί υπερηχογραφικά για αποφρακτικά φαινόμενα στα χοληφόρα, να έχει αρνητικό ιολογικό έλεγχο για HCV, να έχει ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ κάτω από 20 g και να μην υπάρχει ιστορικό χρήσης ήπατο- ή χολάγειο-τοξικών ουσιών [585].

Η θεραπευτική αντιμετώπιση αυτού του συνδρόμου επικάλυσης είναι κατά κύριο λόγο συνδυασμός της αγωγής των δύο νόσων δηλαδή χρησιμοποίηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής με UDCA [584, 585].

4.4.2. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΑΗ/ΠΣΧ

Η συχνότητα του επικαλυπτόμενου αυτού συνδρόμου, μελετώντας ασθενείς με ΠΣΧ, και χρησιμοποιώντας το σύστημα βαθμολόγησης για την ΑΗ, φαίνεται να είναι μεταξύ 1.4 και 8.6% στις περισσότερες μελέτες (Πίνακας 4.21).

Πίνακας 4.21: Συχνότητα της ΑΗ σε ασθενείς με ΠΣΧ.

Μελέτη	Κριτήρια	Αριθμός ασθενών	Συχνότητα (%) σίγουρης ΑΗ (score >15)	Συχνότητα (%) πιθανής ΑΗ (score 10-15)	Συνολική συχνότητα (%)
Boberg et al [524]	1993	114	1,8	33,3	35,1
	1999		1,8	8,8	10,6
Czaja [584]	1993	26			53,8
Kaya et al [586]	1993	211	1,9	19	20,9
	1999		1,4	6,2	7,6
Van Buuren et al [587]	1993	113	7,1	15,9	23
	1999		7,1	12,4	19,5
Muratori et al [588]	1999	23	8,6	21,8	30,4

Στις περισσότερες περιπτώσεις, στους ενήλικες συνυπάρχουν οι εκδηλώσεις και των δύο αυτοάνοσων καταστάσεων τη στιγμή της διάγνωσης, σε αντίθεση με παιδιατρικούς ασθενείς όπου αρκετά συχνά οι πάσχοντες από ΑΗ, αναπτύσσουν εν συνεχεία χολαγγειογραφικά ευρήματα διαγνωστικά για την ΠΣΧ [581].

Για τη θεραπευτική προσέγγιση μπορεί να γίνει χρήση κορτικοστεροειδών με ή χωρίς UDCA, που φαίνεται να έχει αποτελέσματα σε αρκετές μελέτες τουλάχιστον ως προς το ηπατιδικό σκέλος της νόσου [581].

4.4.3. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΠΙΚΑΛΥΨΗΣ ΠΧΚ/ΠΣΧ

Προς το παρόν μόνο δύο αναφορές υπάρχουν για την ύπαρξη τέτοιου είδους επικάλυψης αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος και θεωρείται εξαιρετικά αμφίβολο αν πραγματικά υπάρχει μια τέτοια επικαλυπτόμενη διαταραχή [534, 535].

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) είναι μια αυτοάνοση διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται κυρίως από αρτηριακές και/ή φλεβικές θρομβώσεις και από μαιευτικές επιπλοκές σε συνδυασμό με την παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (αντι-PL). Το APS μπορεί να είναι πρωτοπαθές όταν δεν υπάρχει άλλη υποκείμενη διαταραχή ή δευτεροπαθές στα πλαίσια άλλων καταστάσεων κυρίως αυτοανόσων, αλλά και κακοηθειών καθώς και συνέπεια χρήσης ορισμένων φαρμάκων. Σε ορισμένες σπάνιες περιπτώσεις το APS μπορεί να εκδηλωθεί με δραματική μορφή λόγω οξείας και ταχύτατης προσβολής των μικρών αγγείων προκαλώντας βλάβες σε πολλά παρεγχυματικά όργανα, μια κατάσταση που ονομάζεται καταστροφικό APS με ποσοστό θνητότητας που φτάνει το 50%.

Τα αντι-PL είναι μια ομάδα αυτοαντισωμάτων που στρέφονται εναντίον συμπλέγματος αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων και πρωτεϊνών του πλάσματος (που λέγονται συμπαραγοντες). Δύο είναι τα σημαντικότερα αντι-PL αντισώματα, τα οποία και συμπεριλαμβάνονται στα πρόσφατα τροποποιημένα κριτήρια για την διάγνωση του APS: τα αντικαρδιολιπινικά (αντι-CL) και το αντιπηκτικό του λύκου (LAC). Φαίνεται ότι συμπαραγοντες όπως η β2-γλυκοπρωτεΐνη I (β2-GPI), πρέπει να είναι απαραίτητοι για τα αντι-CL αντισώματα προκειμένου να δεσμευτούν στα φωσφολιπίδια στους ασθενείς με APS (αντισώματα εξαρτώμενα από συμπαραγοντες ή αυτοάνοσα ή θρομβογεννητικά). Αντίθετα σε διάφορες άλλες χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η ελκώδης κολίτιδα ή σε λοιμώξεις, τα αντι-CL αντισώματα φαίνεται να είναι μη-παθογενετικά (ανεξάρτητα από συμπαραγοντες) και κατά κανόνα δεν οδηγούν σε εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων APS. Επιπρόσθετα

φαίνεται ότι τα παθογενετικά αντι-CL αντισώματα έχουν υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης με το αντιγό τους (καρδιολιπίνη) σε αντίθεση με τα μη παθογενετικά αντισώματα. Ένας έμμεσος τρόπος για να προσδιορισθεί αυτή η συγγένεια αντισώματος-αντιγόνου είναι να μετρηθεί ο βαθμός «αντίστασης» τους απέναντι στην χρήση χαοτροπικών παραγόντων όπως η ουρία.

Τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος είναι η αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), η πρωτοπαθής χολική κίρρωση (ΠΧΚ) και η πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ). Η ΑΗ είναι μια χρόνια νεκροφλεγμονώδης ηπατική νόσος άγνωστης αιτιολογίας που οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή του ήπατος, με αποτέλεσμα τη συχνή μετάπτωση σε κίρρωση και την αυξημένη θνητότητα. Χαρακτηρίζεται από υπεργαμμασφαιριναιμία, χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα, συσχέτισμό με HLA DR3 και 4 και κατά κανόνα καλή ανταπόκριση στην θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Η ΠΧΚ είναι μια αυτοάνοση χρόνια χολοστατική νόσος του ήπατος που χαρακτηρίζεται από παρουσία αντιμιτοχανδριακών αντισωμάτων, και είναι αποτέλεσμα φλεγμονώδους διήθησης και καταστροφής των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων πόρων οδηγώντας προοδευτικά σε κίρρωση και σε έκπτωση της ηπατικής λειτουργίας. Τέλος η ΠΣΧ είναι μια χρόνια χολοστατική νόσος άγνωστης αιτιολογίας που προσβάλλει πιο συχνά τους άνδρες και χαρακτηρίζεται από φλεγμονή, ίνωση και τελικά στένωση του αυλού και καταστροφή του ένδο- και έξω-ηπατικού χοληφόρου δέντρου, με έκταση βλάβης που μπορεί να ποικίλει σημαντικά.

Τα παραπάνω νοσήματα έχουν συσχετισθεί με πλήθος άλλων αυτοάνοσων καταστάσεων και/ή συνδρόμων. Στην ΑΗ συνήθως υπάρχουν συσχετισμοί με αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς, ελκώδη κολίτιδα,

αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, σύνδρομο Sjogren, ρευματοειδή αρθρίτιδα κ.α. Η ΠΧΚ συχνά συνυπάρχει με σύνδρομο CREST, φαινόμενο Raynaud, σκληρόδερμα, αναιμία Biermer ενώ ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΠΣΧ έχουν ελκώδη κολίτιδα και λιγότερο συχνά νόσο Crohn, Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο, πολυμυοσίτιδα κ.α.

Εντούτοις στην διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες σχετικά με την συχνότητα εμφάνισης των αντι-PL αντισωμάτων και/ή εκδηλώσεων APS σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος. Υπάρχει μόνο ένας μικρός αριθμός αναφορών περιστατικών ασθενών που εμφάνισαν εκδηλώσεις APS σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και κυρίως ΑΗ, αλλά δεν έχει εκτιμηθεί ποτέ η πραγματική συχνότητα των αντι-CL αντισωμάτων στην ομάδα αυτή των ασθενών ούτε έχει διερευνηθεί η κλινική τους σημασία.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο προσδιορισμός της συχνότητας των IgG και των IgM αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και η μελέτη της κλινικής σημασίας αυτών καθώς όπως προαναφέρθηκε δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία στην διεθνή βιβλιογραφία. Επίσης στην προσπάθεια να ταυτοποιηθεί ο παθογενετικός ρόλος των αντισωμάτων αυτών μελετήσαμε την εξάρτηση τους από την παρουσία β2-GPI (κυριότερος συμπαράγοντας) και την χημική συγγένεια τους (όπως εκφράζεται έμμεσα από τον βαθμό αντίστασης της δέσμησης των αντι-CL αντισωμάτων παρουσία ουρίας) δεδομένου ότι η εξάρτηση από συμπαράγοντες ή η αντίσταση στην χρήση ουρίας σχετίζεται με εκδηλώσεις του APS.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Πενήντα εννέα διαδοχικοί ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), 100 διαδοχικοί ασθενείς με πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ) και 41 διαδοχικοί ασθενείς με πρωτοπαθή σκληρυντική χολλαγγειίτιδα (ΠΣΧ) ελέγχθηκαν για την παρουσία IgG και IgM αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων (αντι-CL), καθώς και IgG αντισωμάτων έναντι β2-γλυκοπρωτεΐνης I (αντι-β2GPI).

Σαν ομάδες ελέγχου (disease control group) χρησιμοποιήθηκαν 228 ασθενείς με ηπατίτιδα C, 50 ασθενείς με ηπατίτιδα B, 123 ασθενείς με άλλες μη-ιογενείς μη-αυτοάνοσες ηπατικές διαταραχές και 267 υγιή άτομα-αιμοδότες.

Για κάθε μια από τις παραπάνω ομάδες καταγράφηκαν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ατόμων (φύλο, ηλικία) και στοιχεία από το κλινικό τους ιστορικό όπως η διάρκεια της νόσου, η ύπαρξη ή όχι συμπτωμάτων την στιγμή της διάγνωσης, ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ, η ύπαρξη εξωηπατικών εκδηλώσεων σχετιζομένων με την νόσο, το κλινικό στάδιο της νόσου (σημεία κίρρωσης ή όχι), και το αν βρίσκονταν υπό θεραπεία ή όχι την στιγμή του ελέγχου. Επιπρόσθετα δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην ύπαρξη ή όχι ιστορικού ιδιαίτερων συμπτωμάτων σχετιζομένων με το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο όπως ενδείξεις αγγειακής θρόμβωσης στο παρελθόν (εμφράγμα του μυοκαρδίου, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, πνευμονική εμβολή, εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση άκρων ή εσωτερικών οργάνων), νευροψυχιατρικών διαταραχών (σπασμοί, έντονες ημικρανίες, απώλεια μνήμης, χορεία, ψύχωση) και μαιευτικών επιπλοκών (κυρίως ιστορικό επαναλαμβανόμενων αυτόματων αποβολών-τουλάχιστον 2 ή ανεξήγητος θάνατος μορφολογικά φυσιολογικού εμβρύου πριν την 10^η εβδομάδα της κύησης ή τουλάχιστον μια πρόωρη

γέννηση μορφολογικά υγιούς νεογνού πριν από την 34^η εβδομάδα της κύησης οφειλόμενη σε βαριά προεκλαμψία ή πλακουντιακή ανεπάρκεια).

Ιστολογικά δεδομένα ήταν διαθέσιμα για όλους τους ασθενείς με ΑΗ και με ΠΣΧ, για 78 ασθενείς με ΠΧΚ, για 129 ασθενείς με ηπατίτιδα C, 30 ασθενείς με ηπατίτιδα Β και για 26 άτομα με μη-ιογενείς μη-αυτοάνοσες διαταραχές. Για στατιστικούς λόγους οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες με βάση την κλινική εκτίμηση και τα ιστολογικά δεδομένα 1. ασθενείς με κίρρωση και 2. μη κίρρωτικοί ασθενείς.

Επιπρόσθετα για την στατιστική επεξεργασία συμπεριλήφθηκαν στην μελέτη οι κυριότεροι βιοχημικοί παράμετροι των ασθενών όπως οι τιμές της ασπαρτικής αμινο-τρανσφεράσης (AST), της αλανίνο-άμινο-τρανσφεράσης (ALT), της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), της γ-γλουταμύλο-τρανσπεπτιδάσης (γ-GT), των ολικών λευκωμάτων, της αλβουμίνης, των γ-σφαιρινών, της χολερυθρίνης (ολικής, άμεσης και έμμεσης), των ανοσοσφαιρινών IgG, IgM και IgA, καθώς και ο αριθμός των αιμοπεταλίων. Τα επίπεδα της AST, της ALT, της ALP, της γGT, των γ-σφαιρινών και της αλβουμίνης προσδιορίστηκαν σε αυτόματους αναλυτές. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες της ομάδας μας ως θρομβοπενία ορίστηκε τιμή αιμοπεταλίων κάτω των 140000/mm³ [177, 189].

Επιπλέον, για την στατιστική ανάλυση, στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος αναζητήθηκε το ιολογικό προφίλ τους (δείκτες για ηπατίτιδα Α, Β και C). Ο προσδιορισμός των δεικτών για HBV λοίμωξη (αντιγόνο επιφανείας-HBsAg, αντισώματα έναντι αντιγόνου επιφανείας-antiHBs, αντισώματα έναντι αντιγόνου πυρηνικού φακέλου-antiHBc, αντιγόνο e-HBeAg, αντισώματα έναντι αντιγόνου e-antiHBe) έγινε χρησιμοποιώντας

εμπορική ανοσοενζυμική μέθοδο (Abbott GmbH, Wiesbaden-Delkenheim, Germany), ενώ τα αντι-HCV αντισώματα ανιχνεύτηκαν με τρίτης γενεάς ανοσοενζυμική μέθοδο (Murex Diagnostics Ltd, Central Road Temple Hill, UK).

Τέλος προσδιορίστηκε επίσης το βασικό ανοσολογικό προφίλ των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και συγκεκριμένα έγινε αναζήτηση της παρουσίας και του τίτλου των παρακάτω αντισωμάτων: αντιπυρηνικών (ANA), έναντι λείων μυικών ινών (SMA), αντιμιτοχονδριακών (AMA), έναντι τοιχωματικών κυττάρων στομάχου (PCA), έναντι μικροσωμίων ήπατος-νεφρού (LKM), έναντι κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων (ANCA), έναντι διπλής έλικας DNA (αντι-dsDNA) και έναντι διαλυτών αντιγόνων ήπατος/παγκρέατος (αντι-SLA/LP).

2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ

Από τους 59 ασθενείς με ΑΗ, 51 είχαν ΑΗ τύπου I, 2 είχαν ΑΗ τύπου II και 6 ασθενείς είχαν σύνδρομο επικάλυψης ΑΗ/ΠΧΚ. Η διάγνωση της ΑΗ βασίστηκε σε διεθνώς αναγνωρισμένα κριτήρια όπως αυτά ορίστηκαν από το International Autoimmune Hepatitis Group [230]. Περιληπτικά τα κριτήρια περιλαμβάνουν τα παρακάτω: α. συμβατή ιστολογία ήπατος (περιπυλαία ηπατίτιδα με ή χωρίς λοβιακή ηπατίτιδα). β. παθολογικές τιμές αμινοτρανσφερασών. γ. αυξημένες τιμές ανοσοσφαιρινών (ολικές πρωτεΐνες ή γ-σφαιρίνες ή IgG ανοσοσφαιρίνες τουλάχιστον 1,5 φορές πάνω από την ανώτερη φυσιολογική τιμή). δ. παρουσία αυτοαντισωμάτων (αντιπυρηνικά-ANA, έναντι λείων μυικών ινών-SMA ή αντι-LKM 1) και απουσία αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων-AMA. ε. απουσία ιολογικών δεικτών

(αρνητικοί δείκτες ηπατίτιδας A, B και C). στ. απουσία άλλων αιτολογικών παραγόντων όπως κατανάλωση αλκοόλ ή χρήση φαρμάκων με γνωστή ηπατοτοξική δράση [230].

Η διάγνωση των ασθενών με σύνδρομο επικάλυψης ΑΗ/ΠΧΚ έγινε με βάση τα κριτήρια του Chazouilleres [585]. Σύμφωνα με αυτά οι ασθενείς αυτοί πρέπει να πληρούν τουλάχιστον δυο από τα τρία κριτήρια της ΠΧΚ (1.τιμή ALP τουλάχιστον δυο φορές πάνω από την ανώτερη φυσιολογική ή της γ-GT πέντε φορές πάνω από την ανώτερη φυσιολογική, 2. παρουσία AMA, 3. βιοψία ήπατος με εικόνα βλαβών στα χοληφόρα) και τουλάχιστον δυο από τα παρακάτω κριτήρια για την ΑΗ (1. τιμή αλανίνοαμινοτρασφεράσης-ALT πέντε φορές πάνω από την ανώτερη φυσιολογική, 2. επίπεδα IgG δυο φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό ή παρουσία αυτοαντισωμάτων SMA, 3. ιστολογική εικόνα συμβατή με ΑΗ [585].

Δύο ασθενείς ήταν ανενεργοί φορείς του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV), με επαναλαμβανόμενα αρνητικά αποτελέσματα ανίχνευσης ιϊκού φορτίου (HBV-DNA), ενώ είχαν αυξημένα επίπεδα αμινοτρασφερασών, υπεργαμμασφαιριναιμία, υψηλούς τίτλους ANA και SMA και βιοψία ήπατος συμβατή με ΑΗ.

Από τους 59 ασθενείς με ΑΗ, οι 47 ήταν γυναίκες και οι 12 άνδρες (λόγος γυναικών:ανδρών 3,9:1), η μέση τιμή της ηλικίας τους ήταν 62 χρόνια με εύρος 6,5-78 χρόνια. Είκοσι έξι από τους ασθενείς αυτούς είχαν κλινικά και/ή ιστολογικά χαρακτηριστικά κίρρωσης την στιγμή της συλλογής του δείγματος. Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ, δίνονται με λεπτομέρειες στους Πίνακες 1,2 και 3.

Είκοσι από τους 59 ασθενείς είχαν εκδηλώσεις και άλλης αυτοάνοσης διαταραχής εκτός της ΑΗ. Συγκεκριμένα, επτά ασθενείς έπασχαν από θυρεοειδίτιδα Hashimoto εκ των οποίων ένας είχε επιπρόσθετα ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), ένας και κακοήγη αναιμία Biermer, ένας και αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία και ένας είχε επιπλέον και σύνδρομο Sjogren και νεφρωσικό σύνδρομο ελαχίστων αλλοιώσεων και μυοσίτιδα. Δύο ασθενείς είχαν ΡΑ, ένας είχε νόσο Still των ενηλίκων, ένας ψωριασική αρθρίτιδα, ένας ασθενής είχε νόσο Graves, ένας ινσουλινοεξαρτώμενο διαβήτη (IDDM), ένας σκληρόδερμα-σύνδρομο CREST, ένας πολυνευροπάθεια απομυελινωτικού τύπου, ένας ρευματική πολυμυαλγία, ένας σαρκοείδωση πνευμόνων, ήπατος και σπληνός, ένας συστηματικό ερυθρεματώδη λύκο (ΣΕΛ), ένας ελκώδη κολίτιδα και τέλος ένας ασθενής είχε εκδηλώσεις ψωρίασης.

Πίνακας 1: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	ΑΗ (n=59)
Φύλο (γυναίκες/άνδρες)	47/12
Ηλικία (έτη)	55 ±18,2
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	41.4 ± 56
Κατανάλωση αλκοόλ (ναι/όχι)	11/48
Κίρρωση (ναι/όχι)	26/33
Άλλη συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	20/39
Θρομβώσεις ή μαιευτικές επιπλοκές * (ναι/όχι)	4/55
Ενεργότητα νόσου (ναι/όχι)**	22/37
Ανοσοκατασταλτική αγωγή (ναι/όχι)	11/48

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. *Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι μορφολογικά υγιούς εμβρύου πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης ή μια ή περισσότερες γεννήσεις πρόωρου μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού πριν από την 34^η εβδομάδα της κύησης σε συνδυασμό με σοβαρή προεκλαμψία ή πλακουντιακή ανεπάρκεια ή τρεις ή περισσότερες συνεχόμενες αποβολές πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης. **Παρουσία ενός ή παραπάνω από τα παρακάτω γενικά συμπτώματα: αίσθημα αδυναμίας και εύκολης κόπωσης, αρθραλγίες, ναυτία, ανορεξία, ίκτερος, απώλεια βάρους συνοδευόμενα ή όχι από αυξημένες τιμές αμινοτρανσφερασών

Επίσης από τους 59 ασθενείς, τέσσερεις είχαν ιστορικό θρομβώσεων και/ή μαιευτικών επιπλοκών. Συγκεκριμένα μια ασθενής είχε ιστορικό 5 αποβολών,

μια είχε ιστορικό 4 συνεχόμενων αποβολών, ένας ασθενής είχε ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου σε νεαρή ηλικία και ένας ασθενής ιστορικό εντω βάθει φλεμβοθρόμβωσης των κάτω άκρων και πνευμονικής εμβολής αμέσως μετά την διακοπή αντιπηκτικής αγωγής.

Πίνακας 2: Ιολογικό προφίλ των ασθενών με ΑΗ.

ΙΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ	ΑΗ (n=59)
<i>HBsAg (θετικό/αρνητικό)</i>	2/57
<i>Anti-HBs (θετικό/αρνητικό)</i>	26/33
<i>Anti-HBc (θετικό/αρνητικό)</i>	32/27
<i>HBeAg (θετικό/αρνητικό)</i>	0/59
<i>Anti-HBe (θετικό/αρνητικό)</i>	10/49
<i>Αρνητικοί όλοι οι δείκτες για ηπατίτιδα Β</i>	24
<i>Anti-HBs μόνο (θετικό)</i>	2
<i>Anti-HBc μόνο (θετικό)</i>	7
<i>Anti-HBs και Anti-HBc (θετικό)</i>	16
<i>Anti-HBs και Anti-HBe (θετικό)</i>	1
<i>Anti-HBs και Anti-HBc και Anti-HBe (θετικό)</i>	6
<i>Anti-HBc και Anti-HBe (θετικό)</i>	1
<i>HBsAg και Anti-HBc και Anti-HBe (θετικό)</i>	2
<i>Anti-HCV (θετικό/αρνητικό)</i>	1/58
<i>Anti-HAV IgG (n=50) (θετικό/αρνητικό)</i>	39/11
<i>Anti-HAV IgM (n=42) (θετικό/ αρνητικό)</i>	0/42

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν.

Την στιγμή του ελέγχου 48 ασθενείς δεν είχαν λάβει κανένα είδος ανοσοκατασταλτικής αγωγής κατά το παρελθόν. Σαράντα από αυτούς ελέγχθηκαν την στιγμή της διάγνωσης πριν από την έναρξη της αγωγής ενώ οι υπόλοιποι 8 είχαν ήδη κίρρωση την στιγμή της διάγνωσης και για αυτό η ανοσοκατασταλτική αγωγή δεν ενδεικνύονταν. Έντεκα ασθενείς βρίσκονταν υπό αγωγή την στιγμή της μελέτης με διάρκεια αγωγής $29,7 \pm 70$ μήνες, στους 6 από τους οποίους γίνονταν χορήγηση πρεδνιζολόνης (15mg/ημερησίως με

διάρκεια αγωγής $44,9 \pm 95,8$ μήνες), ενώ οι υπόλοιποι ελάμβαναν πρεδνιζολόνη $7,5$ mg/ημερησίως και αζαθειοπρίνη $1,5-2$ mg/Kg/ημερησίως (διάρκεια αγωγής $9,8 \pm 6,3$ μήνες). Επίσης η ενεργότητα της νόσου σύμφωνα και με πρόσφατες δημοσιεύσεις της ομάδας μας [449, 589] ορίστηκε με βάση την παρουσία ενός ή παραπάνω από τα παρακάτω γενικά συμπτώματα: αίσθημα αδυναμίας και εύκολης κόπωσης, αρθραλγίες, ναυτία, ανορεξία, ίκτερος, απώλεια βάρους συνοδευόμενα ή όχι από αυξημένες τιμές αμινοτρανσφερασών.

Πίνακας 3: Εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΑΗ.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	ΑΗ (n=59)
Αιμοπετάλια ($\times 10^3/mm^3$)	193.09 ± 78.3
Θρομβοκυτταροπενία* (ναι/όχι)	16/43
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	2099 ± 949
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	218 ± 160
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	376 ± 322
AST (U/L)	180 ± 472
ALT (U/L)	166 ± 375
γ -GT (U/L)	113 ± 138
ALP (ανώτερο φυσιολογικό όριο 306 U/L)	153 ± 92
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.68 ± 2.6
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	1.57 ± 6.05
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	0.91 ± 0.9
Ολικά λευκώματα (g/dl)	7.9 ± 1.02
Αλβουμίνη (g/dl)	4.2 ± 0.87
γ -σφαιρίνες (g/dl)	3.73 ± 1.10

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση. * τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από $140.000/\mu\text{l}$.

2.2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)

Από τους 100 ασθενείς με ΠΧΚ, οι 93 είχαν ανιχνεύσιμο τίτλο AMA αντισωμάτων, ενώ 7 ασθενείς ήταν AMA αρνητικοί (με την τεχνική του ΕΑΦ, που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων αυτών). Από τους 100 ασθενείς, οι 15 ήταν άνδρες και οι 85 γυναίκες (αναλογία γυναικών:ανδρών 5,7:1), η μέση τιμή της ηλικίας τους ήταν 57 έτη με εύρος 26-85 έτη. Ιστολογικά δεδομένα ήταν διαθέσιμα σε 78 από τους 100 ασθενείς και με βάση τα κριτήρια ιστολογικής ταξινόμησης [445] υπήρχαν 56 ασθενείς σταδίου I, 7 ασθενείς σταδίου II, 11 ασθενείς σταδίου III και 4 ασθενείς σταδίου IV. Συνολικά, με βάση την κλινική εκτίμηση και τα ιστολογικά δεδομένα 20 άτομα είχαν ενδείξεις και συμπτώματα κίρρωσης (στάδιο IV) και 80 ασθενείς βρίσκονταν σε πρωιμότερο στάδιο. Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ, δίνονται με λεπτομέρειες στους Πίνακες 4,5 και 6.

Πίνακας 4: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	ΠΧΚ (n=100)
Φύλο (γυναίκες/άνδρες)	85/15
Ηλικία (έτη)	57 ± 13.1
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	29.8 ± 42.6
Κατανάλωση αλκοόλ (ναι/όχι)	18/82
Κίρρωση (ναι/όχι)	20/80
Άλλη συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	45/55
Θρομβώσεις ή μαιευτικές επιπλοκές * (ναι/όχι)	3/97

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. *Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι μορφολογικά υγιούς εμβρύου πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης ή μια ή περισσότερες γεννήσεις πρόωρου μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού πριν από την 34^η εβδομάδα της κύησης σε συνδυασμό με σοβαρή προεκλαμψία ή πλακουντιακή ανεπάρκεια ή τρεις ή περισσότερες συνεχόμενες αποβολές πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης.

Σαράντα πέντε από τους 100 ασθενείς με ΠΧΚ είχαν και εκδηλώσεις άλλης αυτοάνοσης διαταραχής. Συγκεκριμένα 16 ασθενείς είχαν σύνδρομο Sicca εκ των οποίων ένας είχε επιπλέον και λεύκη και δυο είχαν επιπλέον και υποθυρεοειδισμό. Δεκατέσσερις ασθενείς είχαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto εκ των οποίων ένας είχε επιπλέον σύνδρομο Sjogren και ένας είχε σύνδρομο Sjogren και αναιμία Biermer. Πέντε ασθενείς είχαν PA εκ των οποίων ένας είχε επιπλέον και εκδηλώσεις συνδρόμου Sjogren. Τέσσερις ασθενείς είχαν σύνδρομο CREST εκ των οποίων ένας είχε επιπλέον και ιδιοπαθή πνευμονική υπέρταση. Τέλος υπήρχαν ένας ασθενής με αναιμία Biermer, ένας με νεφρωσικό σύνδρομο, ένας με δερματομυοσίτιδα, ένας με ισουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη και ένας με σύνδρομο Sjogren και λεύκη.

Πίνακας 5: Ιολογικό προφίλ των ασθενών με ΠΧΚ.

ΙΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ	ΠΧΚ (n=100)
<i>HBsAg (θετικό/αρνητικό) (n=90)</i>	4/86
<i>Anti-HBs (θετικό/αρνητικό)(n=88)</i>	23/65
<i>Anti-HBc (θετικό/αρνητικό)(n=88)</i>	34/54
<i>HBeAg (θετικό/αρνητικό)(n=84)</i>	1/83
<i>Anti-HBe (θετικό/αρνητικό)(n=84)</i>	12/72
<i>Αρνητικοί όλοι οι δείκτες για ηπατίτιδα Β</i>	48
<i>Anti-HBs μόνο</i>	4
<i>Anti-HBc μόνο</i>	5
<i>Anti-HBs και Anti-HBc</i>	15
<i>Anti-HBs και Anti-HBe</i>	0
<i>Anti-HBs και Anti-HBc και Anti-HBe</i>	5
<i>Anti-HBc και Anti-HBe</i>	4
<i>HBs και Anti-HBc και Anti-HBe</i>	4
<i>Anti-HCV(θετικά/αρνητικά)</i>	2/98
<i>Anti-HAV IgG (θετικό/αρνητικό)(n=71)</i>	54/17
<i>Anti-HAV IgM (θετικό/ αρνητικό)(n=71)</i>	0/71

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν

Από τους 100 ασθενείς με ΠΧΚ κανένας δεν είχε ιστορικό θρομβώσεων κατά το παρελθόν ενώ τρεις ασθενείς είχαν ιστορικό μαιευτικών επιπλοκών. Συγκεκριμένα μια ασθενής είχε ιστορικό 4 αποβολών, μια είχε ιστορικό δύο συνεχόμενων αποβολών και μια είχε ιστορικό 2 αποβολών και επιπλέον γέννησης νεκρού εμβρύου.

Πίνακας 6: Εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΠΧΚ.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	ΠΧΚ (n=100)
Αιμοπετάλια ($\times 10^3/mm^3$)	236.3 \pm 77.4
Θρομβοκυτταροπενία* (ναι/όχι)	9/91
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	1540 \pm 811
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	291 \pm 440
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	315 \pm 241
AST (U/L)	46 \pm 32.8
ALT (U/L)	53.2 \pm 51.5
γ -GT (U/L)	119.9 \pm 115.9
ALP (ανώτερο φυσιολογικό όριο 306 U/L)	372.4 \pm 232.8
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.14 \pm 1.41
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	0.40 \pm 0.82
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	0.77 \pm 0.76
Ολικά λευκώματα (g/dl)	7.66 \pm 0.81
Αλβουμίνη (g/dl)	4.28 \pm 0.75
γ -σφαιρίνες (g/dl)	3.41 \pm 0.91

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση. * τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 / μ l.

Το προγνωστικό μοντέλο επιβίωσης και έκβασης των ασθενών με ΠΧΚ της Mayo Clinic προσδιορίστηκε σύμφωνα με τον τύπο: $R = 0,871 \times \log_e$ (ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl) $-2,53 \times \log_e$ (αλβουμίνη σε g/l) $+ 0,039 \times$ (ηλικία σε έτη) $+ 2,38 \times$ (χρόνο προθρομβίνης) $+ 0,859 \times$ (δείκτης οιδήματος; 0: απουσία οιδήματος. 0,5: οίδημα που αντιμετωπίζεται με διουρητική αγωγή 1: ασκίτης ή οίδημα μη αντιμετωπίσιμο με διουρητικά) [466].

2.3. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΛΑΓΓΕΙΠΤΙΔΑ (ΠΣΧ)

Η διάγνωση των ασθενών με ΠΣΧ έγινε με βάση τα παρακάτω κριτήρια: α. εικόνα χρόνιας χολοστατικής νόσου για χρονικό διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών. β: τιμή αλκαλικής φωσφατάσης τουλάχιστον 1.5 φορές πάνω από την ανώτερη φυσιολογική τιμή. γ: χολαγγειογραφικά ευρήματα ενδεικτικά ΠΣΧ ή επί απουσίας των ειδικών ευρημάτων (πρώιμη ΠΣΧ ή ΠΣΧ των μικρών χοληφόρων, small duct PSC) βιοψία ήπατος συμβατή με ΠΣΧ.

Από τους 41 ασθενείς με ΠΣΧ, οι 3 είχαν σύνδρομο επικάλυψης ΑΗ/ΠΣΧ. Είκοσι τρεις από αυτούς ήταν άνδρες και 18 ήταν γυναίκες (λόγος ανδρών:γυναικών 1,3:1). Πέντε από τους 41 ασθενείς είχαν κίρρωση την στιγμή της συλλογής του δείγματος. Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ, δίνονται με λεπτομέρειες στους Πίνακες 7,8 και 9.

Πίνακας 7: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ	ΠΣΧ (n=41)
Φύλο (γυναίκες/άνδρες)	18/23
Ηλικία (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)(έτη)	42 ± 11.7
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	38.75 ± 59
Κατανάλωση αλκοόλ (ναι/όχι)	6/35
Κίρρωση (ναι/όχι)	5/36
Άλλη συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	15/26
Θρομβώσεις ή μαιευτικές επιπλοκές * (ναι/όχι)	2/39

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. *Ένας ή περισσότεροι ανεξήγητοι θάνατοι μορφολογικά υγιούς εμβρύου πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης ή μια ή περισσότερες γεννήσεις πρόωρου μορφολογικά φυσιολογικού νεογνού πριν από την 34^η εβδομάδα της κύησης σε συνδυασμό με σοβαρή προεκλαμψία ή πλακουντιακή ανεπάρκεια ή τρεις ή περισσότερες συνεχόμενες αποβολές πριν από την 10^η εβδομάδα της κύησης.

Δέκα έξι από τους ασθενείς είχαν και εκδηλώσεις άλλης αυτοάνοσης διαταραχής εκτός της ΠΣΧ. Συγκεκριμένα 8 ασθενείς είχαν υποθυρεοειδισμό, οι δυο εκ των οποίων είχαν και σύνδρομο Sicca, τέσσερεις είχαν ελκώδη κολίτιδα εκ των οποίων ο ένας είχε επιπλέον και ψωρίαση και γυροειδή αλωπεκία, δύο είχαν ψωρίαση και ένας είχε σύνδρομο Sjogren. Δύο από τους ασθενείς είχαν ιστορικό αποβολών κατά την κύηση (2 και 3 αντίστοιχα), ενώ κανένας δεν ανέφερε ιστορικό θρομβώσεων κατά το παρελθόν.

Τέλος ο προσδιορισμός του προγνωστικού δείκτη επιβίωσης Mayo score των ασθενών με ΠΣΧ, έγινε σύμφωνα με τον τύπο: $R = 0,03 \times (\text{ηλικία σε έτη}) + 0,54 \times \log_e (\text{ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl}) + 0,54 \times \log_e (\text{AST σε U}) + 1,24 \times (\text{ιστορικό κίρρωσης}; 1: \text{ναι}, 2: \text{όχι}) - 0,84 \times (\text{αλβουμίνη σε g/dl})$ [564].

Πίνακας 8: Ιολογικό προφίλ των ασθενών με ΠΣΧ.

ΙΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ	ΠΣΧ (n=41)
HBsAg (θετικό/αρνητικό)(n=39)	3/36
Anti-HBs (θετικό/αρνητικό)(n=37)	9/28
Anti-HBc (θετικό/αρνητικό)(n=37)	6/31
HBeAg (θετικό/αρνητικό)	5/36
Anti-HBe (θετικό/αρνητικό)(n=36)	3/33
Αρνητικοί όλοι οι δείκτες για ηπατίτιδα Β	24
Anti-HBs μόνο	7
Anti-HBc μόνο	1
Anti-HBs και Anti-HBc	2
Anti-HBs και Anti-HBe	0
Anti-HBs και Anti-HBc και Anti-HBe	2
Anti-HBc και Anti-HBe	0
HBs και Anti-HBc και Anti-HBe	1
Anti-HCV	0
Anti-HAV IgG (θετικό/αρνητικό)(n=33)	15/18
Anti-HAV IgM (θετικό/ αρνητικό) (n=34)	0/34

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν.

Πίνακας 9: Εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΠΣΧ.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	ΠΣΧ (n=41)
Αιμοπετάλια ($\times 10^3/mm^3$)	254.8 \pm 89.3
Θρομβοκυτταροπενία* (ναι/όχι)	1/40
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	1276 \pm 306
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	144 \pm 90
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	242 \pm 142
AST (U/L)	50.2 \pm 48.7
ALT (U/L)	74.12 \pm 83.5
γ -GT (U/L)	179.3 \pm 281
ALP (ανώτερο φυσιολογικό όριο 306 U/L)	362.6 \pm 340.9
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.20 \pm 1.50
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	0.32 \pm 0.45
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	0.71 \pm 0.44
Ολικά λευκώματα(g/dl)	7.7 \pm 0.68
Αλβουμίν η(g/dl)	4.52 \pm 0.41
γ -σφαιρίνες (g/dl)	3.20 \pm 0.67

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση. * τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 / μ l.

2.4. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ

Η ομάδα ελέγχου των 228 ατόμων με ηπατίτιδα C αποτελούνταν από 124 γυναίκες και 124 άνδρες με μέση ηλικία 59 έτη και εύρος ηλικιών 17 έως 83 έτη. Η διάγνωση της χρόνιας HCV λοίμωξης έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια του EASL (EASL International Consensus criteria) [590]. Εν συντομία, οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη ομάδα ελέγχου πληρούσαν τα παρακάτω κριτήρια: α) ορολογική απόδειξη χρόνιας λοίμωξης από τον HCV όπως αυτή ορίζεται από την ανίχνευση αντισωμάτων εναντίον του ιού (αντι-HCV) με ανοσοενζυμική μέθοδο τρίτης γενεάς (Murex Diagnostics, Temple Hill,

Dartford, UK), τουλάχιστο δύο φορές μέσα σε έξι μήνες πριν την είσοδο στη μελέτη, β) ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού όπως ορίζεται από την ανίχνευση HCV RNA με τη χρήση της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR, Cobas AmpliCor HCV Monitor test, Roche). Όλοι οι ασθενείς ήταν αρνητικοί για το αντιγόνο επιφανείας του ιού της ηπατίτιδα Β (HBsAg), για αντισώματα έναντι του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας-HIV (αντι-HIV) (Abbot Laboratories, Wiesbaden, Germany), το VDRL test, και την άμεση αντίδραση Coombs.

Ιστολογικά δεδομένα υπήρχαν για τους 129 από τους 228 ασθενείς με ηπατίτιδα C. Η ιστολογική εκτίμηση της φλεγμονής και ίνωσης έγινε σύμφωνα με το δείκτη ιστολογικής δραστηριότητας Knodell [591, 592]. Η φλεγμονώδης δραστηριότητα κατά Knodell βαθμοποιείται από 0 έως 18 με βάση το βαθμό της πυλαίας, περιπυλαίας, και λοβιακής φλεγμονής, ενώ η ίνωση βαθμοποιείται ως: 0 (χωρίς ίνωση), 1 (πυλαία ίνωση), 2 (πυλαία ίνωση με σχηματισμό διαφραγμάτων), 3 (γεφυροποιός ίνωση), 4 (κίρρωση). Για την ενιαία στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες α) σύμφωνα με την φλεγμονή: ελάχιστη ή ήπια (0-8) και μέτρια ή σοβαρή (9-18) και β) σύμφωνα με την ίνωση: καθόλου ή ήπια (0-1) και μέτρια ή σοβαρή (2-4). Επίσης όπως προαναφέρθηκε με βάση κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε δύο κατηγορίες: στους ασθενείς με κίρρωση και σε αυτούς χωρίς κίρρωση. Έτσι από τους 228 ασθενείς με HCV λοίμωξη υπήρχαν 45 με κίρρωση.

Δέκα έξι από τους ασθενείς με ηπατίτιδα C είχαν επιπλέον και συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή. Συγκεκριμένα τέσσερις ασθενείς

έπασχαν από σύνδρομο Sjögren, ένας ασθενής έπασχε από σύνδρομο sicca, δύο ασθενείς έπασχαν από σπειραματονεφρίτιδα, ένας από όψιμη δερματική πορφυρία, ένας από πολυαρθρικό σύνδρομο, ένας από μυοσίτιδα, τρεις από ψωρίαση, ένας από ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση και δύο από θυρεοειδίτιδα Hashimoto.

Όσον αφορά το ιστορικό θρομβοεμβολικών επεισοδίων, δύο ασθενείς είχαν ιστορικό οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, δύο ισχαιμικού αγγειακού εγκεφαλικού, ένας πνευμονικής εμβολής, ένας εν τω βάθει φλεβοθρόμβωσης δεξιού κάτω άκρου, ένας θρόμβωσης κεντρικής φλέβας αμφιβληστροειδούς και ένας θρομβωτικής θρομβοπενικής πορφύρας (ιστορικό θρόμβωσης 8 από τους 228 HCV ασθενείς). Από τις 124 γυναίκες, 8 ανέφεραν στο ιστορικό τους δύο ή περισσότερες αποβολές.

Η ομάδα ελέγχου των 50 ασθενών με ηπατίτιδα Β αποτελούνταν από 20 γυναίκες και 30 άνδρες με μέση τιμή ηλικίας τα 57 έτη και εύρος ηλικιών 18 έως 71 έτη. Οκτώ από τους ασθενείς αυτούς είχαν κίρρωση την στιγμή του ελέγχου. Επίσης ένας από τους ασθενείς είχε κλινικά έκδηλη κρουσφαιριναιμία ενώ κανένας από αυτούς δεν εμφάνιζε εκδηλώσεις θρομβοεμβολικών επεισοδίων και/ή πολλαπλών αποβολών.

Η ομάδα ελέγχου των ατόμων με μη-ιογενή μη-αυτοάνοση ηπατική διαταραχή συμπεριλάμβανε 24 ασθενείς με αλκοολική ηπατοπάθεια, 44 ασθενείς με μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα και 55 ασθενείς με αδιευκρίνιστη αιτία τρανσαμινασαιμίας. Αποτελούνταν από 55 γυναίκες και 68 άνδρες με μέση ηλικία τα 56 έτη και εύρος ηλικιών 18 έως 71 έτη.

Η ομάδα ελέγχου των 267 υγιών αιμοδοτών αποτελούνταν από 117 γυναίκες και 150 άνδρες με μέση ηλικία τα 48 έτη και εύρος ηλικιών 18 έως 60

έτη. Όλοι οι αιμοδότες είχαν ελεγχθεί και είχαν βρεθεί αρνητικοί για HBsAg, για anti-HCV και για anti-HIV. Τα επίπεδα της AST κυμαίνονταν εντός των φυσιολογικών ορίων με μέση τιμή (\pm τυπική απόκλιση) $26,5 \pm 5,3$ U/L.

3. ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙ-LKM, ΑΝΑ, ΑΜΑ, ΣΜΑ, ΡCΑ ΣΕ ΙΣΤΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ.

Η ανίχνευση των αντι-LKM αντισωμάτων, καθώς και των ΑΝΑ, ΣΜΑ, ΑΜΑ και ΡCΑ, έγινε χρησιμοποιώντας σαν υπόστρωμα ήπαρ, νεφρό και στομάχι αρουραίων (Wistar rats). Αναλυτικότερα, μετά από αφαίρεση του ήπατος, των νεφρών και του στομάχου των αρουραίων, κόπηκαν τομές πάχους 7μm σε κρουτόμο, που στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες και φυλάσσονταν στους -20°C όχι πλέον των 6 εβδομάδων. Αρχικά, για το πείραμα γίνεται τοποθέτηση σε κάθε block ήπατος-νεφρού-στομάχου των δειγμάτων θετικών και αρνητικών μαρτύρων και των υπό εξέταση ορών σε αραιώση σε αλατούχο φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 0.15 mol/l, PH 7.4 (PBS), 1:40, 1:80, 1:160 και 1:320. Αφού επωαστούν για 40min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στο σκοτάδι με ικανοποιητική υγρασία, γίνεται πλύσιμο των πλακών με PBS (τρεις φορές) και κατόπιν, τοποθέτηση της αντιανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης (IgA, IgG, IgM, κ και λ αλύσων) , που είναι συνδεδεμένη με φλουοροσκεΐνη (FITC conjugate) (DAKO). Γίνεται εκ νέου επώαση για 40min στις προαναφερθείσες συνθήκες, πλύσιμο (τρεις φορές) και τελικά παρατήρηση των αποτελεσμάτων σε μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα όταν ανιχνεύεται φθορισμός σε αραιώση $\geq 1:40$.

3.2. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΑ, ΑΜΑ, ΣΜΑ ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΗΕρ2 ΚΥΤΤΑΡΩΝ.

Η ανίχνευση των ΑΝΑ, ΑΜΑ, ΣΜΑ έγινε χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα πλακίδια μονιμοποιημένων κυττάρων ΗΕρ2. Αρχικά τοποθετούνται στα πηγάδια (wells) του πλακιδίου τα δείγματα των θετικών και αρνητικών

μαρτύρων και των υπό εξέταση ορών σε αραιώσεις 1:80, 1:160 και 1:320 και επωάζονται για 30min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος στο σκοτάδι με ικανοποιητική υγρασία. Στη συνέχεια γίνεται πλύσιμο των πλακιδίων με PBS (δύο φορές για 10 min) και τοποθέτηση, μίας σταγόνας ανά well, αντι-ανθρώπινης IgG συνδεδεμένης με φλουοροσκεΐνη (FITC conjugate), επώαση, στις προαναφερθείσες συνθήκες, για 30min και επανάληψη του πλυσίματος. Τελικά γίνεται εκτίμηση των αποτελεσμάτων σε μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα όταν ανιχνεύεται φθορισμός σε αραιώση $\geq 1:80$.

3.3. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ANCA.

Η ανίχνευση των ANCA, έγινε χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα πλακίδια, που φέρουν σε πηγάδια μονιμοποιημένα σε αιθάνολη ουδετερόφιλα. Τοποθετούνται στα πηγάδια των πλακιδίων τα δείγματα των θετικών και αρνητικών μαρτύρων καθώς και οι προς εξέταση οροί σε αραιώσεις 1:20, 1:40 και 1:80 και στη συνέχεια ακολουθείται η ίδια διαδικασία, που περιγράφηκε για την ανίχνευση των ANA, AMA, SMA σε υπόστρωμα HEp2. Θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα όταν ανιχνεύεται φθορισμός σε αραιώση $\geq 1:20$.

3.4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ αντι-SLA/LP

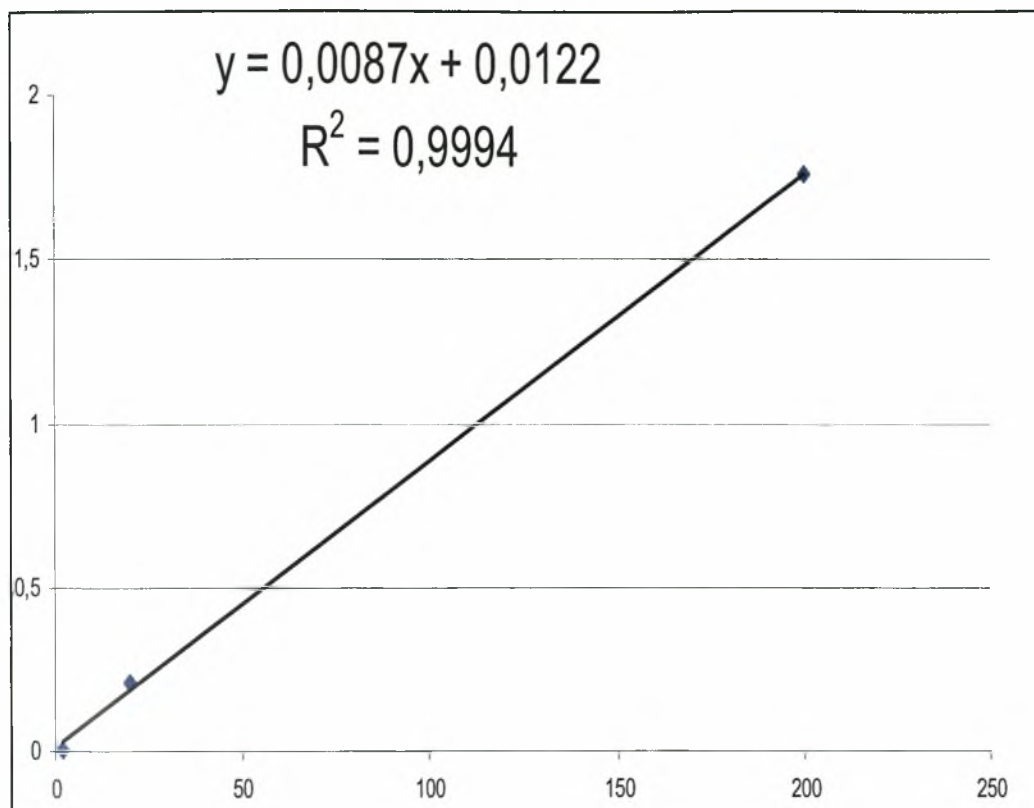
Ο προσδιορισμός των αντι-SLA/LP έγινε με εμπορικά διαθέσιμη ELISA (IgG anti-SLA/LP ELISA, EUROIMMUN) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Περιληπτικά, σε πλακίδια που έχουν ήδη συνδεδεμένο στον πυθμένα τους το αντιγόνο (SLA), γίνεται επώαση των ορών (σε αραιώση

1:101), ενός θετικού και ενός αρνητικού μάρτυρα, καθώς και τριών ορών γνωστής συγκέντρωσης για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς (standard curve), για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί πλύσιμο με κατάλληλο διάλυμα (wash buffer) και εν συνεχεία γίνεται επώαση με το δεύτερο αντίσωμα (peroxidase-labelled anti-human IgG rabbit) για 30 min. Μετά το εκ νέου πλύσιμο, προστίθεται το υπόστρωμα (TMB/H₂O₂) για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό μέρος για να ακολουθήσει το μπλοκάρισμα της αντίδρασης με 0,5 M θειϊκό οξύ. Τα αποτελέσματα διαβάζονται σε αναλυτή σε μήκος κύματος 450 nm και μήκος κύματος αναφοράς τα 650 nm. Από την απορρόφηση των 3 θετικών μαρτύρων γνωστής συγκέντρωσης SLA/LP γίνεται κατασκευή της καμπύλης αναφοράς (Σχήμα 1) και βάσει αυτής υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις του αντισώματος για τους ασθενείς. Θετικός τίτλος ορίζεται σύμφωνα με τον κατασκευαστή τιμή μεγαλύτερη των 20 RU/ml.

3.5. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ IgG ΚΑΙ IgM ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΤΑ ΚΑΡΔΙΟΛΙΠΙΝΗΣ

3.5.1. ΣΤΗΣΙΜΟ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Υπάρχουν μια σειρά από μεταβλητές που πρέπει να λάβει κανείς υπόψη προκειμένου να εγκαταστήσει μια μέθοδο που να χαρακτηρίζεται από ειδικότητα και επαναληψιμότητα. Σε μια πρόσφατη συγκριτική μελέτη του European Antiphospholipid Forum διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν πολλές μεταβλητές οι οποίες διαφέρουν σημαντικά στα διάφορα ερευνητικά κέντρα και οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν το τελικό αποτέλεσμα [593]. (Πίνακας 10).



Σχήμα 1: Καμπύλη αναφοράς (standard curve) και εξίσωση ευθείας που προκύπτει από τον συσχετισμό των τιμών των απορροφήσεων και των αντίστοιχων συγκεντρώσεων 3 μαρτύρων (2, 20 και 200 RU/ml) βάσει της οποίας εν συνεχεία θα υπολογιστούν οι τίτλοι των αντι-SLA/LP των ασθενών. Οριζόντιος άξονας : συγκέντρωση (RU/ml), κατακόρυφος άξονας : απορρόφηση.

Μια πολυκεντρική ανάλυση αξιολόγησης εννέα εμπορικών ELISA για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντι-CL αντισωμάτων, έδειξε αποκλίσεις 31-60% και 6-50% στην ανίχνευση των IgG και των IgM αντι-CL αντισωμάτων, αντίστοιχα [594]. Οι διαφορές αυτές των αποτελεσμάτων είναι πιο συχνές σε δείγματα με χαμηλό τίτλο αντι-CL αντισωμάτων, όπως εκείνα των ασθενών με HCV λοίμωξη. Η συχνότητα ανίχνευσης των αντι-CL αντισωμάτων στην ηπατίτιδα C κυμαίνεται στη βιβλιογραφία από 3.3% ως 46% [181]. Η διαφορές αυτές στη συχνότητα μπορεί να οφείλονται στις χρησιμοποιούμενες μεθόδους ανίχνευσης των αντι-CL αντισωμάτων και το σχεδιασμό των μελετών. Συγκεκριμένα, έχει σημασία το αν χρησιμοποιήθηκε εμπορική ELISA ή

“εσωτερική” (in house), διεθνώς αποδεκτή ELISA για τον προσδιορισμό των αντισωμάτων αυτών .

Πίνακας 10: Παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα της μέτρησης σε μια ELISA σε διάφορα ερευνητικά κέντρα [593].

Μεταβλητή	Αριθμός ερευνητικών κέντρων	
Πλακίδια επίστρωσης	10	Πολυστυρένιο με 4 βαθμούς HB
	4	Πολυστυρένιο με 1 βαθμό HB
	5	Πολυβινυλοχλωρίδιο
Αντιγόνο	14	Καρδιολιπίνη από βόειο καρδιακό εκχύλισμα σε αιθανόλη
	3	Καρδιολιπίνη από βόειο καρδιακό εκχύλισμα σε μεθανόλη
	1	Ανασυνδυασμένη καρδιολιπίνη σε E. coli
Διάλυμα μη ειδικής δέσμησης	11	PBS/10 % FCS
	6	PBS/ 10% ABS
	1	TBS/ 10% ABS
Χρόνος επώασης για την μη ειδική δέσμηση	11	1 ώρα
	1	90 λεπτά
	6	2 ώρες
Θερμοκρασία επώασης για την μη ειδική δέσμηση	16	Θερμοκρασία δωματίου
	1	4° C
	1	20° C
	1	37° C
Διάλυμα πλυσίματος	14	PBS
	1	TBS
	1	PBS/ 10% FCS
	1	PBS/ 10% ABS
	1	0.9 NaCl/ 0.002 % Tween 20
Διάλυμα διαλύσεως του δείγματος	11	PBS/ 10% FCS
	5	PBS/ 10% ABS
	1	TBS/ 10% FCS
	1	TBS
Αραίωση του δείγματος	1	1:20
	13	1:50
	6	1:100
	1	1:200
Μέτρηση δειγμάτων	2	Μία φορά
	16	Εις διπλούν
	4	Εις τριπλούν
Χρόνος επώασης του δείγματος	4	30 λεπτά
	7	60 λεπτά
	2	90 λεπτά
	3	120 λεπτά
	1	150 λεπτά
	6	180 λεπτά
Cut off της μεθόδου	6	Μέση τιμή ± 2SD (της ομάδας ελέγχου)
	7	Μέση τιμή ± 3SD (της ομάδας ελέγχου)
	4	Μέση τιμή ± 5SD (της ομάδας ελέγχου)
	3	Ποσόστωση 99%
	2	Ποσόστωση 97.5%
	1	Ποσόστωση 98%
	1	Ποσόστωση 95 %
	1	Μέση τιμή (της ομάδας ελέγχου) X 2
3	Cut off (U/ml) σε εμπορικές ELISA	

HB: High antigen binding capacity, PBS:phosphate buffer saline, TBS:tris buffer saline, ABS: adult bovine serum, FCS: fetal calf serum

Σε μια άλλη σημαντική πολυκεντρική μελέτη, 28 δείγματα στάλθηκαν σε 21 διαφορετικά εργαστήρια για τον προσδιορισμό αντι-β2GPI αντισωμάτων [595]. Το ποσοστό των δειγμάτων που δόθηκαν θετικά κυμαίνονταν μεταξύ 50 και 93% για τον IgG ισότυπο και μεταξύ 13% και 70% για τον IgM ισότυπο [595]. Φαίνεται λοιπόν ότι υπάρχουν πολλές παράμετροι που επηρεάζουν το τελικό αποτέλεσμα.

Κατά πρώτο λόγο έχει μεγάλη σημασία η προέλευση του αντιγόνου (ανθρώπινο, βόειο ή αιγός) που χρησιμοποιήθηκε καθώς έχει βρεθεί πως κάποια αντισώματα δεν αναγνωρίζουν αντιγόνα από όλα τα είδη. Δεύτερον τα ρυθμιστικά διαλύματα που θα χρησιμοποιηθούν για τις αραιώσεις των δειγμάτων και το πλύσιμο είναι σημαντικά για να διατηρήσουν ένα κατάλληλο ιονικό περιβάλλον ώστε να μην σπάνε ορισμένοι δεσμοί του αντιγόνου και να επηρεάζεται η δομή του.

Ένα άλλο σημαντικό πρόβλημα σε όλες της in-house ELISA είναι η μη ειδική δέσμευση του ορού στο πλακίδιο μας. Για τον λόγο αυτό χρησιμοποιούμε διαλύματα για να μπλοκάρουμε την μη ειδική δέσμευση. Το είδος επομένως του διαλύματος που θα χρησιμοποιηθεί είναι πολύ κρίσιμο στοιχείο για το στήσιμο της μεθόδου. Σε μια πρόσφατη μελέτη παρατηρήθηκαν πολύ διαφορετικά αποτελέσματα (στατιστικώς σημαντικά) για τον ίδιο ορό αν χρησιμοποιηθούν διαφορετικά διαλύματα για το μπλοκάρισμα της μη ειδικής δέσμευσης [167] (Πίνακας 11).

Άλλοι παράμετροι που πρέπει επίσης να ληφθούν υπόψη είναι το όριο θετικότητας της μεθόδου, το αν χρησιμοποιούνται θετικοί μάρτυρες και υγιείς μάρτυρες για τον έλεγχο της μεθόδου σε κάθε πείραμα, οι συνθήκες διατήρησης των ορών (πόσο συχνά ξεψύχονται και ξαναπαγώνουν) κ.λ.π.

Πίνακας 11: Σύγκριση του αποτελέσματος της χρήσης διαφορετικών διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την μη ειδική δέσμευση σε β2-GPI ELISA. Όπως μπορεί να διαπιστωθεί υπάρχουν μεγάλες διαφορές στα αποτελέσματα των απορροφήσεων τόσο στα θετικά δείγματα όσο και στην απορρόφηση του «τυφλού». Ακόμα και η χρησιμοποίηση ίδιων διαλυμάτων δίνει εντελώς διαφορετικά αποτελέσματα σε δυο διαφορετικά εργαστήρια [167].

Διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε	Απορρόφηση τυφλού (OD ± SD)	Απορρόφηση θετικού ορού (OD ± SD)
4% BSA / 0,1% Tween εργ Α	0,064± 0,004	1,067±0,007
4% BSA / 0,1% Tween εργ Β	0,254±0,004	0,564±0,026
0,5 mg/ml Horse IgG/ 0,1 % gelatine	0,161±0,002	0,519±0,027
0,5 mg/ml Horse IgG/0,1 % gelatine/4% BSA/ 0,1% Tween εργ Β	0,109±0,001	0,302±0,004

BSA: bovine serum albumine.

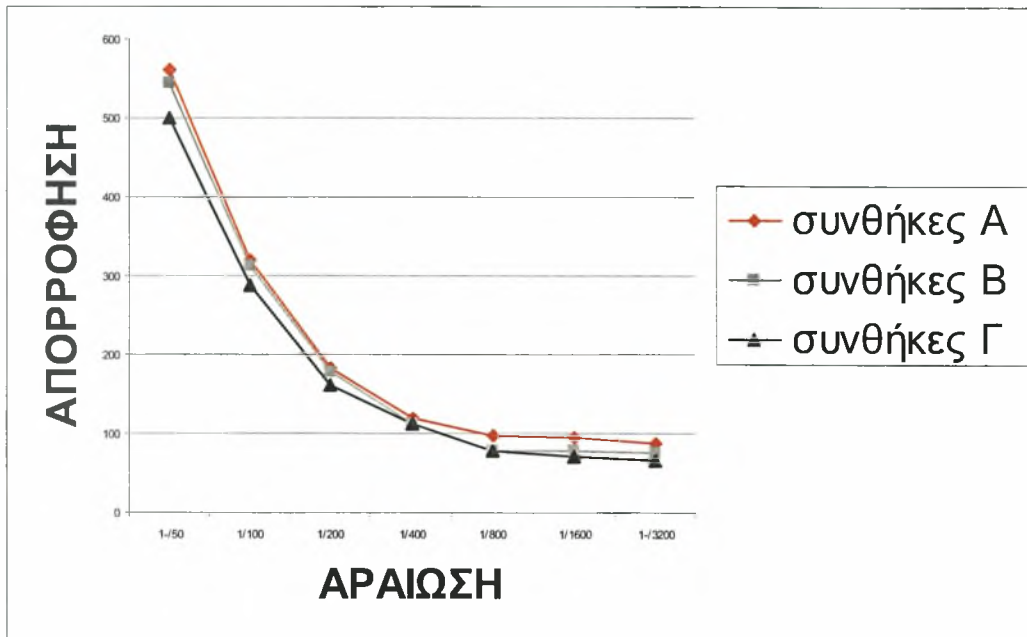
Έχοντας όλες αυτές τις παραμέτρους υπόψην προσπαθήσαμε να στήσουμε μια μέθοδο ειδική και επαναλήψιμη για των προσδιορισμό των αντι-CL αντισωμάτων.

Η συγκέντρωση του αντιγόνου (καρδιολιπίνη) που επιλέχθηκε ήταν 50 μg/ml, συγκέντρωση που εξασφαλίζει επαναληψιμότητα, αποδοτικότητα και οικονομία, όπως φαίνεται και από προηγούμενες μελέτες [596].

Επίσης ελέγχθηκε ο χρόνος και η θερμοκρασία επώασης του αντιγόνου σε ένα θετικό ορό σε διαδοχικές αραιώσεις 1:50 έως 1:3200 (Σχήμα 2). Όπως φαίνεται και από το σχήμα όλες οι πειραματικές συνθήκες επώασης του αντιγόνου έδωσαν παρόμοια αποτελέσματα. Η επώαση στους 37° C έδωσε ελαφρώς μικρότερες απορροφήσεις πιθανώς λόγω μικρής αποδιάταξης του αντιγόνου εξαιτίας της θερμικής κατεργασίας. Από τις συνθήκες αυτές επιλέχθηκε η overnight επώαση της καρδιολιπίνης στους 4° C.

Για τον έλεγχο της μη ειδικής δέσμευσης μελετήσαμε δύο ευρέως χρησιμοποιούμενα διαλύματα τα BS (bovine serum, ορός βοός) και BSA (bovine serum albumine, αλβουμίνη βοός), σε τρεις θετικούς ορούς (έναν με πολύ υψηλό τίτλο, έναν με μέτριο και έναν με χαμηλό-οριακά θετικό τίτλο) σε διαδοχικές αραιώσεις 1:50 έως 1:3200. Διαπιστώθηκε ότι η χρησιμοποίηση του BS υπερτερεί έναντι του BSA διότι μειώνει κατά πολύ την μη ειδική

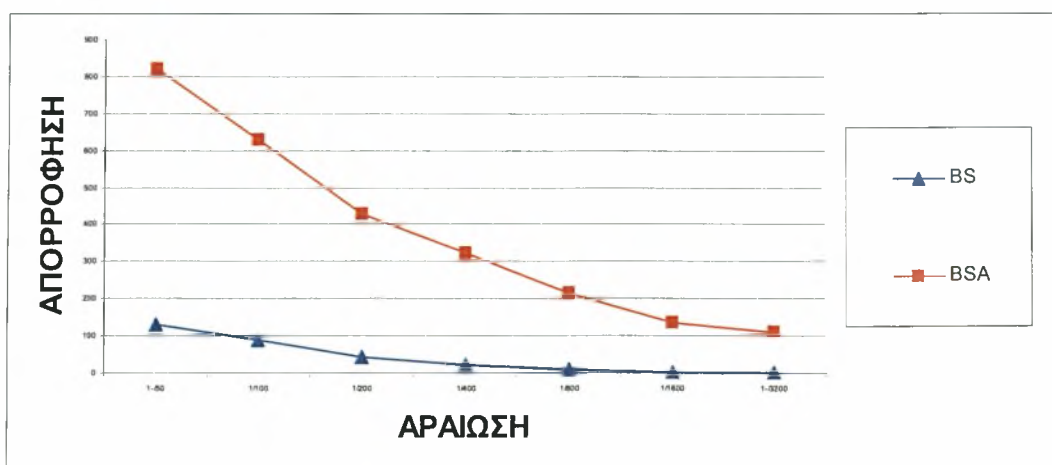
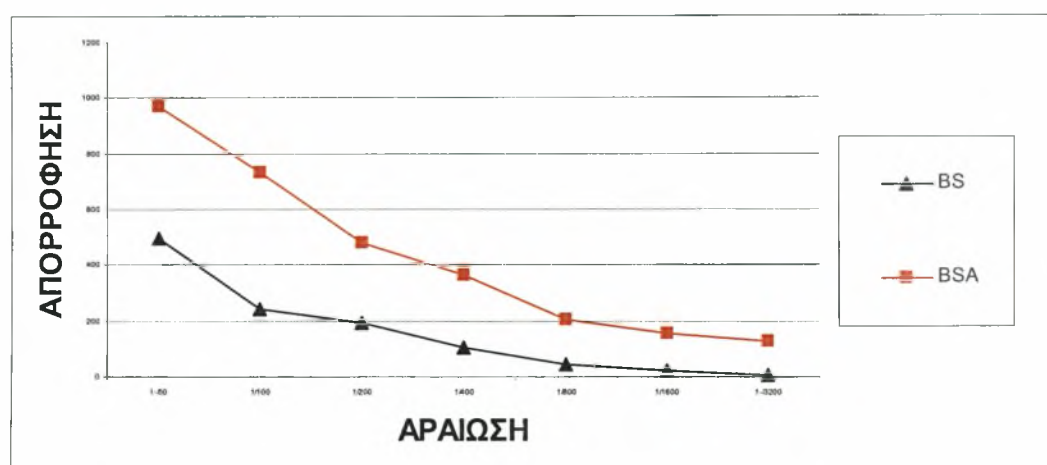
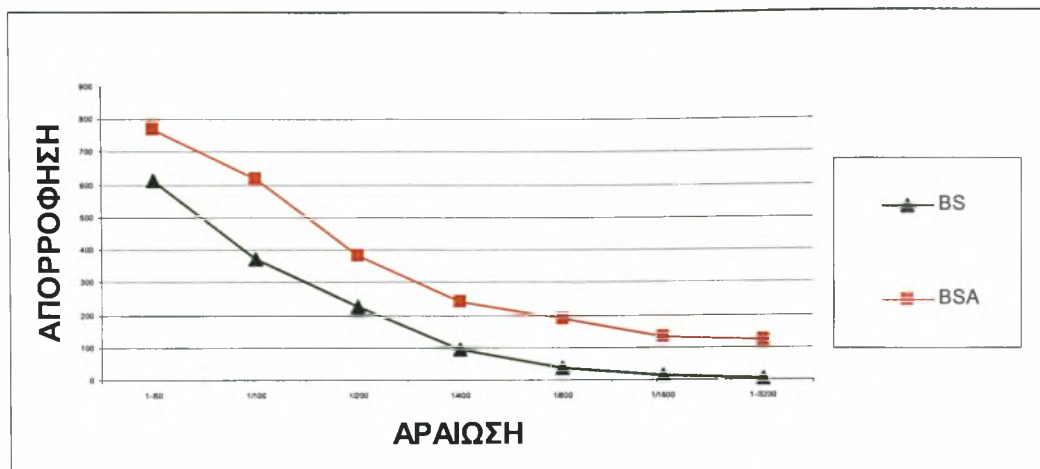
δέσμευση, κάτι που είναι ιδιαίτερα σημαντικό όχι τόσο για τους υψηλούς τίτλους αλλά κυρίως για την ανίχνευση των χαμηλών-οριακών θετικών δειγμάτων (Σχήμα 3).



Σχήμα 2: Επίδραση του χρόνου και της θερμοκρασίας επώασης του αντιγόνου στην καμπύλη απορρόφησης ενός θετικού δείγματος Α: θερμοκρασία δωματίου για 20 min και Β: επώαση στους 4° C για 16-18 ώρες (overnight). Γ: επώαση στους 37° C για 40 min. Οι απορροφήσεις που παρατηρήθηκαν ήταν παρόμοιες σε όλες τις πειραματικές συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν.

Τέλος προσπαθήσαμε να έχουμε πολύ αυστηρά κριτήρια θετικότητας στην μέθοδο μας (cut off). Έτσι σε κάθε πείραμα μαζί με τους υπό εξέταση ορούς γίνονταν έλεγχος και 10 υγιών ατόμων από τον αιμοδοτικό πληθυσμό. Το cut off της μεθόδου ορίστηκε με βάση την μέση τιμή των απορροφήσεων των υγιών προσθέτοντας επιπλέον τέσσερεις τυπικές αποκλίσεις.

Όλοι οι οροί εξετάστηκαν εις διπλούν στο κάθε πείραμα και επιπλέον κάθε ορός ελέχθηκε δύο φορές.



Σχήμα 3: Επίδραση του είδους του διαλύματος που θα χρησιμοποιηθεί για τον περιορισμό της μη ειδικής δέσμευσης στην καμπύλη απορρόφησης τριών δειγμάτων, ενός με υψηλό τίτλο, ενός με μέτριο τίτλο και ενός οριακά θετικού. BS : bovine serum, BSA: bovine serum albumine. όπως εύκολα μπορεί να διαπιστωθεί το BS θεωρείται το καταλληλότερο διάλυμα γιατί ελατώνει κατά πολύ την μη ειδική δέσμευση.

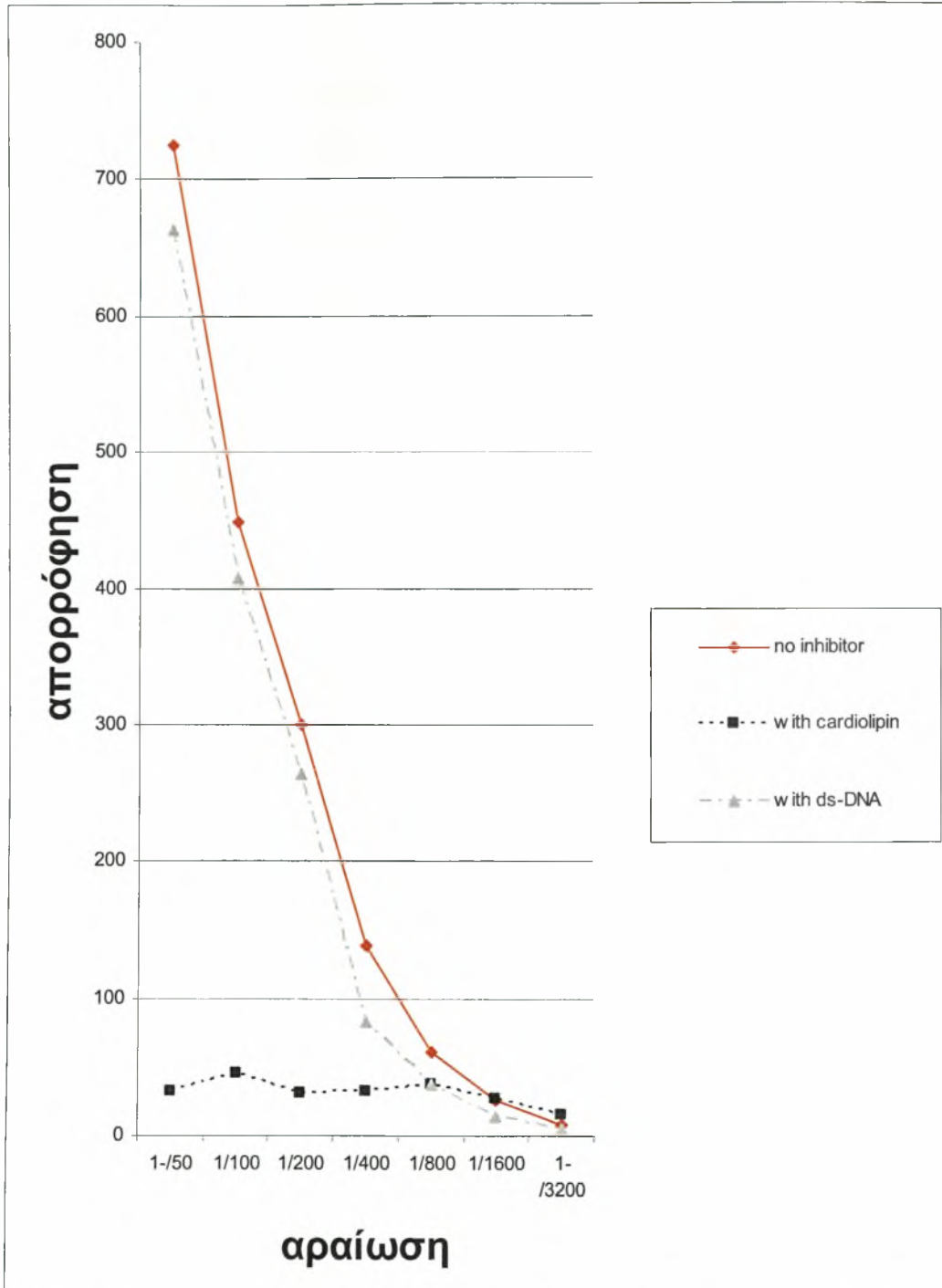
3.5.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΑΝΑΣΤΟΛΗΣ

Για να ελεγχθεί η ειδικότητα της in house ELISA για την ανίχνευση αντι-CL αντισωμάτων, έγιναν επιπλέον και πειράματα αναστολής. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν 2 αναστολείς: καρδιολιπίνη και dsDNA σε συγκέντρωση 250μg/ml η κάθε μια. Συγκεκριμένα ελέγχθηκαν τέσσερις οροί με υψηλό τίτλο IgG αντι-CL αντισωμάτων σε διαδοχικές αραιώσεις 1:50 έως 1:3200. Οι οροί αυτοί πριν χρησιμοποιηθούν για την ELISA, επώαστηκαν προηγουμένως με το διάλυμα του αναστολέα για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν στους 4° C μέχρι την επόμενη ημέρα (συγκεκριμένα παρασκευάστηκαν διαλύματα των δύο αναστολέων συγκέντρωσης 500μg/ml και αναμίχθηκαν με ίσου όγκου αραιώση του κάθε ορού, ώστε η τελική συγκέντρωση του αναστολέα να είναι 250μg/ml). Έτσι για τον κάθε ορό και για την κάθε αραιώση είχαμε συνολικά τρία δείγματα: ένα χωρίς επώαση με αναστολέα, ένα επωασμένο με καρδιολιπίνη και ένα επωασμένο με dsDNA.

Όλοι αυτοί οι οροί ελέγχθηκαν με την in house ELISA. Τα αποτελέσματα ενός από αυτούς τους ορούς φαίνονται στο Σχήμα 4. Όπως μπορεί να διαπιστώσει εύκολα κανείς η επώαση με καρδιολιπίνη πρακτικά αναστέλει πλήρως τη θετικότητα του δείγματος σε σχέση με το μη επωασμένο δείγμα, ενώ αντίθετα η επώαση με dsDNA φαίνεται να επηρεάζει ελάχιστα την καμπύλη απορρόφησης. Επομένως η μέθοδος που στήθηκε στο εργαστήριο μας φαίνεται πράγματι να έχει ειδικότητα έναντι των αντι-CL αντισωμάτων.

3.5.3. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Εν συντομία, γίνεται στρώση πλακιδίων (πολυστυρενίου που έχουν προηγουμένως ακτινοβοληθεί με UV) με επίπεδο πυθμένα (microtitre flat bottom plates) (Nunc, Roskilde Denmark) με 25μl βόειο καρδιολιπίνη (Sigma,



Σχήμα 4: Πειράματα αναστολής χρησιμοποιώντας διαδοχικές αραιώσεις (1/50-1/3200) ενός ορού με υψηλό τίτλο IgG αντι-CL αντισωμάτων από ένα ασθενή με σύνδρομο επικάλυψης ΑΗ/ΠΧΚ. Οι τιμές της απορρόφησης μειώνονται προοδευτικά στον ορό που δεν επωάσθηκε με αναστολέα (συνεχόμενη γραμμή) ή μετά από επώαση με αντι-dsDNA (διακεκομένη γραμμή). Αντίθετα η απορρόφηση του ορού που επωάσθηκε με καρδιολιπίνη πρακτικά εξαφανίσθηκε ακόμη και στην αρχική αραιώση 1/50.

St Louis, MO, USA) σε απόλυτη αιθανόλη (50μg/ml). Τα πλακίδια αφήνονται να στεγνώσουν στους 0-4⁰C για 16-18 ώρες στο σκοτάδι. Στη συνέχεια μετά από τρεις φορές πλύσιμο με PBS γίνεται προσθήκη 100 μl/well βοείου ορού (BS) 10% σε PBS και επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Μετά από μία φορά πλύσιμο με PBS, γίνεται προσθήκη 50 μl/well των δειγμάτων (ασθενών, positive control και υγιών) σε αραιώση 1:50 σε 10% BS, εις διπλούν και επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από πλύσιμο του πλακιδίου πέντε φορές με PBS, προσθέτονται σε κάθε πηγάδι 50μl αντι-αντιανθρώπινου ορού αιγός, IgG ή IgM τάξης, συνδεδεμένος με αλκαλική φωσφατάση (Sigma), σε αραιώση 1:2000 σε 10% BS και γίνεται επώαση για 90min σε θερμοκρασία δωματίου. Τελικά, το πλακίδιο πλένεται με PBS (πέντε φορές), προστίθεται το υπόστρωμα [50 μl/well p-nitrophenyl phosphate (Seralab) με συγκέντρωση 1 mg/ml σε ρυθμιστικό διάλυμα διεθανολαμίνης, PH 9.8] και γίνεται επώαση στους 37⁰C στο σκοτάδι, παρακολούθηση της αντίδρασης και διακοπή της με προσθήκη 50 μl/well διαλύματος NaOH 3N σε 15-20min. Τα αποτελέσματα (οπτική πυκνότητα, OD) διαβάζονται στα 405 nm με μήκος κύματος αναφοράς τα 630 nm (Stat 2100). Η ειδικότητα και αναπαραγωγικότητα της μεθόδου έχουν καθοριστεί από εκτενή προκαταρκτικά πειράματα όπως έχει περιγραφεί σε παλαιότερες μελέτες [86, 177, 189, 596-598]. Σε κάθε πείραμα, οι πιθανές καθημερινές διακυμάνσεις των τιμών της OD ελαχιστοποιήθηκαν 'τρέχοντας' σειρά αραιώσεων του δείγματος ενός θετικού μάρτυρα (καμπύλη, standard curve) σε κάθε πλακίδιο όπως έχει ήδη περιγραφεί [86, 177, 189, 596-598]. Εν συντομία, η καμπύλη κατασκευάστηκε με επαναλαμβανόμενες εξετάσεις δειγμάτων θετικών μαρτύρων για IgG και IgM αντι-CL αντισώματα σε σειρά αραιώσεων από 1:50 ως 1:6400. Η OD της

αραίωσης 1:6400 επιλέχθηκε αυθαίρετα να αντιπροσωπεύει 1 μονάδα δέσμησης (BU, binding unit). Οι τιμές BU των υπό εξέταση δειγμάτων υπολογίστηκαν σύμφωνα με την καμπύλη του εκάστοτε πλακιδίου, διαιρώντας την OD κάθε υπό εξέταση δείγματος με την OD, που αντιστοιχούσε σε 1 BU του συγκεκριμένου πλακιδίου. Τελικά, η έκφραση των αποτελεσμάτων γίνεται ως δείκτης δέσμησης (BI, binding index) υπολογιζόμενος διαιρώντας την BU κάθε δείγματος με τη μέση τιμή των BU τιμών της ομάδας των υγιών μαρτύρων συν 4SD, πολλαπλασιαζόμενο επί 100. Σύμφωνα με αυτόν τον τύπο, το BI με τιμή 100 ορίστηκε ως το cut-off της μεθόδου. Η υιοθέτηση αυτού του υψηλού cut-off ελαχιστοποιεί την πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων [86, 177, 189, 596-598]. Επιπλέον, με βάση παλαιότερες μελέτες [86, 177, 189], τιμές BI>200 ορίστηκαν υψηλά θετικά για αντι-CL αντισώματα, τιμές BI μεταξύ 100 και 150 ορίστηκαν ως χαμηλά-οριακά θετικές, ενώ τιμές μεταξύ 150 και 200 ορίστηκαν ως μέτρια θετικές .

3.6. ANIXNEYΣH IgG ANTISΩΜΑΤΩΝ ENANTI ΔΙΠΛΗΣ ΕΛΙΚΑΣ DNA.

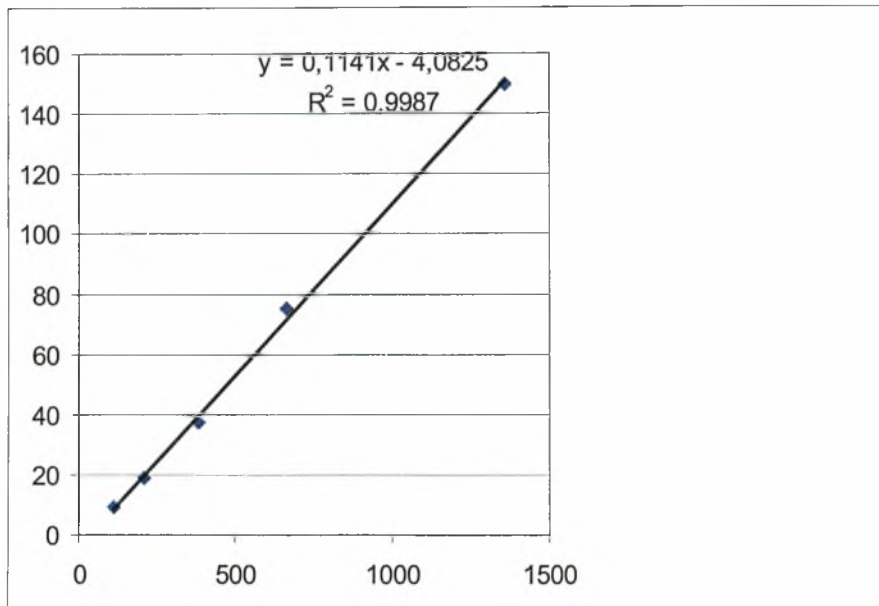
Αρχικά γίνεται στρώση πλακιδίων με επίπεδο πυθμένα (Nunc, Roskilde Denmark), με L-πολυλυσίνη (συγκέντρωσης C=50μg/ml σε PBS) 50μl ανά πηγάδι (well) του πλακιδίου και επώαση σε 37°C για 2 ώρες. Ακολουθεί πλύσιμο του πλακιδίου με 100μl PBS μία φορά και κατόπιν, γίνεται στρώση 50μl/well του αντιγόνου (φυσικό DNA, C=50μg/ml σε απιονισμένο H₂O) και επώαση για 1 ώρα στους 37°C και μετέπειτα στους 4°C overnight (16-18 ώρες). Στη συνέχεια, μετά από πλύσιμο του πλακιδίου με 100μl/well PBS (τρεις φορές), το πλακίδιο στρώνεται με S1-νουκλεάση (100μl/well, συγκέντρωση 50U/ml σε ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα, S1-nuclease buffer,

PH=4.6) και επωάζεται για 1 ώρα στους 37⁰C. Αφού πλυθεί εκ νέου με 100μl/well PBS (δύο φορές) , το πλακίδιο στρώνεται με BS 10% σε PBS 100μl/well και επωάζεται για 1 ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η διαδικασία συνεχίζεται μέχρι τέλους όπως ακριβώς στον προσδιορισμό των IgG και IgM αντι-CL αντισωμάτων, που περιγράφηκε παραπάνω.

3.7. ANIXNEYΣH IgG ANTISΩΜΑΤΩΝ ENANTI β2-GPI.

Τα αντισώματα έναντι β2-γλυκοπρωτεΐνης I ανιχνεύθηκαν με εμπορικά διαθέσιμη ELISA (QUANTA Lite™ β2 GPI IgG, INOVA Diagnostics) και ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή [599]. Εν συντομία, στα πηγάδια των πλακιδίων (που έχουν ήδη συνδεδεμένη την κεκαθαρμένη β2-GPI) γίνεται προσθήκη 100μl του κάθε ορού (ασθενούς σε αραιώση 1:101 ή μάρτυρα), εις διπλούν και επωάζονται για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Οι θετικοί μάρτυρες είναι οροί γνωστής συγκέντρωσης (5 μάρτυρες με συγκεντρώσεις 150, 75, 37.5, 18.75 και 9.375 SGU-standard anti-β2-GPI units) και χρησιμοποιούνται σε κάθε πείραμα για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς (standard curve), βάσει της οποίας θα προσδιοριστεί εν συνεχεία ο τίτλος για κάθε ασθενή. Μετά την επώαση γίνεται πλύσιμο 3 φορές με 200μl/πηγάδι ρυθμιστικό διάλυμα (tris-buffered saline που περιέχει Tween 20 0,1%) και ακολουθεί προσθήκη 100μl/πηγάδι του δεύτερου αντισώματος συζευγμένου με ένζυμο (HRP IgG-conjugate) και επώαση για 30 min. Μετά το πλύσιμο, ως ανωτέρω, γίνεται επώαση για 30 min στο σκοτάδι με 100μl/πηγάδι υποστρώματος-χρωμογόνου (TMB) και ακολουθεί διακοπή της ενζυματικής αντίδρασης με 100μl/πηγάδι διαλύματος θειικού οξέος 0,344M. Τα αποτελέσματα (οπτική πυκνότητα) διαβάζονται στον αναλυτή σε μήκος

κύματος 450 nm, με μήκος κύματος αναφοράς τα 630nm. Ακολουθεί κατασκευή της καμπύλης αναφοράς με βάσει τις απορροφήσεις των μαρτύρων (Σχήμα 5), και από την εξίσωση ευθείας αυτής προσδιορίζονται οι τιμές των ασθενών εκφραζόμενες ημιποσοτικά σε μονάδες SGU. Σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή θετικός τίτλος θεωρείται τιμή >20 SGU.



Σχήμα 5: Καμπύλη αναφοράς (standard curve) και εξίσωση ευθείας που προκύπτει από τον συσχετισμό των τιμών των απορροφήσεων και των αντίστοιχων συγκεντρώσεων 5 μαρτύρων βάσει της οποίας εν συνεχεία θα υπολογιστούν οι τίτλοι των αντι-β2-GPI των ασθενών. Κατακόρυφος άξονας : συγκέντρωση (SGU/ml), οριζόντιος άξονας : απορρόφηση.

3.8. ΧΡΗΣΗ ΟΥΡΙΑΣ

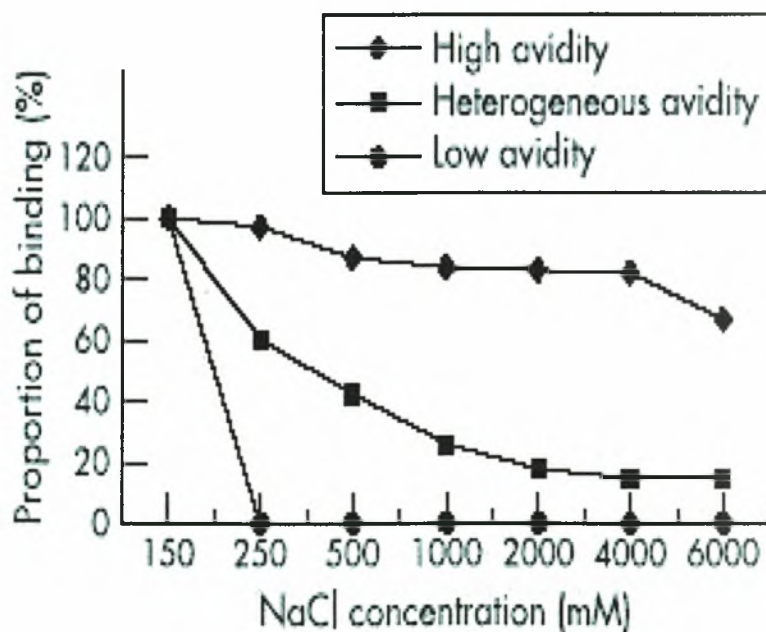
Για να περιγράψει κανείς το βαθμό ισχύος της σύνδεσης μεταξύ αντιγόνου και αντισώματος για την δημιουργία συμπλέγματος μπορεί να χρησιμοποιήσει διάφορες παραμέτρους. Μια από αυτές είναι η χημική συγγένεια δέσμευσης-κορεσμού (avidity) η οποία είναι ένα μέτρο της δεσμευτικής ισχύος του αντισώματος ως προς το αντιγόνο. Αυτό εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως από την ειδικότητα του αντισώματος, το είδος και τον αριθμό των αλληλεπιδράσεων (ετεροπολικοί δεσμοί, υδροφοβικοί και υδροφιλικοί) μεταξύ

αντιγόνου και αντισώματος καθώς και από την αντιγονική στερεοδιαμόρφωση. Ένας έμμεσος τρόπος για να μελετήσει κανείς αυτή την συγγένεια δέσμευσης-κορεσμού είναι να χρησιμοποιήσει ουσίες με ήπια αποδιατακτική-χαοτροπική δράση όπως ουρία, potassium thiocyanate και ρυθμιστικά ιονικά διαλύματα. Η ουρία είναι μια τέτοια ουσία με χαοτροπική δράση. Ο τρόπος δράσης της στηρίζεται στο γεγονός ότι μπορεί να σχηματίζει υδρογονικούς δεσμούς με πρωτεΐνες πιο ισχυρότερα σε σχέση με το νερό, και επομένως μπορεί να 'σπάσει' κάποιους ήπιους υδρογονικούς δεσμούς που σε υδατικό περιβάλλον δεν 'σπάνε' [600]. Αυτή η ιδιότητά της όμως, σε υψηλές συγκεντρώσεις, μπορεί να προκαλέσει και αποδιάταξη μιας πρωτεΐνης λόγω καταστροφής των υδρογονικών [601, 602] αλλά και κατά δεύτερο λόγο των υδροφοβικών δεσμών [603, 604]. Έχει βρεθεί όμως ότι η χρησιμοποίησή της σε χαμηλές συγκεντρώσεις (2M) επηρεάζει μόνο τις δυνάμεις αλληλεπίδρασης αντιγόνου-αντισώματος χωρίς να αλλοιώνει την αντιγονική δομή [600]. Επομένως η 'αντίσταση' στην χρήση ουρίας 2M είναι ένας έμμεσος τρόπος για να διαπιστώσει κανείς την ισχύ της δέσμευσης του αντιγόνου με το αντίσωμα.

Με βάση το ποσοστό απορρόφησης που παραμένει μετά την κατεργασία με τον χαοτροπικό παράγοντα, τα αντισώματα μπορούν να χαρακτηριστούν ως υψηλής συγγένειας (αν παραμένει πάνω από το 70% της αρχικής τιμής απορρόφησης), χαμηλής συγγένειας (αν παραμένει λιγότερο από το 25% της αρχικής τιμής απορρόφησης) και ετερογενούς συγγένειας (ενδιάμεση κατάσταση)(Σχήμα 6) [605, 606].

Έχει βρεθεί από προηγούμενες μελέτες ότι τα αντι-CL αντισώματα σε ασθενείς με APS (πρωτοπαθές και δευτεροπαθές) έχουν μεγάλη αντίσταση στην χρήση ουρίας 2M, ενώ αντι-CL αντισώματα που συναντάμε σε άλλες

καταστάσεις όπως λοιμώξεις (HIV) και ΣΕΛ (χωρίς ανάπτυξη δευτεροπαθούς APS) έχουν μικρή αντίσταση στην χρήση ουρίας [199, 607]. Συμπερασματικά επομένως φαίνεται ότι τα παθογενετικά αντι-CL αντισώματα έχουν μεγάλη αντίσταση στην χρήση χαστροπικού παράγοντα (δηλαδή υψηλότερη συγγένεια σύνδεσης με το αντιγόνο) ενώ τα μη-παθογενετικά έχουν πολύ μικρή αντίσταση στην ουρία. Στο πλαίσιο της μελέτης μας για ταυτοποίηση των αντι-CL αντισωμάτων στα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, προσδιορίσαμε επίσης τον βαθμό αντίστασης των αντι-CL στην χρήση ουρίας 2M, ώστε να εκτιμηθεί η παθογενετική ή μη σημασία αυτών των αντισωμάτων στα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος.



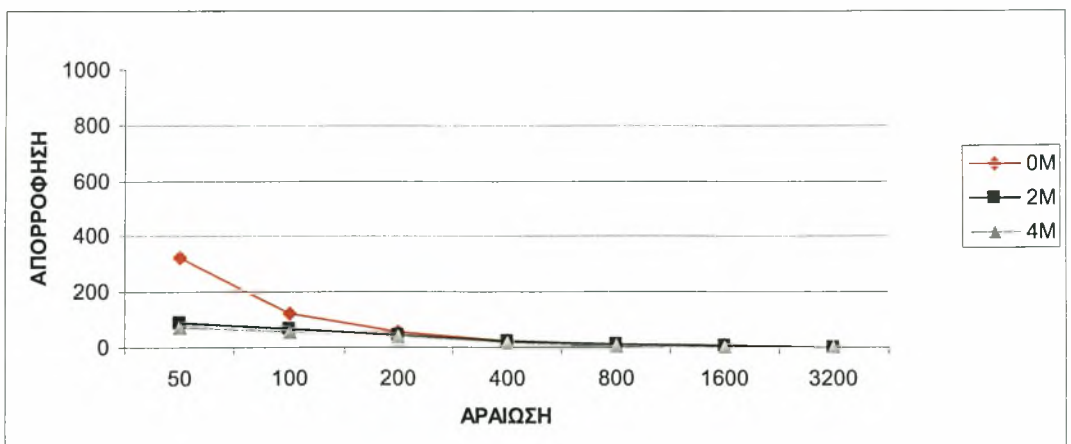
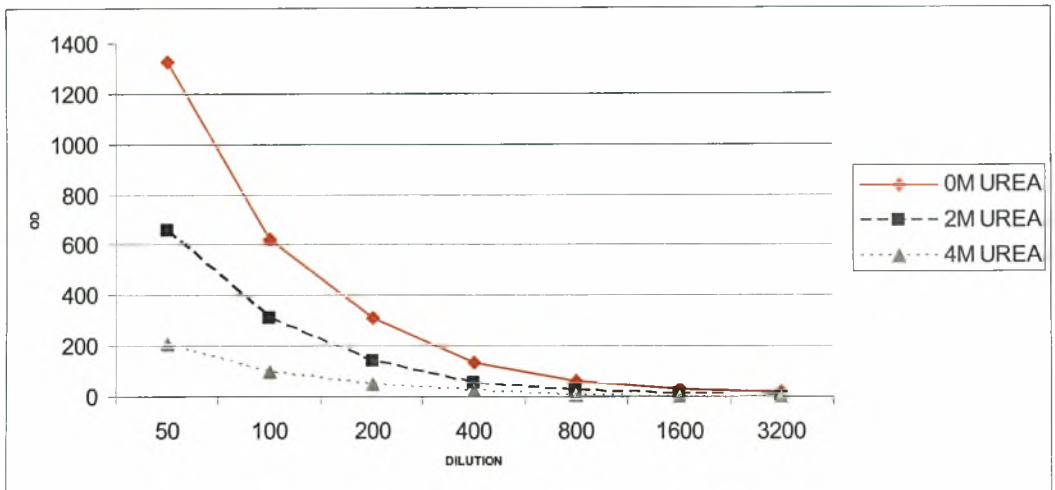
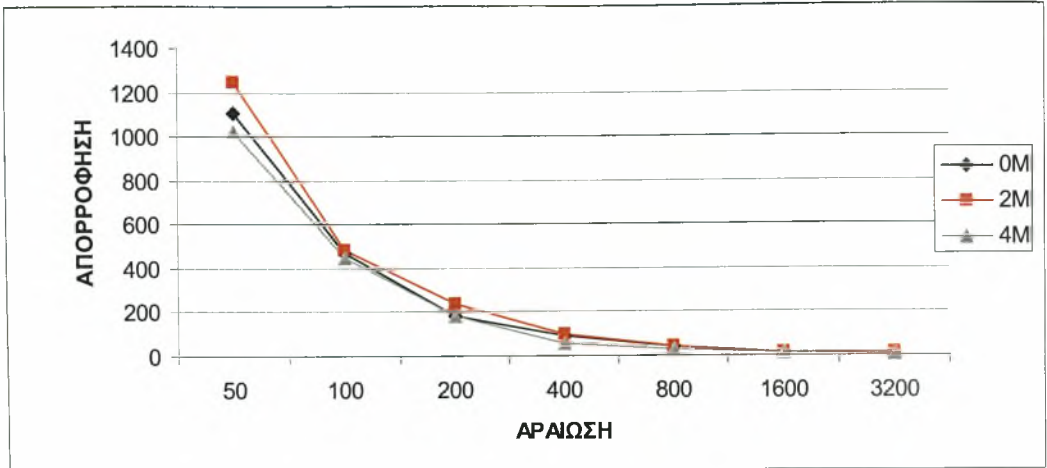
Σχήμα 6: Καμπύλες απορρόφησης αντι-β2GPI αντισωμάτων υψηλής, χαμηλής και ετερογενούς συγγένειας σε σχέση με την συγκέντρωση του χαστροπικού παράγοντα.

Για το στήσιμο της μεθόδου σε προκαταρκτικά πειράματα, θετικοί οροί για αντι-CL, διαφόρων τίτλων, ελέγχθηκαν σε διαδοχικές αραιώσεις 1: 50 έως 1:3200. Μετά το στάδιο της επώασης με τον ορό, τα πλακίδια επωάζονται για

10 min σε θερμοκρασία δωματίου με 0, 2 και 4 M ουρία. Ακολουθεί πλύσιμο με PBS και μετά από αυτό γίνεται προσθήκη του δεύτερου αντισώματος (alkaline phosphatase conjugated goat anti-human IgG) και τα υπόλοιπα στάδια πραγματοποιούνται ακριβώς όπως και στην in house ELISA που περιγράφηκε προηγουμένως. Παρατηρήθηκε ότι σε συγκέντρωση 4 M ουρία οι απορροφήσεις εξασθενούσαν σημαντικά, γιαυτό και αποφασίστηκε η σύγκριση να γίνει μεταξύ 0 και 2 M ουρία (Σχήμα 7).

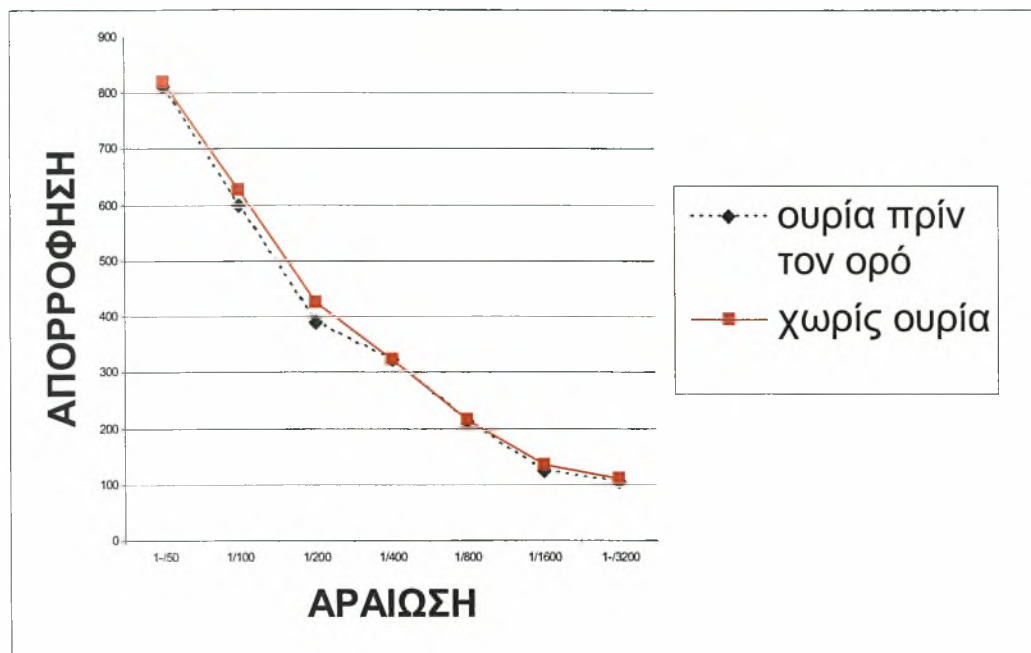
Εν συνεχεία για τον κάθε ασθενή προσδιορίστηκε ο λόγος των αραιώσεων του επωασμένου με ουρία δείγματος προς το δείγμα του ίδιου ορού που δεν επωάστηκε με ουρία, που έδιναν την ίδια οπτική απορρόφηση, εκφρασμένο επί τις εκατό. Η τιμή της οπτικής απορρόφησης που επιλέχθηκε ήταν αυτή των 0.150, σύμφωνα και με προηγούμενες μελέτες [199, 607]. Αυτό έγινε διότι η τιμή απορρόφησης 0.150 είναι λίγο πάνω από το σύνηθες όριο θετικότητας της μεθόδου (cut off) (0.100 έως 0.120) και επομένως επιτρέπει τον προσδιορισμό του λόγου ακόμη και στα δείγματα με χαμηλό τίτλο αντισωμάτων. Ο λόγος αυτός ονομάζεται RA (residual activity) «απομένουσα ενεργότητα» [199, 607]. Είναι φανερό ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο λόγος αυτός τόσο πιο ισχυρή είναι η σύνδεση του αντισώματος στο αντιγόνο. Επομένως ο λόγος RA μπορεί να θεωρηθεί ως ένας έμμεσος δείκτης της συγγένειας δέσμησης αντιγόνου-αντισώματος [199, 607].

Τέλος για να διαπιστώσουμε εάν η χρήση της ουρίας επηρεάζει ή όχι την δέσμηση του αντιγόνου στο πλακίδιο ή εάν μπορεί να αλλάζει την στερεοδιαμόρφωση του αντιγόνου, σπάζοντας κάποιους δεσμούς, έγιναν επιπρόσθετα πειράματα στα οποία η επώαση με ουρία έγινε αμέσως μετά την επώαση με την καρδιολιπίνη και πριν από το στάδιο της επώασης με τους



Σχήμα 7: πειράματα για τον προσδιορισμό της συγγένειας των αντι-CL αντισωμάτων σε τρεις ορούς με διαδοχικές αραιώσεις (1/50-1/3200), μετά από επίδραση ουρίας διαφορετικών συγκεντρώσεων. Μπορεί να διαπιστώσει κανείς τρία πρότυπα Α;πρακτικά μηδενική επίδραση της ουρίας στην απορρόφηση χαρακτηριστικό των αντισωμάτων με υψηλή συγγένεια.Β.προοδευτική μείωση της απορρόφησης όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της ουρίας, χαρακτηριστικό των αντισωμάτων με μετρίου βαθμού συγγένεια.Γ;απότομη πτώση της απορρόφησης ενδεικτικό αντισωμάτων με χαμηλή συγγένεια δεύσμευσης ως προς το αντιγόνο.

ορούς. Διαπιστώθηκε ότι οι οροί και στις δυο περιπτώσεις (προεπίωση με ουρία και χωρίς) έδιναν την ίδια αντιδραστικότητα (Σχήμα 8).



Σχήμα 8: Καμπύλες απορρόφησης ενός θετικού δείγματος με και χωρίς επώαση με ουρία, αμέσως μετά την επώαση με το αντιγόνο και πριν την επώαση του ορού. Όπως μπορεί να διαπιστωθεί δεν υπάρχει καμιά σημαντική διαφορά στις καμπύλες κάτι που υποδεικνύει ότι η ουρία δεν επηρεάζει την δέσμευση του αντιγόνου (καρδιολιπίνη) στο πλακίδιο ούτε τους δεσμούς που καθορίζουν την στερεοδιαμόρφωση αυτού.

4. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλοι οι στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν σε Microsoft computer με τη χρήση του προγράμματος SPSS, 11^η έκδοση. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή \pm σταθερά απόκλιση. Τα ευρήματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις παρακάτω στατιστικές μεθόδους: unpaired t-test, Mann-Whitney U test (MWU), χ^2 (2 x 2 με διόρθωση κατά Yates), Fisher's exact test, Pearson χ^2 , Spearman's correlation coefficient, ανάλογα με την περίπτωση. Στατιστικά σημαντική θεωρήθηκε η διπλής κατεύθυνσης τιμή $P < 0.05$. Τα όρια αξιοπιστίας (95% CI) προσδιορίστηκαν με βάση τον τύπο $P = p \pm 1.96 (pq/n)^{1/2}$ (όπου p είναι η συχνότητα, q είναι το $1-p$ και n είναι ο αριθμός των ατόμων που ελέγχθηκαν από κάθε ομάδα).

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. Συχνότητα ανίχνευσης των αντι-CL και των αντι-β2GPI αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες ασθενών

Ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος βρέθηκε να έχει θετικά αντι-CL αντισώματα IgG και/ή IgM ισοτύπου. Συγκεκριμένα από τους 59 ασθενείς με ΑΗ, 23 βρέθηκαν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα (39%; 95% CI, 26,6-51,5%), εκ των οποίων 11 ασθενείς είχαν χαμηλό τίτλο (100-150 BI), 7 είχαν μέτριο τίτλο (150-200 BI) και 5 είχαν υψηλό τίτλο (>200 BI) (μέσος τίτλος $176,4 \pm 73$ BI). Επίσης 14 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα (23,7%; 95% CI, 12,9-34,5%), εκ των οποίων 8 ασθενείς είχαν χαμηλό τίτλο, 4 είχαν μέτριο τίτλο και 2 ασθενείς είχαν υψηλό τίτλο (μέσος τίτλος $151,9 \pm 33,6$ BI). Συνολικά, τουλάχιστον ένας από τους δύο ισοτύπους των αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε θετικός σε 30 από του 59 ασθενείς με ΑΗ (50,8%; 95% CI, 38-63,6%) (Πίνακας 12).

Από τους 100 ασθενείς με ΠΧΚ, 28 βρέθηκαν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα (28%; 95% CI, 19,2-36,8%), εκ των οποίων 19 ασθενείς είχαν χαμηλό τίτλο, 4 είχαν μέτριο τίτλο και 5 είχαν υψηλό τίτλο (μέσος τίτλος $148,5 \pm 67,4$ BI). Επίσης 28 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα (28%; 95% CI, 19,2-36,8%), εκ των οποίων 12 ασθενείς είχαν χαμηλό τίτλο, 9 είχαν μέτριο τίτλο και 7 ασθενείς είχαν υψηλό τίτλο (μέσος τίτλος $158,6 \pm 45,3$ BI). Συνολικά, τουλάχιστον ένας από τους δύο ισοτύπους των αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε θετικός σε 45 από του 100 ασθενείς με ΠΧΚ (45%; 95% CI, 35,2-54,8%) (Πίνακας 12).

Από τους 41 ασθενείς με ΠΣΧ, 8 βρέθηκαν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα (19,5%; 95% CI, 7,4-31,6%), εκ των οποίων 5 ασθενείς είχαν

χαμηλό τίτλο, 2 είχαν μέτριο τίτλο και ένας είχε υψηλό τίτλο (μέσος τίτλος $141,1 \pm 37,7$ BI). Επίσης 4 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα (9,8%; 95% CI, 0,9-18,1%), όλοι τους με χαμηλό τίτλο αντισωμάτων (μέσος τίτλος $131,5 \pm 14,1$ BI). Συνολικά, τουλάχιστον ένας από τους δύο ισότυπους των αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε θετικός σε 11 από του 41 ασθενείς με ΠΣΧ (26,8%; 95% CI, 13,2-40,4%) (Πίνακας 12).

Πίνακας 12: Συχνότητα των αντι-CL και των αντι-β₂-GPI αντισωμάτων στις διάφορες ομάδες ατόμων που μελετήθηκαν.

	IgG αντι-CL αντισώματα	IgM αντι-CL αντισώματα	IgG και/ή IgM αντι-CL αντισώματα	IgG αντι-β₂-GPI αντισώματα
ΑΙΗ (%)	23/59 (39)	14/59 (23.7)	30/59 (50.8)	2/59 (3.4)
ΠΧΚ (%)	28/100 (28)	28/100 (28)	45/100 (45)	2/100 (2)
ΠΣΧ (%)	8/41 (19.5)	4/41 (9.8)	11/41 (26.8)	1/41 (2.4)
HCV λοίμωξη (%)	45/228 (19.7)	48/228 (21.3)	77/228 (34.1)	7/228 (3.1)
HBV λοίμωξη (%)	7/50 (14)	6/50 (12)	13/50 (26)	1/50 (2)
Άλλες νόσοι του ήπατος # (%)	10/123 (8.1)	2/123 (1.6)	11/123 (9.8)	0/123 (0)
Υγιείς αιμοδότες (%)	3/267 (1.12)	3/267 (1.12)	6/267 (2.25)	0/267 (0)

ασθενείς με μη ιογενή μη αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος. Για την στατιστική σημαντικότητα βλέπε στο κείμενο.

Τέλος στις ομάδες ελέγχου, IgG αντι-CL αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε 45 ασθενείς με HCV λοίμωξη (19,7%; 95% CI, 14,5-25,2%), σε 7 ασθενείς με HBV λοίμωξη (14%; 95% CI, 4,4-23,6%) και σε 10 ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα (8,1%; 95% CI, 3,3-12,9%). IgM αντι-CL αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε 48 ασθενείς με HCV λοίμωξη (21,3%; 95% CI, 16-26,6%), 6 ασθενείς με

HBV λοίμωξη (12%; 95% CI, 3-21%) και 2 ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα (1,6%; 95% CI, 0,22-2,98%). Συνολικά τουλάχιστον ένας από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε θετικός σε 77 ασθενείς με HCV λοίμωξη (34,1%; 95% CI, 27,9-40,3%), 13 ασθενείς με HBV λοίμωξη (26%; 95% CI, 13,8-38,2%) και 11 ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα (9,8%; 95% CI, 4,6-15%) (Πίνακας 12). Επιπρόσθετα, μόνο σε 6 από τους 267 υγιείς αιμοδότες ανιχνεύθηκαν αντι-CL αντισώματα (2,25%; 95% CI, 0,5-4%) εκ των οποίων 3 ήταν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα και 3 θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα (1,12%; 95% CI, 0,13-2,37% για κάθε ισότυπο) (Πίνακας 12).

Συγκρίνοντας στατιστικά τα αποτελέσματα φαίνεται ότι τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος χαρακτηρίζονται από την παρουσία αντι-CL αντισωμάτων σε αυξημένη συχνότητα. Συγκεκριμένα, στην AH η συχνότητα των αντι-CL αντισωμάτων ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη συγκρίνοντάς την με αυτή της ομάδας των άλλων μη ιογενών μη αυτοάνοσων νοσημάτων του ήπατος ($p=0,000$ σε κάθε συσχέτισμό ανεξάρτητα από τον ισότυπο), με αυτή της ομάδας των υγιών αιμοδοτών ($p=0,000$ σε κάθε συσχέτισμό ανεξάρτητα από τον ισότυπο), με αυτήν της ομάδας των ασθενών με HBV λοίμωξη ($p=0,007$ για τον IgG ισότυπο των αντι-CL αντισωμάτων και $p=0,019$ για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους-IgG και/ή IgM), και με αυτήν της ομάδας των ασθενών με HCV λοίμωξη ($p=0,003$ για τον IgG ισότυπο των αντι-CL αντισωμάτων και $p=0,023$ για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους) (Πίνακας 12).

Στους ασθενείς με ΠΧΚ η συχνότητα των αντι-CL αντισωμάτων ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη συγκρίνοντάς την με αυτή της ομάδας των άλλων μη ιογενών μη αυτοάνοσων νοσημάτων του ήπατος ($p=0,000$ σε κάθε

συσχετισμό ανεξάρτητα από τον ισότυπο), με αυτή της ομάδας των υγιών αιμοδοτών ($p=0,000$ σε κάθε συσχετισμό ανεξάρτητα από τον ισότυπο), με αυτήν της ομάδας των ασθενών με HBV λοίμωξη ($p=0,048$ για τον IgG ισότυπο των αντι-CL αντισωμάτων, $p=0,022$ για τον IgM ισότυπο και $p=0,019$ για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισότυπους), και με αυτήν της ομάδας των ασθενών με HCV λοίμωξη ($p=0,054$) για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισότυπους) (Πίνακας 12).

Τέλος στην ΠΣΧ παρά το γεγονός ότι το ποσοστό ανίχνευσης των αντι-CL αντισωμάτων είναι μικρότερο από αυτό που ανιχνεύθηκε στους ασθενείς με ΑΗ και ΠΧΚ και παραπλήσιο του ποσοστού που ανιχνεύθηκε στους ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες, υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά όταν συγκρίνεται με την ομάδα των υγιών αιμοδοτών ($p=0,000$ για τον IgG ισότυπο των αντι-CL αντισωμάτων, $p=0,042$ για τον IgM ισότυπο και $p=0,000$ για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισότυπους) καθώς και με την ομάδα των ατόμων με άλλα ηπατικά νοσήματα ($p=0,079$ για τον IgG ισότυπο των αντι-CL αντισωμάτων, $p=0,035$ για τον IgM ισότυπο και $p=0,006$ για την παρουσία τουλάχιστον ενός από τους δύο ισότυπους) (Πίνακας 12).

Τέλος, αντι-β2-GPI αντισώματα ανιχνεύθηκαν μόνο σε 2 ασθενείς με ΑΗ (3,4%), 2 ασθενείς με ΠΧΚ (2%), 1 ασθενή με ΠΣΧ (2,4%), 7 ασθενείς με HCV λοίμωξη (3,1%) και 1 ασθενή με HBV λοίμωξη (2%). Κανένας ασθενής με άλλα ηπατικά νοσήματα ή από την ομάδα των υγιών αιμοδοτών δεν βρέθηκε θετικός για αντι-β2-GPI αντισώματα (Πίνακας 12).

5.2. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ

Πενήντα πέντε από τους 59 ασθενείς με ΑΗ είχαν θετικά ANA με την τεχνική του ΕΑΦ σε κύτταρα ΗΕρ2 (93,2%; 95% CI, 86,8-99,8%)(Πίνακας 13). Από αυτούς 20 είχαν λεπτό σπικτό φθορισμό, 20 ομοιογενή φθορισμό, 5 πυρηνισκικό, 5 λεπτό σπικτό και πυρηνισκικό, 3 αδρό σπικτό, 3 είχαν φθορισμό πυρηνικών κηλίδων, 1 ομοιογενή και φθορισμό πυρηνικών κηλίδων και 1 με αντικεντρομεριδιακό φθορισμό. Ο μέσος τίτλος των ANA ανεξαρτήτως τύπου ήταν 1:946 με εύρος 1:40 έως 1:5120. Σε τομές ήπατος-στομάχου-νεφρού θετικοί ήταν 18 ασθενείς (30,5%; 95% CI, 18,8-42,2%) με μέσο τίτλο 1:702 και εύρος 1:160 έως 1:5120. Όλοι αυτοί οι ασθενείς είχαν και θετικά ANA στα ΗΕρ2 κύτταρα.

Πίνακας 13: Συχνότητες ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ.

Αυτοαντίσωμα	Μέθοδος προσδιορισμού αντισωμάτων	Ασθενείς με ΑΗ (n = 59)	
		Θετικοί	Αρνητικοί
ANA	ΕΑΦ, Ηερ2 κύτταρα	55 (93,2%)	4 (6,8%)
SMA	ΕΑΦ, Ηερ2 κύτταρα	27 (45,8%)	32 (54,2%)
AMA	ΕΑΦ, Ηερ2 κύτταρα	6 (10,2%)	57 (89,8%)
ANA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	18 (30,5%)	41 (69,5%)
SMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	47 (79,7%)	12 (20,3%)
AMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	6 (10,2%)	57 (89,8%)
Αντι-LKM	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	2 (3,4%)	57 (96,6%)
PCA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	8 (13,6%)	51 (86,4%)
ANCA	ΕΑΦ, ουδετερόφιλα	43 (72,9 %)	16 (27,1%)
Αντι-CL IgG	ELISA	23 (39%)	36 (61%)
Αντι-CL IgM	ELISA	14 (23,7%)	45 (76,3%)
Αντι-dsDNA	ELISA	22 (37,3%)	37 (62,7%)

Σαράντα επτά από τους 59 ασθενείς είχαν θετικά SMA σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου (79,7%; 95% CI, 69,5-89,9%) με μέσο τίτλο 1:417 και εύρος 1:80 έως 1:2560. Αντίθετα σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων βρέθηκαν 27 ασθενείς θετικοί για SMA (45,8%; 95% CI, 33,1-58,5%) με μέσο τίτλο 1:321 και εύρος 1:40 έως 1:2560. Από αυτούς τους 27, οι 23 ήταν θετικοί και σε σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου, ενώ οι υπόλοιποι 4 ήταν αρνητικοί.

PCA ανιχνεύτηκαν σε 8 ασθενείς (13,6%; 95% CI, 4,9-22,3%), anti-LKM στους 2 ασθενείς με AH τύπου 2 (3,4%) και AMA στους 6 ασθενείς με σύνδρομο επικάλυψης AH/ΠΧΚ (10,2%).

ANCA ανιχνεύτηκαν σε 43 ασθενείς (72,9%; 95% CI, 61,6-84,2%). Συγκεκριμένα σε 25 ασθενείς ανιχνεύτηκαν p-ANCA (42,4%; 95% CI, 29,8-55%, μέσος τίτλος 1:298 και εύρος 1:20 έως 1:1280), c-ANCA ανιχνεύθηκαν σε 13 ασθενείς (22%; 95% CI, 10,4-32,6%, μέσος τίτλος 1:33 και εύρος 1:20 έως 1:80) ενώ 5 ασθενείς είχαν p- και c-ANCA (8,5%; 95% CI, 1,4-15,6%, μέσος τίτλος 1:26 και εύρος 1:20 έως 1:40. Τέσσερις ασθενείς με θετικά ANA στα HEp2 κύτταρα παρουσίαζαν επίσης και ομοιογενή φθορισμό του πυρήνα των ουδετεροφίλων (ANNA, anti-neutrophil-nuclear antibodies).

Τέλος, αντι-dsDNA αντισώματα ανιχνεύτηκαν σε 22 ασθενείς (37,3%; 95% CI, 25-49,6%) με τίτλο 167 ± 82 BI (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) και εύρος 108-439 BI.

5.3. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΧΚ

Εξήντα ένας από τους 100 ασθενείς με ΠΧΚ είχαν θετικά ANA με την τεχνική του ΕΑΦ σε κύτταρα HEp2 (61%; 95% CI, 51,4-70,6%) (Πίνακας 14).

Από αυτούς 27 είχαν λεπτό στικτό φθορισμό, 5 είχαν ομοιογενή, 6 πυρηνισκικό, 4 αδρό στικτό, 2 λεπτό στικτό και πυρηνισκικό, 9 φθορισμό πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων (MND), 7 αντικεντρομεριδιακό και ένας με ομοιογενή και φθορισμό MND. Ο μέσος τίτλος των ANA ανεξαρτήτως τύπου ήταν 1:683 με εύρος 1:40 έως 1:5120. Σε τομές ήπατος-στομάχου-νεφρού θετικοί ήταν 6 ασθενείς (6%; 95% CI, 2,2-9,8%) με μέσο τίτλο 1:267 και εύρος 1:160 έως 1:640. Οι 6 αυτοί ασθενείς είχαν και θετικά ANA στα HEp2 κύτταρα.

Τριάντα πέντε από τους 100 ασθενείς είχαν θετικά SMA σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου (35%; 95% CI, 25,7-44,3%) με μέσο τίτλο 1:128 και εύρος 1:80 έως 1:320. Αντίθετα σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων βρέθηκαν 9 ασθενείς θετικοί για SMA (9%; 95% CI, 3,4-14,6%) με μέσο τίτλο 1:180 και εύρος 1:40 έως 1:640. Από αυτούς τους 9, οι 2 ήταν θετικοί και σε σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου, ενώ οι υπόλοιποι 7 ήταν αρνητικοί.

Πίνακας 14: Συχνότητες ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΧΚ.

αυτοαντίσωμα	Μέθοδος προσδιορισμού αντισωμάτων	Ασθενείς με ΠΧΚ (n = 100)	
		Θετικοί	Αρνητικοί
ANA	ΕΑΦ, HEp2 κύτταρα	61 (61%)	39 (39%)
SMA	ΕΑΦ, HEp2 κύτταρα	9 (9%)	91 (91%)
AMA	ΕΑΦ, HEp2 κύτταρα	77 (77%)	23 (23%)
ANA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	6 (6%)	94 (94%)
SMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	35 (35%)	65 (65%)
AMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	93 (93%)	7 (%)
Αντι-LKM	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	0 (0%)	100 (100%)
PCA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	10 (10%)	90 (90%)
ANCA	ΕΑΦ, ουδετερόφιλα	59 (59%)	41 (41%)
Αντι-CL IgG	ELISA	28 (28%)	72 (72%)
Αντι-CL IgM	ELISA	28 (28%)	72 (72%)
Αντι-dsDNA	ELISA	24 (24%)	76 (76%)

AMA αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε 77 ασθενείς με ΠΧΚ χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα HEp2 κύτταρα (77%;95% CI, 68,8-85,2%) με μέσο τίτλο 1:852 και εύρος 1:80 έως 1:5120, ενώ ανιχνεύθηκαν σε 93 ασθενείς χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου (93%;95% CI, 88-98%) με μέσο τίτλο 1:660 και εύρος 1:40 έως 1:2560. Όλοι οι θετικοί οροί σε υπόστρωμα HEp2 κυττάρων ήταν επίσης θετικοί και σε υπόστρωμα τομών. PCA ανιχνεύτηκαν σε 10 ασθενείς (10%; 95% CI, 8,1-11,9%) με μέσο τίτλο 1:168 και εύρος 1:80 έως 1:2560.

ANCA ανιχνεύτηκαν σε 59 ασθενείς (59%; 95% CI, 50,4-68,6%). Συγκεκριμένα σε 21 ασθενείς ανιχνεύτηκαν p-ANCA (21%; 95% CI, 13-29%, μέσος τίτλος 1:68 και εύρος 1:20 έως 1:320), c-ANCA ανιχνεύθηκαν σε 33 ασθενείς (22%; 95% CI, 13,9-30,1%, μέσος τίτλος 1:42 και εύρος 1:20 έως 1:320) ενώ 5 ασθενείς είχαν p- και c-ANCA (5%; 95% CI, 0,7-9,3%, μέσος τίτλος 1:35 και εύρος 1:20 έως 1:40).

Τέλος, αντι-dsDNA αντισώματα ανιχνεύτηκαν σε 24 ασθενείς (24%; 95% CI, 15,7-32,3%) με τίτλο 144 ± 37 BI (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) και εύρος 101-254 BI.

5.4. Συχνότητα ανίχνευσης άλλων αντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΣΧ

Τριάντα από τους 41 ασθενείς με ΠΣΧ είχαν θετικά ANA με την τεχνική του ΕΑΦ σε κύτταρα HEp2 (73,2%; 95% CI, 59,6-86,8%)(Πίνακας 14). Από αυτούς 20 είχαν λεπτό σπικτό φθορισμό, 2 είχαν ομοιογενή, 5 πυρηνισκικό, 1 αδρό σπικτό και 2 λεπτό σπικτό και πυρηνισκικό. Ο μέσος τίτλος των ANA ανεξαρτήτου τύπου ήταν 1:184 με εύρος 1:80 έως 1:1280. Σε τομές ήπατος-

στομάχου-νεφρού θετικοί ήταν 2 ασθενείς (4,9%; 95% CI, 0-11,5%) με τίτλο 1:160. Οι δύο αυτοί ασθενείς είχαν και θετικά ANA στα HEP2 κύτταρα.

Τριάντα τέσσερις από τους 41 ασθενείς είχαν θετικά SMA σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου (82,9%; 95% CI, 71,4-94,4%) με μέσο τίτλο 1:141 και εύρος 1:80 έως 1:320. Αντίθετα σε υπόστρωμα HEP2 κυττάρων βρέθηκαν 14 ασθενείς θετικοί για SMA (34,1%; 95% CI, 19,6-48,6%) με μέσο τίτλο 1:96 και εύρος 1:80 έως 1:160. Από αυτούς τους 14, οι 12 ήταν θετικοί και σε υπόστρωμα ήπατος-νεφρού-στομάχου, ενώ οι υπόλοιποι 2 ήταν αρνητικοί.

Πίνακας 14: Συχνότητες ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΣΧ.

Αυτοαντίσωμα	Μέθοδος προσδιορισμού αντισωμάτων	Ασθενείς με ΠΣΧ (n = 41)	
		Θετικοί	Αρνητικοί
ANA	ΕΑΦ, HEP2 κύτταρα	30 (73,2%)	11 (26,8%)
SMA	ΕΑΦ, HEP2 κύτταρα	14 (34,1%)	27 (65,9%)
AMA	ΕΑΦ, HEP2 κύτταρα	1 (2,4%)	40 (97,6%)
ANA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	2 (4,9%)	39 (95,1%)
SMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	34 (82,9%)	7 (17,1%)
AMA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	1 (2,4%)	40 (97,6%)
Αντι-LKM	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	0 (0%)	41 (100%)
PCA	ΕΑΦ, τομές ήπατος-νεφρού-στομάχου ποντικού	3 (7,3%)	38 (92,7%)
ANCA	ΕΑΦ, ουδετερόφιλα	25 (61%)	16 (39%)
Αντι-CL IgG	ELISA	8 (19,5%)	33 (80,5%)
ANTI-CL IgM	ELISA	4 (9,8%)	37 (90,2%)
Αντι-dsDNA	ELISA	12 (29,3%)	29 (70,7%)

PCA ανιχνεύτηκαν σε 3 ασθενείς (7,3%; 95% CI, 0-15,3%) με μέσο τίτλο 1:67 και εύρος 1:40 έως 1:80, ενώ AMA ανιχνεύτηκαν σε ένα ασθενή (2,4%) τόσο σε υπόστρωμα HEP2 κυττάρων όσο και σε υπόστρωμα τομών ήπατος-νεφρού-στομάχου.

ANCA ανιχνεύτηκαν σε 25 ασθενείς (61%; 95% CI, 46,1-75,9%).

Συγκεκριμένα σε 10 ασθενείς ανιχνεύτηκαν p-ANCA (24,4%; 95% CI, 11,3-

37,5%, μέσος τίτλος 1:284 και εύρος 1:40 έως 1:1280), ενώ c-ANCA ανιχνεύθηκαν σε 15 ασθενείς (39%; 95% CI, 24,1-53,9%, μέσος τίτλος 1:39 και εύρος 1:20 έως 1:160).

Τέλος, αντι-dsDNA αντισώματα ανιχνεύθηκαν σε 12 ασθενείς (29,3%; 95% CI, 15,4-43,2%) με τίτλο 138 ± 30 BI (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) και εύρος 105-192 BI.

5.5. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΩΝ αντι-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ

5.5.1. ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ

α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά.

Από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισότυπους (IgG και/ή IgM) των αντι-CL αντισωμάτων, δεν συσχετιζονταν με την ηλικία, το φύλο, το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ, την διάρκεια της νόσου, ούτε με τη λήψη ή όχι ανοσοκατασταλτικής αγωγής (Πίνακας 15). Επίσης δεν βρέθηκε συσχετισμός ούτε με το ιστορικό αναφερόμενων θρομβωτικών γεγονότων ή μαιευτικών επιπλοκών κατά το παρελθόν, ούτε με την παρουσία συνυπάρχουσας άλλης αυτοάνοσης διαταραχής (Πίνακας 15). Αντίθετα η θετικότητα για IgG ή για τουλάχιστον ένα ισότυπο αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να σχετίζεται με την παρουσία κίρρωσης ($p=0,019$ και $p<0,10$ αντίστοιχα) και με την ύπαρξη κλινικής ενεργότητας της νόσου ($p=0,03$ και $p=0,004$ αντίστοιχα) (Πίνακας 15).

Πίνακας 15: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ.

Ασθενείς με ΑΗ (n=59)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=23)	Anti-CL αρνητικά (n=36)	Anti-CL θετικά (n=14)	Anti-CL αρνητικά (n=45)	Anti-CL θετικά (n=30)	Anti-CL αρνητικά (n=29)
Ηλικία (έτη)	53.1±18.8	56.3±17.9	58.3±17.3	54±18.5	54.8±18.5	55.3±18.1
Φύλο (Α/Γ)	5/18	7/29	3/11	9/36	6/24	6/23
Διάρκεια νόσου (μήνες)	31.5±50.9	47.7±59	21.9±36.4	47.5±60	33.6±48.9	49.5±62.5
Χρήση αλκοόλ (ναι/όχι)	3/20	8/28	4/10	7/38	6/24	5/24
Άλλη αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	6/17	14/22	5/9	15/30	8/22	12/17
Θρομβώσεις ή αποβολές (ναι/όχι)	1/22	3/33	1/13	3/42	2/28	2/27
Κίρρωση (ναι/όχι)	15/8 [§]	11/25 [§]	8/6	18/27	17/13 ^{§§}	9/20 ^{§§}
Ενεργότητα νόσου [#] (ναι/όχι)	13/10*	9/27*	7/7	15/30	17/13**	5/24**
Ανοσοκαταστολή (ναι/όχι)	2/21	9/27	3/11	8/37	4/26	7/22

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση; n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; Α=άνδρες, Γ=γυναίκες; [#]Παρουσία ενός ή παραπάνω από τα παρακάτω γενικά συμπτώματα: αίσθημα αδυναμίας και εύκολης κόπωσης, αρθραλγίες, ναυτία, ανορεξία, ίκτερος, απώλεια βάρους συνοδευόμενα ή όχι από αυξημένες τιμές αμινοτρανσφερασών [§]p=0.019 ^{§§}p<0.10; *p=0.03; **p=0.004 (χ² test).

β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο

Από την στατιστική επεξεργασία δεν διαπιστώθηκε κανένας συσχετισμός μεταξύ της παρουσίας αντι-CL αντισωμάτων (κανενός από τους δύο

ισοτύπους) και της παρουσίας δεικτών παρελθούσας λοίμωξης από ιούς ηπατίτιδας A, B και C (Πίνακας 16).

Πίνακας 16: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με επιμέρους χαρακτηριστικά του ιολογικού προφίλ των ασθενών με ΑΗ.

Ασθενείς με ΑΗ (n=59)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=23)	Anti-CL αρνητικά (n=36)	Anti-CL θετικά (n=14)	Anti-CL αρνητικά (n=45)	Anti-CL θετικά (n=30)	Anti-CL αρνητικά (n=29)
HBsAg (θετικό/αρνητικό)	1/22	1/35	0/14	2/43	1/29	1/28
Anti-HBs (θετικό/αρνητικό)	9/14	17/19	6/8	20/25	11/19	15/14
Anti-HBc (θετικό/αρνητικό)	12/11	20/16	9/5	23/22	15/15	17/12
HBeAg (θετικό/αρνητικό)	0/23	0/36	0/14	0/45	0/30	0/29
Anti-HBe (θετικό/αρνητικό)	3/20	7/29	2/12	8/39	4/26	6/23
Anti-HCV (θετικό/αρνητικό)	1/22	0/36	0/14	1/44	1/29	0/29
Anti-HAV IgG (θετικό/αρνητικό) (n=50)	(n=19) 14/5	(n=31) 25/6	(n=14) 11/3	(n=36) 28/8	(n=26) 20/6	(n=24) 19/5
Anti-HAV IgM (θετικό/αρνητικό) (n=42)	(n=16) 0/16	(n=26) 0/26	(n=12) 0/12	(n=30) 0/30	(n=21) 0/21	(n=21) 0/21

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν.

γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά τόσο με τον απόλυτο αριθμό των αιμοπεταλίων όσο και με την ύπαρξη ή όχι

θρομβοκυτταροπενίας (Πίνακας 17α). Επίσης δεν βρέθηκε συσχέτιση με τις τιμές της γ -GT, της άμεσου χολερυθρίνης, της ανοσοσφαιρίνης A και των ολικών πρωτεϊνών (Πίνακες 17α και β).

Πίνακας 17α: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ.

Ασθενείς με ΑΗ (n=59)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=23)	Anti-CL αρνητικά (n=36)	Anti-CL θετικά (n=14)	Anti-CL αρνητικά (n=45)	Anti-CL θετικά (n=30)	Anti-CL αρνητικά (n=29)
AST (U/L)	313.8 ± 669 [#]	94.4 ± 261.9 [#]	223.9 ± 558.8	166.3 ± 449.3	253.7 ± 593.7	103.7 ± 291.7
ALT (U/L)	265.7 ± 524 ^{###}	102.3 ± 222 ^{###}	239.7 ± 558.5	143.6 ± 301	220.1 ± 464.3	110.8 ± 247.1
γ -GT (U/L)	146.6 ± 141	90.8 ± 134	165.2 ± 168.3	96.1 ± 125	141 ± 139.6	83.1 ± 132.6
ALP (U/L)	190.7 ± 91.8 ^{###}	129 ± 4.3 ^{###}	179.1 ± 106	144.9 ± 86.4	189.1 ± 102.2 [*]	115.7 ± 61.4 [*]
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	2.97 ± 3.78 [*]	0.85 ± 0.55 [*]	2.77 ± 3.58 [*]	1.34 ± 2.15 [*]	2.46 ± 3.43 ^{**}	0.86 ± 0.59 ^{**}
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	1.32 ± 1.27 ^{**}	0.63 ± 0.34 ^{**}	1.60 ± 1.48 [*]	0.71 ± 0.51 ^{**}	1.19 ± 1.16 ^{***}	0.62 ± 0.35 ^{***}
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	1.64 ± 2.89	1.51 ± 7.51	1.36 ± 2.22	1.63 ± 6.80	1.34 ± 2.63	1.80 ± 8.28
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³)	177.6 ± 93.9	203.2 ± 65.6	168.7 ± 578.3	200.8 ± 82.9	178.2 ± 879.7	208.9 ± 64.3
Θρομβοπενία ⁺ (όχι/ναι)	15/8	28/8	10/4	33/12	20/10	23/6

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν, ⁺ τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 / μ l. [#]p=0.002 (Mann-Whitney U test), ^{##}p=0.020 (Mann-Whitney U test), ^{###}p=0.010 (t-test), ^{*}p=0.003 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.030 (Mann-Whitney U test), ^{*}p=0.062 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.006 (Mann-Whitney U test), ^{*}p=0.002 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.013 (Mann-Whitney U test), ^{***}p=0.029 (Mann-Whitney U test).

Αντίθετα, η παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν στατιστικώς σημαντικά με τις αυξημένες τιμές της AST ($p=0,002$), της ALT ($p=0,02$), της ALP ($p=0,01$), της ολικής χολερυθρίνης ($p=0,003$), της εμμέσου χολερυθρίνης ($p=0,03$), και της ανοσοσφαιρίνης G ($p=0,021$), ενώ υπήρχε και μια τάση συσχετισμού με τις τιμές της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0,072$) (Πίνακες 17α και β). Η παρουσία των IgM αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με τις τιμές της εμμέσου χολερυθρίνης ($p=0,006$), της αλβουμίνης ($p=0,043$) και της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0,016$), ενώ υπήρχε μια τάση συσχετισμού με την τιμή της ολικής χολερυθρίνης ($p=0,062$) (Πίνακες 17α και β). Τέλος η θετικότητα τουλάχιστον ενός εκ των δύο ισοτύπων (IgG και/ή IgM), συσχετίζονταν στατιστικώς με τις αυξημένες τιμές της ALP ($p=0,002$), της ολικής χολερυθρίνης ($p=0,013$), της εμμέσου χολερυθρίνης ($p=0,029$) και της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0,003$), ενώ υπήρχε μια θετική τάση συσχέτισης με την τιμή της ανοσοσφαιρίνης G ($p=0,052$) καθώς και αρνητική τάση συσχετισμού με τις τιμές της γ-σφαιρίνης ($p=0,066$) (Πίνακες 17α και β).

δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα.

Η θετικότητα των αντι-CL αντισωμάτων και των δυο ισοτύπων δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά με την παρουσία ή απουσία αλλά ούτε και με τον μέσο τίτλο των άλλων αυτοαντισωμάτων που προσδιορίστηκαν (Πίνακας 18).

Πίνακας 17β: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ.

Ασθενείς με ΑΗ (n=59)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=23)	Anti-CL αρνητικά (n=36)	Anti-CL θετικά (n=14)	Anti-CL αρνητικά (n=45)	Anti-CL θετικά (n=30)	Anti-CL αρνητικά (n=29)
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL)	7.97 ± 1.07	7.94 ± 0.99	7.96 ± 1.23	7.95 ± 0.95	8.05 ± 1.04	7.85 ± 0.99
Αλβουμίνη (g/dL)	4.06 ± 0.96	4.33 ± 0.81	3.81 ± 0.50*	4.35 ± 0.93*	4.06 ± 0.86	4.39 ± 0.87
γ-σφαιρίνες (g/dL)	3.91 ± 1.1	3.62 ± 1.12	4.14 ± 1.03	3.6 ± 1.1	4 ± 1.08*	3.46 ± 1.10*
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	(n=20) 2479 ± 1118 [#]	(n=32) 1860 ± 751 [#]	(n=13) 1985 ± 631	(n=39) 2136 ± 1038	(n=27) 2344 ± 1017 ^{**}	(n=25) 1833 ± 808 ^{**}
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	(n=20) 281 ± 201 ^{##}	(n=32) 179 ± 117 ^{##}	(n=13) 308 ± 178 ^{**}	(n=39) 186 ± 143 ^{**}	(n=27) 283 ± 184 ^{***}	(n=25) 148 ± 92 ^{***}
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	(n=20) 401 ± 244	(n=32) 360 ± 366	(n=13) 316 ± 121	(n=39) 397 ± 365	(n=27) 385 ± 220	(n=25) 366 ± 412

[#]p=0.021 (t-test), ^{##}p=0.072 (Mann-Whitney U test), *p=0.043 (t-test), **p=0.016 (t-test), [·]p=0.066 (t-test), [·]p=0.052 (t-test), ^{***}p=0.003 (Mann-Whitney U test).

Πίνακας 18: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα των ασθενών με ΑΗ.

Ασθενείς με ΑΗ (n=59)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=23)	Anti-CL αρνητικά (n=36)	Anti-CL θετικά (n=14)	Anti-CL αρνητικά (n=45)	Anti-CL θετικά (n=30)	Anti-CL αρνητικά (n=29)
ANA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	21/2	34/2	12/2	43/2	27/3	28/1
ANA (HEp2 κύτταρα) τίτλος	374 ± 13	310 ± 342	297 ± 45	355 ± 41	367 ± 56	320 ± 77
SMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	10/13	17/19	9/5	18/27	15/15	12/17
SMA (HEp2 κύτταρα) τίτλος	52 ± 74	61 ± 75	68 ± 62	54 ± 77	56 ± 69	59 ± 79
AMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	5/18	1/35	2/12	4/41	5/25	1/28
ANA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	5/18	13/23	5/9	13/32	9/21	9/20
ANA (τομές ιστών) τίτλος	125 ± 90	138 ± 64	114 ± 22	140 ± 86	133 ± 74	133 ± 75
SMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	18/5	29/7	10/4	37/8	23/7	24/5
SMA (τομές ιστών) τίτλος	214 ± 56	156 ± 43	171 ± 79	178 ± 41	213 ± 66	149 ± 26
AMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	4/19	2/34	2/12	4/41	5/25	1/28
LKM (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	1/22	1/35	1/13	1/44	1/29	1/28
PCA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	1/22	7/29	2/12	6/39	2/28	6/23
SLA/LP (θετικά/αρνητικά)	1/22	4/32	2/12	3/42	3/27	2/27
p-ANCA (θετικά/αρνητικά)	13/10	17/19	8/6	22/23	17/13	13/16
c-ANCA (θετικά/αρνητικά)	6/17	12/24	5/9	13/32	8/22	10/19
Anti-dsDNA (θετικά/αρνητικά)	10/13	12/24	4/10	18/27	13/17	9/20
Anti-dsDNA (τίτλος)	118 ± 110	104 ± 80	79 ± 45	119 ± 101	116 ± 98	103 ± 88

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση

5.5.2. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)

α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά.

Από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους (IgG και/ή IgM) των αντι-CL αντισωμάτων, δεν συσχετίζονταν με την διάρκεια της νόσου, ούτε με το ιστορικό αναφερόμενων θρομβωτικών γεγονότων ή μαιευτικών επιπλοκών κατά το παρελθόν, ούτε με την παρουσία συνυπάρχουσας άλλης αυτοάνοσης διαταραχής (Πίνακας 19). Αντίθετα η θετικότητα για IgG ή για τουλάχιστον ένα ισότυπο αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να συσχετίζεται με τη μεγαλύτερη ηλικία των ασθενών ($p=0.002$ και $p=0.005$ αντίστοιχα) καθώς και με την παρουσία κίρρωσης ($p=0.001$ και $p=0.003$ αντίστοιχα) (Πίνακας 19). Τέλος βρέθηκε μια μικρή τάση αρνητικής συσχέτισης των IgM αντι-CL αντισωμάτων με το ανδρικό φύλο ($p=0.093$) και με το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ ($p=0.090$) (Πίνακας 19).

β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο

Από την στατιστική επεξεργασία δεν διαπιστώθηκε καμμία συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντι-CL αντισωμάτων (κανενός από τους δύο ισοτύπους) και της παρουσίας δεικτών παρελθούσας λοίμωξης από ιούς ηπατίτιδας A, B και C. (Πίνακας 20).

Πίνακας 19: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ.

Ασθενείς με ΠΧΚ (n=100)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=46)	Anti-CL αρνητικά (n=54)
Ηλικία (έτη)	63.4 ± 14 [#]	54.5 ± 12 [#]	58.8 ± 11.4	56.3 ± 13.7	60.9 ± 12.6 [†]	53.7 ± 12.7 [†]
Φύλο (Α/Γ)	7/21	8/64	2/26*	13/59*	8/38	7/47
Διάρκεια νόσου (μήνες)	31.2 ± 44	29.3 ± 42.3	28.4 ± 43.8	30.5 ± 42.4	30 ± 42	29.6 ± 43.5
Χρήση αλκοόλ (ναι/όχι)	6/22	12/60	2/26**	16/56**	19/27	24/30
Άλλη αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	10/18	35/37	11/17	34/38	18/28	27/27
Θρομβώσεις ή αποβολές (ναι/όχι)	1/27	2/70	1/27	2/70	2/44	1/53
Κίρρωση (ναι/όχι)	12/16 ^{###}	8/64 ^{###}	7/21	13/59	15/31 ^{**}	5/49 ^{**}

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση; n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; Α=άνδρες, Γ=γυναίκες; [#]p=0.002 (χ² test), ^{###}p=0.001 (χ² test), *p=0.093 (χ² test), **p=0.090 (Fisher's exact test), [†]p=0.005 (χ² test), ^{**}p=0.003 (χ² test).

Πίνακας 20: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με επιμέρους χαρακτηριστικά του ιολογικού προφίλ των ασθενών με ΠΧΚ.

Ασθενείς με ΠΧΚ (n=100)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=46)	Anti-CL αρνητικά (n=54)
HBsAg (θετικό/αρνητικό) (n=90)	2/20	2/66	0/23	4/63	2/36	2/50
Anti-HBs (θετικό/αρνητικό) (n=88)	5/17	18/48	8/14	15/51	12/25	11/40
Anti-HBc (θετικό/αρνητικό) (n=88)	9/13	25/41	7/14	27/40	15/22	19/32
HBeAg (θετικό/αρνητικό) (n=84)	1/19	0/64	0/21	1/62	1/34	0/49
Anti-HBe (θετικό/αρνητικό) (n=84)	2/18	10/54	2/19	10/53	4/31	8/41
Anti-HCV (θετικό/αρνητικό) (n=91)	1/22	1/67	0/23	2/66	1/38	1/51
Anti-HAV IgG (θετικό/αρνητικό) (n=71)	10/5	44/12	11/3	43/14	19/7	35/10

γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΧΚ, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με τις τιμές της ALT, της AST, της ALP, της ανοσοσφαιρίνης G και των ολικών πρωτεϊνών (Πίνακες 21α και β).

Πίνακας 21α: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ.

Ασθενείς με ΠΧΚ (n=100)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=46)	Anti-CL αρνητικά (n=54)
AST (U/L)	44.3 ± 23.4	46.7 ± 35.8	46.5 ± 25.7	45.8 ± 35.2	46.9 ± 25.8	45.3 ± 37.9
ALT (U/L)	48.3 ± 57.6	55.1 ± 49.2	57.9 ± 60.2	51.4 ± 48	48.8 ± 48.8	57 ± 53.8
γ-GT (U/L)	119.4 ± 138.9	120.1 ± 106.9	154.1 ± 115.3*	106.8 ± 114.2*	130.6 ± 124.5	110.8 ± 108.4
ALP (U/L)	384.4 ± 255.9	367.8 ± 224.8	393.4 ± 209.8	364.3 ± 242	391.8 ± 242.1	355.9 ± 225.5
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.79 ± 2.12 [#]	0.89 ± 0.91 [#]	1.42 ± 2.1	1.04 ± 1.05	1.47 ± 1.76 [~]	0.87 ± 0.94 [~]
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=26) 1.13 ± 1.1 ^{##}	(n=67) 0.61 ± 0.51 ^{###}	(n=25) 0.87 ± 0.88	(n=68) 0.72 ± 0.71	(n=43) 0.96 ± 0.92 [~]	(n=50) 0.59 ± 0.52 [~]
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=26) 0.78 ± 1.3 ^{###}	(n=67) 0.25 ± 0.43 ^{###}	(n=25) 0.65 ± 1.36 ^{**}	(n=68) 0.32 ± 0.47 ^{**}	(n=43) 0.59 ± 1.07 ^{***}	(n=50) 0.24 ± 0.45 ^{***}
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³)	206.6 ± 70.3 ^x	247.4 ± 77.5 ^x	252.5 ± 85.1	230.3 ± 74.1	232.1 ± 84.1	239.9 ± 71.9
Θρομβοπενία ⁺ (όχι/ναι)	22/6 ^{**}	69/3 ^{**}	26/2	65/7	40/6	51/3

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; ⁺ τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 /μλ. [#]p=0.002 (Mann-Whitney U test), ^{##}p=0.029 (Mann-Whitney U test), ^{###}p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^xp=0.021 (t-test), ^{**}p=0.012 (Fisher's exact test), ^{*}p=0.071 (t-test), ^{**}p=0.089 (Mann-Whitney U test), [~]p=0.002 (Mann-Whitney U test), [~]p=0.014 (Mann-Whitney U test), ^{***}p=0.000 (Mann-Whitney U test).

Αντίθετα, η παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν στατιστικώς σημαντικά με τις αυξημένες τιμές της ολικής ($p=0.002$), της εμμέσου ($p=0.029$), της αμέσου χολερυθρίνης ($p=0.000$), και της ανοσοσφαιρίνης A ($p=0.034$), καθώς και με μειωμένες τιμές αλβουμίνης ($p=0.000$) (Πίνακες 21α και β). Επίσης βρέθηκε θετική συσχέτιση τόσο με μειωμένες τιμές αιμοπεταλίων ($p=0.021$) όσο και με την ύπαρξη θρομβοκυτταροπενίας ($p=0.012$) (Πίνακας 21 α).

Πίνακας 21β: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ.

Ασθενείς με ΠΧΚ (n=100)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=46)	Anti-CL αρνητικά (n=54)
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL)	(n=25) 7.55 ± 0.94	(n=68) 7.7 ± 0.76	(n=24) 7.8 ± 0.94	(n=69) 7.6 ± 0.76	(n=41) 7.72 ± 0.97	(n=52) 7.63 ± 0.67
Αλβουμίνη (g/dL)	(n=25) 3.93 ± 1.03 [#]	(n=68) 4.41 ± 0.57 [#]	(n=24) 3.9 ± 0.75 *	(n=69) 4.4 ± 0.71 *	(n=41) 3.97 ± 0.91 [†]	(n=52) 4.53 ± 0.48 [†]
γ-σφαιρίνες (g/dL)	(n=25) 3.6 ± 0.93	(n=68) 3.3 ± 0.9	(n=24) 3.85 ± 0.89 **	(n=69) 3.25 ± 0.87 **	(n=41) 3.73 ± 0.92 ^{††}	(n=52) 3.16 ± 0.83 ^{††}
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	(n=24) 1751 ± 632	(n=66) 1464 ± 857	(n=25) 1653 ± 625	(n=65) 1498 ± 872	(n=40) 1693 ± 626	(n=50) 1420 ± 921
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	(n=24) 428 ± 790	(n=66) 240 ± 184	(n=25) 390 ± 186	(n=65) 252 ± 501	(n=40) 420 ± 620 ^{†††}	(n=50) 187 ± 143 ^{†††}
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	(n=24) 403 ± 318 ^{###}	(n=66) 282 ± 200 ^{###}	(n=25) 289 ± 160	(n=65) 324 ± 267	(n=40) 360 ± 272	(n=50) 278 ± 210
Mayo Risk Score	5.7 ± 1.97 ^{###}	4.2 ± 1.3 ^{###}	4.88 ± 1.76	4.52 ± 1.56	5.31 ± 1.86 ^{###}	4.05 ± 1.11 ^{###}

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; [#]p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{##}p=0.034 (t-test), ^{###}p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{*}p=0.004 (t-test), ^{**}p=0.005 (t-test), [†]p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{††}p=0.002 (t-test), ^{†††}p=0.011 (t-test), ^{####}p=0.000 (Mann-Whitney U test).

Η παρουσία των IgM αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την αυξημένη τιμή γ-σφαιρίνης ($p=0.005$) και την μειωμένη τιμή

αλβουμίνης ($p=0.004$) ενώ υπήρχε τάση συσχέτισης με τα αυξημένα επίπεδα της γ -GT ($p=0.071$) και της αμέσου χολερουθρίνης ($p=0.089$) (Πίνακες 21α και β). Τέλος η θετικότητα τουλάχιστον ενός εκ των δύο ισοτύπων (IgG και/ή IgM), συσχετιζόνταν στατιστικώς με τις αυξημένες τιμές της ολικής ($p=0.002$), της εμμέσου ($p=0.014$), της αμέσου χολερουθρίνης ($p=0.000$) και των γ -σφαιρινών ($p=0.002$) καθώς και με μειωμένες τιμές αλβουμίνης ($p=0.000$) (Πίνακες 21α και β). Τέλος η παρουσία των IgG ή τουλάχιστον ενός ισοτύπου αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με την αυξημένη τιμή του προγνωστικού δείκτη επιβίωσης Mayo Score ($p=0.000$ και στις δύο περιπτώσεις) (Πίνακας 21 β).

δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα.

Η θετικότητα των αντι-CL αντισωμάτων και των δυο ισοτύπων δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά με την παρουσία ή απουσία αλλά ούτε και με τον μέσο τίτλο των άλλων αυτοαντισωμάτων που προσδιορίστηκαν (Πίνακας 22).

5.5.3. ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΛΑΓΕΙΠΙΤΙΔΑ (ΠΣΧ)

α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά.

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά με την ηλικία, το φύλο, το ιστορικό της χρήσης αλκοόλ, την ύπαρξη ή όχι άλλης αυτοάνοσης διαταραχής, το ιστορικό θρομβώσεων ή αποβολών και την παρουσία ή όχι

Πίνακας 22: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα των ασθενών με ΠΧΚ.

Ασθενείς με ΠΧΚ (n=100)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=28)	Anti-CL αρνητικά (n=72)	Anti-CL θετικά (n=46)	Anti-CL αρνητικά (n=54)
ANA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	16/12	45/27	17/11	44/28	27/19	34/20
ANA (HEp2 κύτταρα) τίτλος	171 ± 117	160 ± 96	211 ± 127	152 ± 91	176 ± 114	155 ± 92
SMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	1/27	8/64	1/27	8/64	2/44	7/47
AMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	22/6	55/17	24/4	53/19	38/8	39/15
AMA (HEp2 κύτταρα) τίτλος	1154 ± 1511	735 ± 1041	1080 ± 1284	764 ± 1161	1033 ± 1248	698 ± 1144
ANA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	2/26	4/68	1/27	5/67	2/44	4/50
SMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	9/19	26/46	9/19	26/46	14/32	21/33
SMA (τομές ιστών) τίτλος	46 ± 76	40 ± 61	42 ± 70	41 ± 64	45 ± 76	38 ± 55
AMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	25/3	68/4	24/4	69/3	42/4	51/3
AMA (τομές ιστών) τίτλος	829 ± 668	597 ± 727	860 ± 780	596 ± 682	779 ± 670	569 ± 743
PCA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	1/27	9/63	4/24	6/66	5/41	5/49
p-ANCA (θετικά/αρνητικά)	13/15	13/59	10/18	16/56	18/28	8/48
c-ANCA (θετικά/αρνητικά)	12/16	26/46	8/20	30/42	17/29	21/33
Anti-dsDNA (θετικά/αρνητικά)	8/20	16/56	9/19	15/57	13/33	11/43
Anti-dsDNA τίτλος	95 ± 55	82 ± 40	83 ± 43	87 ± 45	90 ± 49	82 ± 41

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν.

κίρρωσης (Πίνακας 23). Επίσης δεν βρέθηκε συσχέτιση της διάρκειας της νόσου με την παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων, ενώ βρέθηκε μια μικρή

τάση συσχέτισμού με την θετικότητα των IgM αντι-CL αντισωμάτων ($p=0.072$) (Πίνακας 23).

Πίνακας 23: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ.

Ασθενείς με ΠΣΧ (n=41)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=8)	Anti-CL αρνητικά (n=33)	Anti-CL θετικά (n=4)	Anti-CL αρνητικά (n=37)	Anti-CL θετικά (n=11)	Anti-CL αρνητικά (n=30)
Ηλικία (έτη)	42.1 ± 9.1	42 ± 12.4	39.5 ± 8.4	42.3 ± 12.1	41.7 ± 8.8	42.1 ± 12.3
Φύλο (Α/Γ)	3/5	20/13	1/3	22/15	4/7	19/11
Διάρκεια νόσου (μήνες)	72.5 ± 60.2	30.3 ± 56.4	46,3 ± 67.4 [#]	37.9 ± 58.9 [#]	56.5 ± 58.1	32 ± 58.8
Χρήση αλκοόλ (ναι/όχι)	1/7	5/28	1/3	5/32	1/10	5/25
Άλλη αυτοάνοση διαταραχή (ναι/όχι)	4/4	11/22	1/3	14/23	5/6	10/20
Θρομβώσεις ή αποβολές (ναι/όχι)	1/7	1/32	1/3	1/36	2/9	0/30
Κίρρωση (ναι/όχι)	2/6	3/30	1/3	4/33	2/9	3/27

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν, Α=άνδρες, Γ=γυναίκες; [#] $p=0.072$ (t-test).

β. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τον ιολογικό έλεγχο

Από την στατιστική επεξεργασία δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντι-CL αντισωμάτων (κανενός από τους δύο

ισοτύπους) και της παρουσίας δεικτών παρελθούσας λοίμωξης από τους ιούς ηπατίτιδας A, B και C (Πίνακας 24).

Πίνακας 24: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με επιμέρους χαρακτηριστικά του ιολογικού προφίλ των ασθενών με ΠΣΧ.

Ασθενείς με ΠΣΧ (n=41)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=8)	Anti-CL αρνητικά (n=33)	Anti-CL θετικά (n=4)	Anti-CL αρνητικά (n=37)	Anti-CL θετικά (n=11)	Anti-CL αρνητικά (n=30)
HBsAg (θετικό/αρνητικό) (n=39)	1/7	2/29	0/4	3/32	1/10	2/26
Anti-HBs (θετικό/αρνητικό) (n=37)	2/5	7/23	2/2	7/26	3/7	6/21
Anti-HBc (θετικό/αρνητικό) (n=37)	1/6	5/25	0/4	6/27	1/9	5/22
HBeAg (θετικό/αρνητικό) (n=36)	0/7	0/29	0/3	0/33	0/9	0/27
Anti-HBe (θετικό/αρνητικό) (n=36)	1/6	2/27	0/3	3/30	1/8	2/25
Anti-HCV (θετικό/αρνητικό) (n=41)	0/8	0/31	0/4	0/37	0/11	0/27
Anti-HAV IgG (θετικό/αρνητικό) (n=34)	3/5	12/14	1/3	14/16	3/7	12/12

n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν.

γ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ΠΣΧ, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με τις τιμές της γ-GT, της ολικής, της εμμέσου και της άμεσης χολερυθρίνης, της αλβουμίνης και της ανοσοσφαιρίνης A. Επίσης δεν

βρέθηκε συσχέτιση τόσο με τον απόλυτο αριθμό των αιμοπεταλίων όσο και με την ύπαρξη ή όχι θρομβοκυτταροπενίας (Πίνακες 25α και β).

Πίνακας 25α: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ.

Ασθενείς με ΠΣΧ (n=41)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=8)	Anti-CL αρνητικά (n=33)	Anti-CL θετικά (n=4)	Anti-CL αρνητικά (n=37)	Anti-CL θετικά (n=11)	Anti-CL αρνητικά (n=30)
AST (U/L)	49.9 ± 41.7	50.3 ± 50.9	92 ± 60*	45.5 ± 45.9*	58.7 ± 49	46.9 ± 49
ALT (U/L)	61 ± 51.9	77.4 ± 89	148.5 ± 101.9**	65.9 ± 78.6**	86.8 ± 85.3	69.3 ± 83.3
γ-GT (U/L)	170.6 ± 144.6	181.5 ± 307.6	181.2 ± 184.4	179.1 ± 291.7	149.5 ± 129.9	190.7 ± 321.7
ALP (U/L)	667.9 ± 591.6 [#]	286.3 ± 192.6 [#]	853.8 ± 862.5	308 ± 187.3	615.1 ± 551 [†]	266.8 ± 137.4 [†]
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.14 ± 0.48	1.22 ± 1.7	1.16 ± 0.64	1.21 ± 1.57	1.11 ± 0.5	1.24 ± 1.7
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=7) 0.82 ± 0.34	(n=28) 0.69 ± 0.5	(n=4) 0.63 ± 0.30	(n=31) 0.72 ± 0.46	(n=10) 0.72 ± 0.3	(n=25) 0.71 ± 0.5
Άμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=7) 0.31 ± 0.19	(n=28) 0.32 ± 0.5	(n=4) 0.56 ± 0.49	(n=31) 0.28 ± 0.44	(n=10) 0.39 ± 0.3	(n=25) 0.28 ± 0.5
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³)	258.1 ± 46.2	253.9 ± 97.7	220.8 ± 26.1	258.5 ± 93.1	247.3 ± 45.1	257.6 ± 101.7
Θρομβοκυτταροπενία [†] (όχι/ναι)	8/0	32/1	4/0	36/1	11/0	29/1

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν, [†] τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 /μλ. [#]p=0.006 (Mann-Whitney U test), * p=0.067 (t-test), **p=0.059 (t-test), [†]p=0.022 (Mann-Whitney U test).

Αντίθετα, η παρουσία των IgG αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν στατιστικώς σημαντικά με αυξημένες τιμές της ALP (p=0.006) (Πίνακας 25α), ενώ η παρουσία των IgM αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με αυξημένες τιμές των ολικών πρωτεϊνών (p=0.043), των γ-

σφαιρινών ($p=0.016$) και της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0.021$), ενώ υπήρχε τάση συσχέτισης με τα αυξημένα επίπεδα AST ($p=0.067$), ALT ($p=0.059$) και της ανοσοσφαιρίνης G ($p=0.092$) (Πίνακες 25 α και β). Τέλος η θετικότητα τουλάχιστον ενός εκ των δύο ισοτύπων (IgG και/ή IgM), συσχετιζόνταν στατιστικώς με αυξημένες τιμές ALP ($p=0.022$), ενώ υπήρχε τάση συσχετισμού με τα αυξημένα επίπεδα των γ-σφαιρινών ($p=0.073$) (Πίνακες 25α και β).

Πίνακας 25β: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CLαντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ.

Ασθενείς με ΠΣΧ (n=41)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=8)	Anti-CL αρνητικά (n=33)	Anti-CL θετικά (n=4)	Anti-CL αρνητικά (n=37)	Anti-CL θετικά (n=11)	Anti-CL αρνητικά (n=30)
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL)	7.76 ± 0.71	7.69 ± 0.69	8.36 ± 0.65*	7.63 ± 0.67*	7.86 ± 0.67	7.64 ± 0.70
Αλβουμίνη (g/dL)	4.35 ± 0.26	4.57 ± 0.43	4.40 ± 0.37	4.54 ± 0.41	4.37 ± 0.30	4.58 ± 0.43
γ-σφαιρίνες (g/dL)	3.55 ± 0.95	3.12 ± 0.57	3.96 ± 0.90**	3.12 ± 0.60**	3.58 ± 0.88'	3.06 ± 0.53'
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	(n=6) 1459 ± 466	(n=30) 1240 ± 260	(n=3) 1562 ± 395***	(n=33) 1250 ± 291***	(n=8) 1433 ± 406	(n=28) 1231 ± 264
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	(n=6) 156 ± 137	(n=30) 142 ± 81	(n=3) 258 ± 86****	(n=33) 134 ± 78****	(n=8) 161 ± 120	(n=28) 139 ± 82
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	(n=6) 191 ± 105	(n=30) 252 ± 148	(n=3) 295 ± 86	(n=33) 237 ± 146	(n=8) 205 ± 93	(n=28) 253 ± 153
Mayo Risk Score	-0.74 ± 3.53	-0.66 ± 0.93	0.44 ± 1.36	-0.8 ± 1.72	-0.52 ± 3.1	-0.74 ± 0.9

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν, * $p=0.043$ (t-test), ** $p=0.016$ (t-test), *** $p=0.092$ (t-test), **** $p=0.021$ (t-test), ' $p=0.073$ (Mann-Whitney U test),

δ. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα.

Η θετικότητα των αντι-CL αντισωμάτων και των δυο ιστοτύπων δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά με την παρουσία ή απουσία αλλά ούτε και με τον μέσο τίτλο των άλλων αυτοαντισωμάτων που προσδιορίστηκαν (Πίνακας 26). Εξαίρεση αποτελούν τα αντι-dsDNA αντισώματα, η παρουσία των οποίων βρέθηκε να σχετίζεται με την θετικότητα των IgG ή τουλάχιστον ενός ιστοτύπου των αντι-CL αντισωμάτων ($p=0.034$ και $p=0.007$ αντίστοιχα). Εντούτοις η μέση τιμή των αντι-dsDNA αντισωμάτων δεν διέφερε στατιστικά μεταξύ των θετικών και αρνητικών για αντι-CL αντισώματα ασθενών (Πίνακας 26).

5.5.4. ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΧΟΛΟΣΤΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

α. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα εργαστηριακά ευρήματα

Επειδή στους ασθενείς με ΠΧΚ και ΠΣΧ η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων συσχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με πολλές βιοχημικές παραμέτρους, έγινε επιπλέον ομαδοποίηση των ασθενών αυτών σε μια ενιαία ομάδα ασθενών που πάσχουν από αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν ενισχύονται οι συσχετίσεις με τα υπόλοιπα εργαστηριακά τους ευρήματα.

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ιστοτύπους αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικώς σημαντικά με τις τιμές της AST, της

Πίνακας 26: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τα υπόλοιπα ανοσολογικά ευρήματα των ασθενών με ΠΣΧ.

Ασθενείς με ΠΣΧ (n=41)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=8)	Anti-CL αρνητικά (n=33)	Anti-CL θετικά (n=4)	Anti-CL αρνητικά (n=37)	Anti-CL θετικά (n=11)	Anti-CL αρνητικά (n=30)
ANA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	6/2	24/9	3/1	27/10	8/3	22/8
ANA (HEp2 κύτταρα) τίτλος	90 ± 80	104 ± 94	140 ± 136	97 ± 86	109 ± 103	98 ± 88
SMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	2/6	12/21	0/4	14/23	2/9	12/18
SMA (HEp2 κύτταρα) τίτλος (n=27)	40 ± 76	62 ± 86	0	64 ± 7	29 ± 64	70 ± 88
AMA (HEp2 κύτταρα) (θετικά/αρνητικά)	0/8	1/32	0/4	1/36	0/11	1/29
ANA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	0/8	2/31	1/3	1/36	1/10	1/29
SMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	7/1	27/6	3/1	31/6	10/1	24/6
SMA (τομές ιστών) τίτλος	160 ± 32	184 ± 16	200 ± 56	176 ± 56	203 ± 27	171 ± 26
AMA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	0/8	1/32	0/4	1/36	0/11	1/29
PCA (τομές ιστών) (θετικά/αρνητικά)	0/8	3/30	0/4	3/34	0/11	3/27
p-ANCA (θετικά/αρνητικά)	3/5	7/26	2/2	8/29	5/6	5/25
c-ANCA (θετικά/αρνητικά)	3/5	13/20	2/2	14/23	4/7	12/18
Anti-dsDNA (θετικά/αρνητικά)	5/3 [#]	7/26 [#]	2/2	10/27	7/4 [*]	5/25 [*]
Anti-dsDNA (τίτλος)	143 ± 32	133 ± 29	114 ± 12	142 ± 30	136 ± 30	141 ± 32

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν, [#]p=0.034 ^{*}p=0.007 (Fisher's exact test).

Πίνακας 27α: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα.

Ασθενείς με αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα (n=141)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=36)	Anti-CL αρνητικά (n=105)	Anti-CL θετικά (n=32)	Anti-CL αρνητικά (n=109)	Anti-CL θετικά (n=57)	Anti-CL αρνητικά (n=84)
AST (U/L)	45.6 ± 28	47.8 ± 40.8	52.4 ± 34.3	45.7 ± 38.9	49.2 ± 31.5	45.8 ± 41.8
ALT (U/L)	51.1 ± 56.9	62 ± 64.6	69.2 ± 71.3	56.2 ± 60	56.2 ± 58.7	61.3 ± 65.6
γ-GT (U/L)	131.1 ± 139.8	139.2 ± 193.4	157.6 ± 122.5	131.2 ± 194.6	134.4 ± 124.6	139 ± 211.7
ALP (U/L)	447.4 ± 367.2 [#]	342.7 ± 217.8 [#]	451 ± 366.4 [*]	345.5 ± 225.9 [*]	434.9 ± 330.5 [*]	324.8 ± 202.8 [*]
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	1.64 ± 1.88 ^{##}	1.00 ± 1.20 ^{##}	1.39 ± 1.94	1.1 ± 1.25	1.4 ± 1.6	1 ± 1.29
Έμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=33) 1.07 ± 0.98 ^{###}	(n=95) 0.64 ± 0.50 ^{###}	(n=29) 0.84 ± 0.82	(n=99) 0.72 ± 0.64	(n=53) 0.92 ± 0.84 ^{**}	(n=75) 0.63 ± 0.51 ^{**}
Άμμεσος χολερυθρίνη (mg/dl)	(n=33) 0.68 ± 1.19 [*]	(n=95) 0.28 ± 0.45 [*]	(n=29) 0.64 ± 1.28 ^{**}	(n=99) 0.31 ± 0.46 ^{**}	(n=53) 0.55 ± 0.98 ^{***}	(n=75) 0.26 ± 0.46 ^{***}
Αιμοπετάλια (x10 ³ /mm ³)	218.7 ± 68.5 ^{**}	249.4 ± 83.9 ^{**}	248.2 ± 80.2	239.9 ± 81.7	235.1 ± 77.7	246.2 ± 83.6
Θρομβοπενία ⁺ (όχι/ναι)	29/6 ^{xxx}	101/4 ^{xxx}	30/2	101/8	51/6	80/4

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; ⁺ τιμή αιμοπεταλίων μικρότερη από 140.000 /μλ. [#]p=0.095 (Mann-Whitney U test), ^{##}p=0.001 (Mann-Whitney U test), ^{###}p=0.011 (Mann-Whitney U test), ^{*}p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.056 (t-test), ^{***}p=0.014 (x² test), ^{*}p=0.079 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.064 (Mann-Whitney U test), [†]p=0.021 (Mann-Whitney U test), ^{**}p=0.027 (Mann-Whitney U test), ^{***}p=0.000 (Mann-Whitney U test).

ALT, της γ-GT, των ολικών πρωτεϊνών και της ανοσοσφαιρίνης A (Πίνακες 27α και β).

Αντίθετα, η παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν σημαντικά με αυξημένες τιμές της ολικής (p=0.001), της εμμέσου (p=0.011) και της άμέσου

χολερυθρίνης ($p=0.000$), καθώς και με αυξημένες τιμές των γ -σφαιρινών ($p=0.062$), ανοσοσφαιρίνης G ($p=0.044$) και με μειωμένες τιμές αλβουμίνης ($p=0.000$) (Πίνακες 27α και β). Επίσης βρέθηκε θετική συσχέτιση τόσο με μειωμένες τιμές αιμοπεταλίων ($p=0.056$) όσο και με την ύπαρξη θρομβοπενίας ($p=0.014$) (Πίνακες 27α και β). Η παρουσία των IgM αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με αυξημένες τιμές γ -σφαιρίνης ($p=0.000$), της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0.044$) και με μειωμένες τιμές αλβουμίνης ($p=0.000$) ενώ υπήρχε τάση συσχέτισης με τα αυξημένα επίπεδα της ALP ($p=0.079$) και της αμέσου χολερυθρίνης ($p=0.064$) (Πίνακες 27α και β). Τέλος η θετικότητα τουλάχιστον ενός εκ των δύο ισοτύπων (IgG και/ή IgM), συσχετιζόνταν στατιστικώς σημαντικά με αυξημένες τιμές της ALP ($p=0.021$), της εμμέσου χολερυθρίνης ($p=0.027$), της αμέσου χολερυθρίνης ($p=0.000$), των γ -σφαιρινών ($p=0.000$), της ανοσοσφαιρίνης G ($p=0.022$) και της ανοσοσφαιρίνης M ($p=0.000$) καθώς και με μειωμένες τιμές της αλβουμίνης ($p=0.000$) (πίνακες 27α και β).

5.5.5. ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ

Η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με λοίμωξη από τους ιούς της ηπατίτιδας B και C, δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά με το φύλο, την ηλικία, την διάρκεια της λοίμωξης, το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ, το ιστορικό θρομβώσεων ή μαιευτικών επιπλοκών και τις τιμές των AST,ALT, γ -GT,ALP, και γ -σφαιρινών.

Στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας C, η παρουσία των IgG, IgM ή τουλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους (IgG και/ή IgM) αντι-CL αντισωμάτων βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με την παρουσία της

Πίνακας 27β: Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα.

Ασθενείς με αυτοάνοσα χολοστατικά νοσήματα (n=141)	IgG		IgM		IgG και/ή IgM	
	Anti-CL θετικά (n=36)	Anti-CL αρνητικά (n=105)	Anti-CL θετικά (n=32)	Anti-CL αρνητικά (n=109)	Anti-CL θετικά (n=57)	Anti-CL αρνητικά (n=84)
Ολικές πρωτεΐνες (g/dL)	(n=34) 7.6 ± 0.88	(n=100) 7.7 ± 0.74	(n=29) 7.87 ± 0.92	(n=105) 7.62 ± 0.73	(n=53) 7.74 ± 0.91	(n=81) 7.63 ± 0.67
Αλβουμίνη (g/dL)	(n=34) 4.03 ± 0.92 [#]	(n=100) 4.46 ± 0.53 [#]	(n=29) 3.98 ± 0.73 [*]	(n=105) 4.45 ± 0.63 [*]	(n=53) 4.06 ± 0.83 [·]	(n=81) 4.55 ± 0.46 [·]
γ-σφαιρίνες (g/dL)	(n=34) 3.59 ± 0.93 ^{###}	(n=100) 3.27 ± 0.81 ^{###}	(n=29) 3.87 ± 0.88 ^{**}	(n=105) 3.21 ± 0.79 ^{**}	(n=53) 3.7 ± 0.91 ^{''}	(n=81) 3.13 ± 0.73 ^{''}
Ανοσοσφαιρίνη G (mg/dl)	(n=30) 1693 ± 608 ^{###}	(n=96) 1394 ± 731 ^{###}	(n=28) 1643 ± 599	(n=98) 1414 ± 737	(n=48) 1649 ± 599 ^{'''}	(n=78) 1352 ± 756 ^{'''}
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	(n=30) 374 ± 715	(n=96) 209 ± 166	(n=28) 376 ± 185 ^{***}	(n=98) 212 ± 413 ^{***}	(n=48) 377 ± 575 ^{''''}	(n=78) 170 ± 126 ^{''''}
Ανοσοσφαιρίνη A (mg/dl)	(n=30) 361 ± 299	(n=96) 273 ± 185	(n=28) 290 ± 153	(n=98) 295 ± 236	(n=48) 334 ± 257	(n=78) 269 ± 191

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση, n=αριθμός ασθενών που μελετήθηκαν; [#]p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{##}p=0.062 (t-test), ^{###}p=0.044 (t-test), ^{*}p=0.001 (t-test), ^{**}p=0.000 (t-test), ^{***}p=0.044 (t-test), [·]p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{''}p=0.000 (Mann-Whitney U test), ^{'''}p=0.022 (t-test), ^{''''}p=0.000 (Mann-Whitney U test).

κίρρωσης (p=0.025, p=0.004 και p=0.004 αντίστοιχα) όπως επίσης και με χαμηλότερες τιμές αιμοπεταλίων (p=0.016, p=0.011 και p=0.004 αντίστοιχα). Στους ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό της ηπατίτιδας Β, η θετικότητα τουλάχιστον για ένα από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων

σχετίζονταν τόσο με τον μειωμένο αριθμό των αιμοπεταλίων όσο και με την παρουσία θρομβοκυτταροπενίας ($p < 0.05$).

5.6. ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΙ ΤΩΝ αντι-β2-GPI ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Όπως αναφέρθηκε και στην αρχή των αποτελεσμάτων ένας πολύ μικρός αριθμός ασθενών σε όλες τις ομάδες των παθήσεων ανιχνεύθηκε θετικός για IgG αντι-β2-GPI αντισώματα. Στην ΑΗ, βρέθηκαν 2 ασθενείς θετικοί αλλά και οι δύο τους ήταν αρνητικοί τόσο για IgG όσο και για IgM αντι-CL αντισώματα, ενώ επιπρόσθετα δεν είχαν θρομβοπενία ούτε και ιστορικό θρομβώσεων ή μαιευτικών επιπλοκών κατά το παρελθόν. Στην ΠΧΚ, βρέθηκαν επίσης 2 ασθενείς θετικοί για IgG αντι-β2-GPI αντισώματα οι οποίοι επιπρόσθετα ήταν θετικοί για IgG και για IgM αντι-CL αντισώματα αλλά κανένας τους δεν εμφάνιζε θρομβοπενία ή κλινικές εκδηλώσεις υποδηλωτικές APS. Στην ΠΣΧ, υπήρξε μόνο ένας ασθενής θετικός για αντι-β2-GPI αντισώματα, αλλά όμοια με την ΑΗ, δεν βρέθηκε θετικότητα για αντι-CL αντισώματα, ούτε ενδείξεις θρομβοπενίας και εκδηλώσεων APS.

Στους ασθενείς με ΗCV λοίμωξη βρέθηκαν 7 θετικοί για αντι-β2-GPI αντισώματα. Από αυτούς οι δυο ήταν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα, οι δύο θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα και οι υπόλοιποι τρεις αρνητικοί. Ένας ασθενής θετικός για αντι-β2-GPI αντισώματα, ανέφερε ιστορικό θρομβώσεων στο παρελθόν αλλά ήταν αρνητικός για αντι-CL αντισώματα και δεν παρουσίαζε θρομβοπενία.

Τέλος στην ομάδα των ασθενών με ΗΒV λοίμωξη βρέθηκε ένας ασθενής θετικός για αντι-β2-GPI αντισώματα και για IgG αντι-CL αντισώματα, αλλά

χωρίς εμφάνιση θρομβοπενίας και ιστορικού θρομβωτικών επεισοδίων κατά το παρελθόν.

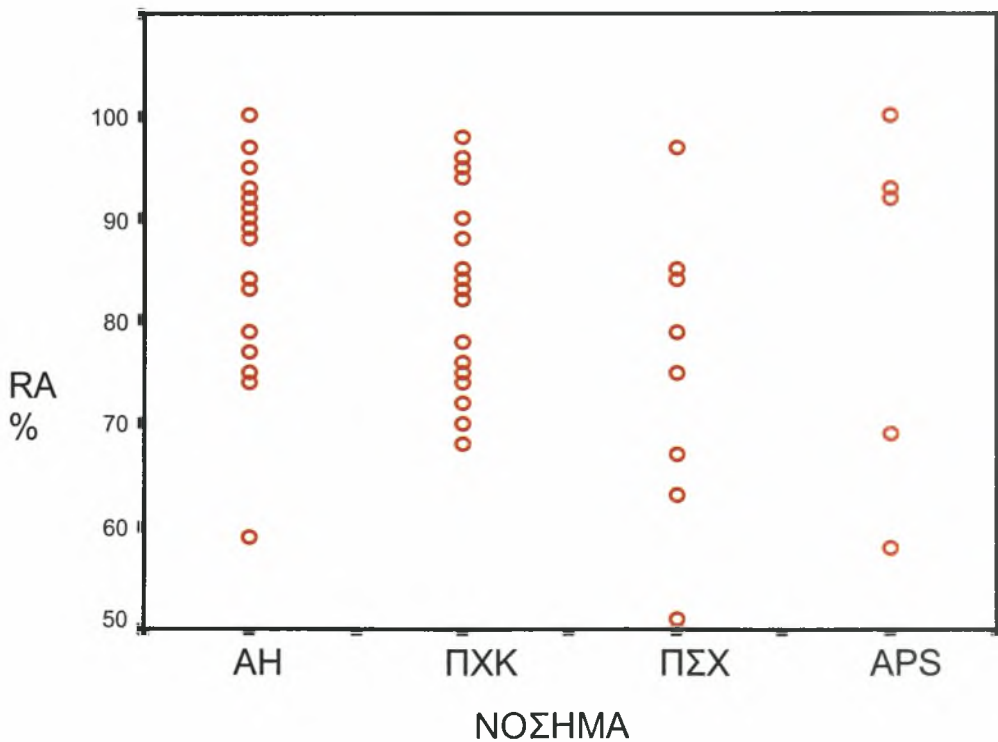
5.7. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΥΡΙΑΣ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙ-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

Όλοι οι ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος που βρέθηκαν θετικοί για την παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων (23 με ΑΗ, 28 με ΠΧΚ και 8 με ΠΣΧ) και πέντε ασθενείς με APS, ελέγχθηκαν σε διαδοχικές αραιώσεις υπό την επίδραση διαλύματος ουρίας 2M. Όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο της περιγραφής της μεθόδου η ικανότητα των αντισωμάτων να αντιστέκονται στην αποδέσμευσή τους από το αντιγόνο υπό την επίδραση ουρίας, μπορεί να εκφραστεί με την τιμή RA%. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτή τόσο μεγαλύτερη είναι και η συγγένεια δεύσμευσης του αντισώματος με το αντιγόνο (καρδιολιπίνη). Διαπιστώθηκε ότι η τιμή της RA% στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος που ήταν θετικοί για αντι-CL αντισώματα ήταν ιδιαίτερα υψηλή ($86,2 \pm 10$ για τους ασθενείς με ΑΗ, $83,6 \pm 9,3$ για τους ασθενείς με ΠΧΚ και $75,1 \pm 14,5$ για τους ασθενείς με ΠΣΧ) και παρόμοια με αυτήν που παρατηρήθηκε στους πέντε ασθενείς με APS που μελετήσαμε ($82,4 \pm 18$) και που συμφωνεί και με την διεθνή βιβλιογραφία (Σχήμα 9).

5.8. ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΓΙΑ ΑΝΤΙ-CL ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Όλοι οι ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, εκτός από την πρώτη ημερομηνία επανελέγχθηκαν για την παρουσία IgG αντι-CL

αντισωμάτων σε διάφορα άλλα χρονικά σημεία σε μια πορεία παρακολούθησης τους από 1 έως 4 έτη, προκειμένου να διαπιστωθεί κατά πόσο η θετικότητα των αντι-CL αντισωμάτων διατηρείται ή απλά πρόκειται για ένα τυχαίο εύρημα μιας συγκεκριμένης χρονικής περιόδου. Άλλωστε το εργαστηριακό κριτήριο για την διάγνωση του APS απαιτεί την παραμονή της θετικότητας των αντιφωσfolιπιδικών αντισωμάτων σε δυο τουλάχιστον διαδοχικές μετρήσεις χρονικής διαφοράς τουλάχιστον 6 εβδομάδων.



Σχήμα 9: Η απομένουσα ενεργότητα RA % (residual activity) των θετικών ορών για IgG αντι-CL αντισώματα από ασθενείς με AH (n=23), ΠΧΚ (n=28), ΠΣΧ (n=8) και APS (n=5) μετά την επίδραση 2M ουρίας.

Από τους 23 ασθενείς με AH θετικούς για IgG αντι-CL αντισώματα στον πρώτο έλεγχο, οι 19 παρέμειναν θετικοί σε όλη την πορεία της παρακολούθησής τους. Από αυτούς οι 8 παρέμειναν στα ίδια επίπεδα τίτλου, 8 αύξησαν τον τίτλο τους και 3 τον μείωσαν. Επιπρόσθετα, 3 ασθενείς που

είχαν βρεθεί αρνητικοί στον πρώτο έλεγχο, θετικοποιήθηκαν στην πορεία της παρακολούθησής τους.

Από τους 28 ασθενείς με ΠΧΚ που βρέθηκαν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα στον πρώτο έλεγχο, οι 26 παρέμειναν θετικοί κατά την παρακολούθησής τους (εκ των οποίων οι 20 διατήρησαν τον τίτλο τους, οι 4 αύξησαν τον τίτλο τους και οι 2 τον μείωσαν), ενώ επιπλέον 10 ασθενείς που ήταν αρνητικοί στον πρώτο έλεγχο ανιχνεύθηκαν θετικοί στην πορεία της νόσου.

Τέλος από τους 8 ασθενείς με ΠΣΧ που βρέθηκαν θετικοί για IgG αντι-CL αντισώματα στον πρώτο έλεγχο, οι 5 παρέμειναν θετικοί κατά την παρακολούθησής τους (εκ των οποίων οι 2 διατήρησαν τον τίτλο τους, οι 2 αύξησαν τον τίτλο τους και ένας τον μείωσε), ενώ επιπλέον 2 ασθενείς που ήταν αρνητικοί στον πρώτο έλεγχο, θετικοποιήθηκαν στην πορεία.

Φαίνεται επομένως ότι η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων και στις τρεις κατηγορίες των αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος, είναι χαρακτηριστικό των ασθενών αυτών ανεξάρτητα από το χρονικό σημείο στην πορεία της νόσου που γίνεται η ανίχνευση τους.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη έδειξε για πρώτη φορά ότι ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντι-CL αντισωμάτων. Αυτό παρατηρείται κατά κύριο λόγο στους ασθενείς με ΑΗ και ΠΧΚ και σε μικρότερο ποσοστό στους ασθενείς με ΠΣΧ.

Στην ΑΗ, περίπου οι μισοί ασθενείς βρέθηκαν θετικοί για την παρουσία τοιλάχιστον ενός από τους δύο ισοτύπους αντι-CL αντισωμάτων. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε αντίθεση με μια πρόσφατη μελέτη των de Larranaga et al στην οποία το ποσοστό που ανιχνεύθηκε ήταν εξαιρετικά χαμηλό (3%) [608]. Αυτή η διαφορά στην συχνότητα πιθανότατα σχετίζεται το είδος της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε καθώς και με τον σχεδιασμό της μελέτης [181]. Στην εργασία που προαναφέρθηκε χρησιμοποιήθηκε εμπορικά διαθέσιμη μέθοδος στην οποία δεν χρησιμοποιείται καθαρή καρδιολιπίνη αλλά μείγμα φωσφολιπιδίων, ενώ η παρούσα μελέτη έγινε με in house ELISA που στήθηκε και ελέγχθηκε στο εργαστήριο μας για την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα της και έχει διεθνή απήχηση [181, 189]. Επιπρόσθετα, οι de Larranaga et al ανευρίσκουν επίσης χαμηλή συχνότητα αντι-CL αντισωμάτων και σε ασθενείς με ηπατίτιδα C (2%) [608], κάτι που δεν συμφωνεί με την κρατούσα άποψη και με μεγάλο αριθμό δημοσιεύσεων στις οποίες αναφέρεται σημαντικό ποσοστό θετικότητας αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ΗCV λοίμωξη [181]. Επίσης, σε μια παλαιότερη Ιαπωνική μελέτη θετικοί για αντι-CL αντισώματα βρέθηκαν 3 στους 15 ασθενείς με ΑΗ [609], ενώ σε μια δεύτερη αναφορά, σε 14 ασθενείς με ΑΗ (που χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου για μια μελέτη που αφορούσε ασθενείς

με οζώδη αναγεννητική υπερπλασία του ήπατος), βρέθηκαν 2 άτομα θετικά για αντι-CL αντισώματα [610]. Εντούτοις, ο συνολικός αριθμός των ασθενών που μελετήθηκαν και στις δυο ανωτέρω εργασίες θεωρείται μικρός για να προσδιοριστεί με στατιστικά όρια ασφαλείας, η πραγματική συχνότητα των αντι-CL στους ασθενείς με ΑΗ.

Μέχρι στιγμής υπάρχουν μεμονομένες βιβλιογραφικές αναφορές ασθενών που συσχετίζουν την ΑΗ με την παρουσία α-CL αντισωμάτων [611-624]. Στις περισσότερες από αυτές η παρουσία των αντισωμάτων αυτών σχετίζονταν και με κλινικές εκδηλώσεις APS. Για παράδειγμα οι Gujudu et al περιγράφουν ένα ασθενή με επικαλυπτόμενες εκδηλώσεις ΑΗ, αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας, αυτοάνοσης θρομβοκυτταροπενίας και αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου (με πολλαπλές αποβολές κατά το παρελθόν) [612]. Οι Tauchmanova et al περιγράφουν ασθενή με ΑΗ, νόσο Addison, διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και εκδηλώσεις APS (επαναλαμβανόμενες θρομβώσεις κάτω άκρου) [617]. Οι Saeki et al αναφέρονται σε ασθενή με σύνδρομο επικάλυψης ΑΗ/ΠΧΚ που είχε ιστορικό 6 συνεχόμενων αποβολών, δέκα χρόνια πριν την διάγνωση αλλά και εμφάνιση θρόμβωσης δεξιάς οφθαλμικής αρτηρίας με θετικά αντι-CL αντισώματα, δύο χρόνια μετά τη διάγνωση του συνδρόμου επικάλυψης [618]. Οι Dourakis et al περιγράφουν δύο ασθενείς με ΑΗ-1 και εκδηλώσεις δευτεροπαθούς APS με θετικά αντι-CL αντισώματα [614]. Φαίνεται λοιπόν από τις βιβλιογραφικές αναφορές ότι κλινικές εκδηλώσεις συμβατές με APS μπορούν να εμφανιστούν είτε πριν, είτε ταυτόχρονα, είτε μετά την εμφάνιση συμπτωμάτων και σημείων υποδηλωτικών ΑΗ. Σε άλλες πάλι βιβλιογραφικές αναφορές μεμονομένων ασθενών επισημαίνεται η παρουσία αντι-CL αντισωμάτων (που βρέθηκαν στο

πλαίσιο διερεύνησης θρομβοκυτταροπενίας) σε ασθενείς με ΑΗ, αλλά χωρίς εκδηλώσεις APS [611].

Από την παρούσα μελέτη φαίνεται, ότι δεν υπάρχει ιδιαίτερη συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων και των κλινικών εκδηλώσεων σχεδιζομένων με την ανάπτυξη APS. Το γεγονός αυτό ενισχύεται από την πολύ μικρή συχνότητα ανεύρεσης αντι-β2-GPI αντισωμάτων μεταξύ των ασθενών με ΑΗ. Ένα σημαντικό στοιχείο που πρέπει επομένως να διερευνηθεί είναι η κλινική σημασία της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ. Αυτό μπορεί να μελετηθεί προς δύο δυνατές κατευθύνσεις. Πρώτον, κατά πόσο τα αυτοαντισώματα αυτά μπορούν να σχετίζονται με την παθογένεια της ΑΗ, και δεύτερον αν μπορούν να χαρακτηριστούν ως θρομβωτικά-παθογενετικά οδηγώντας τελικά σε εκδηλώσεις του APS.

Είναι γνωστό ότι τα αντι-PL αντισώματα μπορεί να οδηγήσουν μέσω θρομβώσεων σε αρκετές ηπατικές επιπλοκές. Η πιο συχνή από αυτές τις επιπλοκές είναι η θρόμβωση των ηπατικών φλεβών οδηγώντας τελικά στην ανάπτυξη συνδρόμου Budd-Chiari [625]. Επίσης έχουν αναφερθεί θρομβώσεις ηπατικής αρτηρίας, αναγεννητική οζώδης υπερπλασία του ήπατος και πολλαπλή μικροαγγειοπάθεια [626]. Έχουν τέλος επισημανθεί ασθενείς με εκδηλώσεις APS που παρουσίασαν απότομη τρανσαμινασαιμία, και η βιοψία ήπατος έδειξε εικόνα αιμορραγίας και νέκρωσης ή πολλαπλές θρομβώσεις των μικρών ηπατικών αγγείων χωρίς εικόνα κυτταρικής φλεγμονής ή ίνωσης [623]. Όλα αυτά σε συνδυασμό με μια πρόσφατη δημοσίευση που αναφέρει εμφάνιση ΑΗ εννέα χρόνια μετά την εκδήλωση επαναλαμβανόμενων εν τω βάθει φλεβικών θρομβώσεων σε ένα ασθενή με

πρωτοπαθές APS [627], είναι ενδεικτικά του γεγονότος ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η παρουσία αντι-CL αντισωμάτων προϋπάρχει της εμφάνισης ΑΗ, επομένως ίσως και να σχετίζεται παθογενετικά με αυτήν, αν και στις περισσότερες περιπτώσεις η εμφάνιση εκδηλώσεων APS, φαίνεται να είναι δευτεροπαθής στο έδαφος προϋπάρχουσας ΑΗ.

Από την παρούσα μελέτη φάνηκε επίσης ένα άλλο πολύ σημαντικό εύρημα. Η ανίχνευση των αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ, σχετίζονταν με πιο σοβαρή νόσο όπως αυτή υποδηλώνεται από την παρουσία ενεργότητας της ΑΗ ή την ύπαρξη κίρρωσης στους ασθενείς με θετικά αντι-CL αντισώματα. Επομένως, η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων, μπορεί να θεωρηθεί ως ένας επιπρόσθετος προγνωστικός δείκτης της σοβαρότητας και της ενεργότητας της ΑΗ. Ο συσχετισμός όμως της παρουσίας των αντι-CL με την κίρρωση παρατηρήθηκε επίσης και στην ομάδα των ασθενών με ΗCV λοίμωξη (ενός ιού που γενικά επάγει αυτοάνοση απόκριση) που χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα ελέγχου, στοιχείο που συμφωνεί και με την διεθνή βιβλιογραφία [177, 181, 189]. Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα αυτά, θα μπορούσε να υποστηρίξει κανείς ότι αυτό είναι αποτέλεσμα προχωρημένης ηπατικής νόσου ανεξαρτήτου αιτιολογίας (αυτοανόσου ή ιογενούς). Εντούτοις, μια τέτοια εξήγηση δεν φαίνεται πολύ πιθανή, δεδομένου ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην διάρκεια της νόσου μεταξύ των θετικών και αρνητικών για αντι-CL αντισώματα ασθενών με ΑΗ.

Εκτός των ασθενών με ΑΗ αντι-CL αντισώματα ανιχνεύθηκαν επίσης και σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΠΧΚ. Υπάρχουν πολύ λίγες αναφορές στην διεθνή βιβλιογραφία που συσχετίζουν την ΠΧΚ με εκδηλώσεις του APS

[618, 628-632]. Στις δύο Ιαπωνικές μελέτες μάλιστα, το APS ήταν μέρος ενός συνδυασμού αυτοανώσων καταστάσεων ΠΧΚ επικαλυπτόμενης με ΑΗ ή με νόσο του συνδετικού ιστού [618, 630]. Σε ότι αφορά την συχνότητα των IgG αντι-CL αντισωμάτων, σε δύο δημοσιεύσεις που χρησιμοποιήθηκαν ασθενείς με ΠΧΚ ως ομάδα ελέγχου η συχνότητα ήταν 14,3% αλλά ο αριθμός των ασθενών με ΠΧΚ που μελετήθηκαν θεωρείται πολύ μικρός (14 ασθενείς, θετικοί οι 2 και στις δυο εργασίες) για την εκτίμηση της παραγματικής συχνότητας [173, 610]. Αντίθετα τα αποτελέσματα μας έρχονται σε συμφωνία με μια παλαιότερη Καναδική μελέτη στην οποία διαπιστώθηκε παρόμοιο ποσοστό (30%) IgG αντι-CL αντισωμάτων σε ένα σύνολο 31 ασθενών με ΠΧΚ [633]. Επίσης σε μια άλλη δημοσίευση μελετώντας την συχνότητα των IgM αντι-CL αντισωμάτων σε 25 ασθενείς με ΠΧΚ διαπιστώθηκε θετικότητα στο 67% (17/25) [634]. Η θετικότητα όμως για τα IgM αντι-CL αντισώματα είχε έντονη συσχέτιση με υψηλότερα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης M, χαρακτηρίζοντας έτσι μάλλον το αποτέλεσμα ως ψευδώς θετικό [634]. Πράγματι, μετά τη διόρθωση της μη ειδικής δεύσμευσης, μόνο δύο ασθενείς (2/25; 8%) βρέθηκαν θετικοί για IgM αντι-CL αντισώματα [634]. Αντίθετα, στην παρούσα μελέτη ανιχνεύθηκε ένα σημαντικό ποσοστό IgM αντι-CL αντισωμάτων (28%), χρησιμοποιώντας μια ELISA που στήθηκε στο εργαστήριό μας και ελέγχθηκε για την ειδικότητα της και στην οποία ένα δείγμα θεωρείται θετικό μόνο όταν η απορρόφηση του είναι 4 τυπικές αποκλίσεις πάνω από την μέση τιμή της απορρόφησης μιας ομάδας ορών αιμοδοτών που ελέγχονται σε κάθε πείραμα. Με τον τρόπο αυτό θεσπίζουμε πολύ αυστηρά όρια θετικότητας της μεθόδου.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε επίσης ότι η παρουσία IgG ή τουλάχιστον ενός ισοτύπου (IgG και/ή IgM) αντι-CL αντισωμάτων χαρακτηρίζει ασθενείς με ΠΧΚ με σοβαρότερη μορφή νόσου καθώς βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με την προχωρημένη ηλικία, τις αυξημένες τιμές χολερυθρίνης και τις μειωμένες τιμές αλβουμίνης, καθώς και με την παρουσία κίρρωσης. Η τελευταία αυτή συσχέτιση παρατηρήθηκε όπως αναφέρθηκε προηγουμένως και στους ασθενείς με ΑΗ και ΗCV λοίμωξη. Τέλος από την παρούσα μελέτη φάνηκε για πρώτη φορά ότι η θετικότητα για αντι-CL αντισώματα συσχετίζονταν με αυξημένες τιμές του Mayo Risk Score, δηλαδή με χειρότερο προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών με ΠΧΚ, κάτι που φαίνεται αναμενόμενο καθώς στην μελέτη μας υπήρξε συσχέτιση της παρουσίας των αντι-CL αντισωμάτων με τρεις από τις πέντε παραμέτρους που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του δείκτη (ηλικία, ολική χολερυθρίνη και αλβουμίνη). Επομένως στους ασθενείς με ΠΧΚ η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ένας επιπρόσθετος προγνωστικός δείκτης της βαρύτητας της νόσου και της επιβίωσης των ατόμων αυτών. Το γεγονός πάντως της θετικής συσχέτισης των αντι-CL αντισωμάτων με δείκτες βαρύτητας της νόσου, ίσως υποδεικνύει ότι ο ρόλος των αντισωμάτων αυτών είναι πιο σημαντικός στην επιδείνωση της ηπατοκυτταρική βλάβης στους ασθενείς με ΠΧΚ, παρά στην προαγωγή των πρώιμων μηχανισμών που οδηγούν στην εμφάνιση των αρχικών συμπτωμάτων της νόσου.

Επιπλέον, ένας άλλος εξίσου ενδιαφέρον συσχετισμός που διαπιστώθηκε στους ασθενείς με ΠΧΚ είναι ότι η παρουσία IgG αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν με μειωμένες τιμές αιμοπεταλίων τόσο στην απόλυτη τους τιμή όσο και με βάση την διάκριση των ασθενών σε θρομβοπενικούς ή όχι. Αυτό

είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς η θρομβοπενία αποτελεί ένα από τα βασικά εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με APS, δημιουργώντας ερωτήματα για την πιθανή εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων σχετιζομένων με το σύνδρομο APS στην πορεία της νόσου. Η παρουσία όμως των αντι-CL αντισωμάτων δεν σχετίζονταν με κλινικές εκδηλώσεις του APS κάτι που έρχεται σε συμφωνία με τις προηγούμενες μελέτες και ενισχύεται από το γεγονός ότι λίγοι μόνο ασθενείς με ΠΧΚ ήταν θετικοί για αντι-β2-GPI αντισώματα.

Επίσης στην παρούσα μελέτη ένας σημαντικός αριθμός ασθενών με ΠΣΧ βρέθηκε θετικός για την παρουσία αντι-CL αντισωμάτων (26,5%), ποσοστό συγκριτικά (αλλά όχι στατιστικά) χαμηλότερο σε σχέση με αυτό που βρέθηκε στους ασθενείς με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος (ΑΗ και ΠΧΚ). Το ποσοστό αυτό που διαπιστώσαμε είναι χαμηλότερο σε σχέση με αυτό που αναφέρεται σε μια εργασία των Angulo et al [635]. Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν 73 ασθενείς με ΠΣΧ και διαπίστωσαν συνολική συχνότητα αντι-CL αντισωμάτων 66% (46/73; 63% ήταν θετικοί για τουλάχιστον ένα ισότυπο IgG, IgM ή IgA αντι-CL αντισωμάτων και 13/73; 18% ήταν θετικοί για IgG αντι-β2-GPI αντισώματα) [635]. Επιπρόσθετα, στην μελέτη αυτή των Angulo et al διαπιστώθηκε συσχέτιση της θετικότητας των αντισωμάτων αυτών με διάφορες παραμέτρους ενδεικτικές πιο προχωρημένης ηπατικής νόσου (Mayo Risk Score και σε τρεις από τις παραμέτρους προσδιορισμού αυτού-ηλικία, χολερυθρίνη και αλβουμίνη-, καθώς επίσης και με το ιστολογικό στάδιο της νόσου) [635]. Αυτά τα συμπεράσματα δεν έρχονται σε συμφωνία με την παρούσα μελέτη καθώς η συχνότητα των αντι-CL αντισωμάτων που προσδιορίσαμε ήταν μικρότερη, χωρίς να παραβλέπουμε βέβαια το γεγονός ότι δεν μελετήσαμε IgA αντι-CL αντισώματα (λόγω της αμφισβητούμενης

διαγνωστικής τους σπουδαιότητας και επιπλέον στην εργασία των Angulo et al μόνο 4 ασθενείς με ΠΣΧ ήταν θετικοί για IgA αντι-CL αντισώματα και επομένως η συχνότητα ανίχνευσης IgG και/ή IgM αντι-CL αντισωμάτων ήταν 57,1% (44/73) [635], ποσοστό που εξακολουθεί να παραμένει υψηλό συγκριτικά με τα δικά μας ευρήματα). Η θετικότητα για αντι-CL αντισώματα δεν βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά με το στάδιο της ΠΣΧ, το Mayo Risk Score ή οποιαδήποτε παράμετρο προσδιορισμού αυτού, ενώ τέλος μόνο ένας ασθενής βρέθηκε θετικός για αντι-β2-GPI αντισώματα. Πάντως στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν μόνο δύο αναφορές ασθενών με ΠΣΧ και εκδηλώσεις APS [636, 637]. Στην πρώτη από αυτές ανιχνεύθηκε θετικό μόνο το αντιπηκτικό του λύκου και όχι τα αντι-CL αντισώματα σε ασθενή με ΠΣΧ και ιστορικό επεισοδίων εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης και πνευμονικής εμβολής [636], ενώ στη δεύτερη εργασία αναφέρεται η εμφάνιση πολλαπλών ελκών κάτω άκρων και θετικά αντι-CL αντισώματα σε ασθενή με ΠΣΧ και συνυπάρχουσα όμως ελκώδη κολίτιδα και ΣΕΛ, επομένως δεν είναι ξεκάθαρο με ποια υποκείμενη διαταραχή συσχετίζονταν οι εκδηλώσεις του APS στον ασθενή αυτό [637].

Μελετώντας τους ασθενείς μας σαν μια ενιαία ομάδα ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, η παρούσα μελέτη δείχνει ότι τα αντι-CL αντισώματα φαίνεται να είναι μη παθογενετικά, αν κρίνουμε από το γεγονός της απουσίας αντι-β2-GPI αντισωμάτων. Επομένως πρόκειται για αντι-CL αντισώματα που είναι ανεξάρτητα από συμπαραγόντες, κάτι που κατά τεκμήριο σημαίνει ότι δεν είναι θρομβογενή όπως φαίνεται και από πολλές μελέτες [181]. Αντι-CL αντισώματα όμως ανιχνεύονται και σε ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες, στις οποίες φαίνεται να αποτελούν ένα από τα πιο συχνά

αυτοαντισώματα [42, 177, 181, 186, 189]. Και στις περιπτώσεις όμως αυτές η κρατούσα άποψη είναι ότι στην πλειονότητα των ασθενών με λοίμωξη από HBV ή HCV, είναι επίσης μη θρομβογενή και δεν θεωρείται απαραίτητη η ανίχνευση τους σε εξετάσεις ρουτίνας [181, 638]. Εντούτοις σε συγκεκριμένους ασθενείς με ειδική ανοσολογική απόκριση ή με παθολογικό αιμοστατικό μηχανισμό, τα αντι-CL ίσως να ασκούν κάποια προ-πηκτική δράση και επομένως μπορεί να εμπλέκονται στην γένεση θρομβωτικών φαινομένων. Υπό το πρίσμα αυτής της παραδοχής, είναι πολύ ενδιαφέρον το εύρημα των Elefsiniotis et al, ότι οι ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα συσχετιζόμενο με HBV λοίμωξη που ανέπτυξαν θρομβώσεις της πυλαίας φλέβας (PVT), είχαν αυξημένη συχνότητα αντι-CL αντισωμάτων σε σχέση με εκείνους χωρίς PVT [639]. Με βάση αυτό οι συγγραφείς υποστήριξαν την πιθανή συμμετοχή των αντι-CL αντισωμάτων στους θρομβωτικούς μηχανισμούς και τις υπερπηκτικές καταστάσεις που εμφανίζονται σε προχωρημένα στάδια της ηπατικής νόσου [639]. Στην μελέτη όμως αυτή δεν προσδιορίστηκε η εξάρτηση των αντι-CL αντισωμάτων από συμπαράγοντες και έτσι δεν είναι απόλυτα ξεκάθαρο εάν τα αντισώματα αυτά παίζουν από την αρχή ένα ρόλο στην εκδήλωση των επιπλοκών ή απλά αντανακλούν το αποτέλεσμα της ιστικής καταστροφής και της τοπικής ενεργοποίησης του πηκτικού μηχανισμού.

Το γεγονός επίσης ότι τα αντι-CL αντισώματα ανιχνεύονται όχι μόνο σε αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, αλλά και σε ιογενείς ηπατίτιδες και σε άλλες ηπατικές παθήσεις (αν και σε μικρότερη συχνότητα), δείχνει ότι πιθανότατα υπάρχει ένας κοινός μηχανισμός που οδηγεί στην παραγωγή τους. Μια πολύ ελκυστική υπόθεση, είναι ότι η χρονιότητα της νόσου οδηγεί

σε επαγωγή νεοαντιγόνων από την καταστροφή των ηπατοκυτταρικών μεμβρανών [181, 186, 640].

Ενδιαφέρον όμως και σε αντίθεση με τις παραπάνω ενδείξεις είναι το στοιχείο ότι η αντίσταση στην ουρία των αντι-CL αντισωμάτων και στις τρεις ομάδες των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, όπως αυτή μετρήθηκε από την τιμή RA, είναι πολύ υψηλή, και παρόμοια με αυτήν που διαπιστώσαμε στα αντι-CL αντισώματα των πέντε ασθενών με καλά τεκμηριωμένο APS που μελετήσαμε και η οποία είναι σύμφωνη και με την διεθνή βιβλιογραφία [199, 607]. Όπως προαναφέρθηκε η χρήση ουρίας 2 M επιτρέπει την διάκριση των αντισωμάτων υψηλής συγγένειας χωρίς να επηρεάζει την αντιγονική στερεοδιαμόρφωση, και επομένως η αντίσταση στην ουρία είναι ένας έμμεσος δείκτης της συγγένειας δέυσμευσης του αντισώματος στο αντιγόνο [199, 607]. Σε προηγούμενες μελέτες μια τιμή RA μεγαλύτερη του 30% παρατηρήθηκε μόνο σε ασθενείς με πρωτοπαθές APS ή δευτεροπαθές στα πλαίσια ΣΕΛ, ενώ η RA των αντι-CL αντισωμάτων τόσο σε ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς εκδήλωση APS όσο και σε ασθενείς με HIV λοίμωξη ήταν εξαιρετικά χαμηλή [199, 607]. Το συμπέρασμα από τις μελέτες αυτές ήταν ότι τα αντι-CL αντισώματα που είναι παθογενετικά έχουν αυξημένη τιμή RA, ενώ τα αντι-CL αντισώματα που δεν είναι θρομβογενή έχουν αντι-CL αντισώματα με πολύ μικρή τιμή RA. Είναι λοιπόν πολύ ενδιαφέρον και αποτελεί αξιοσημείωτο εύρημα της μελέτης το γεγονός ότι στα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος έχουμε παρουσία αντι-CL αντισωμάτων που είναι βέβαια ανεξάρτητα από συμπαράγοντες (στοιχείο υποδηλωτικό μη θρομβογεννητικότητας) αλλά παράλληλα έχουν και αυξημένη τιμή RA (στοιχείο που χαρακτηρίζει τα παθογενετικά-θρομβογενή αντισώματα). Αν στο

γεγονός αυτό προσθέσουμε και την παρατήρηση ότι ανευρίσκονται σε ασθενείς με αυτοάνοσο νόσημα (και όχι π.χ. σε ιογενείς λοιμώξεις) δηλαδή σε μια κατάσταση υπερκερασμού της ανοσολογικής ανοχής και επομένως αυξημένης πιθανότητας να υπάρχει επικάλυψη και με άλλα αυτοάνοσα φαινόμενα, γεννάει ερωτήματα σχετικά με την πιθανότητα της μελλοντικής ανάπτυξης εκδηλώσεων APS στους ασθενείς αυτούς κατά την πορεία της βασικής νόσου τους.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που δείχνει ότι οι ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος χαρακτηρίζονται από μεγάλη συχνότητα παρουσίας αντι-CL αντισωμάτων, σε στατιστικά σημαντικό ποσοστό σε σχέση με αυτό που ανευρίσκεται σε ασθενείς με άλλες ηπατικές παθήσεις. Από κλινική άποψη η παρουσία των αντισωμάτων αυτών φαίνεται να σχετίζεται με την κλινική ενεργότητα και το στάδιο της νόσου στους ασθενείς με ΑΗ και με το προχωρημένο στάδιο και την παρουσία θρομβοκυτταροπενίας στους ασθενείς με ΠΧΚ. Η παρουσία όμως των αντι-CL αντισωμάτων δεν φαίνεται να σχετίζεται με την εμφάνιση κλινικών εκδηλώσεων υποδηλωτικών εμφάνισης APS, ενώ επιπρόσθετα εμφανίζονται να είναι ανεξάρτητα από συμπαραγοντες (αντι-β2-GPI ανεξάρτητα). Εντούτοις, είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η χημική συγγένεια των IgG αντι-CL αντισωμάτων είναι παρόμοια με αυτή που ανευρίσκεται στους ασθενείς με APS.

Αν και υπάρχει μια πρόσφατη εργασία στην οποία μελετήθηκαν τα κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με APS και δεν βρέθηκε ιδιαίτερη συσχέτιση μεταξύ εμφάνισης APS και παρουσίας αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος [641], τα αποτελέσματα μας σε συνδυασμό με τα

ευρήματα δύο πρόσφατων δημοσιεύσεων [642, 643] δεν μπορούν να αποκλείσουν εντελώς την πιθανότητα εμπλοκής των αντι-CL αντισωμάτων σε παθογενετικούς μηχανισμούς. Στην πρώτη από αυτές τις εργασίες οι Shah et al μελέτησαν σε μια περίοδο παρακολούθησης 10 ετών, 21 άτομα που βρέθηκαν επανειλημμένως θετικά για αντι-CL αντισώματα αλλά χωρίς ποτέ να εμφανίσουν κλινικές εκδηλώσεις APS ή ΣΕΛ στο παρελθόν [642]. Παρατήρησαν ότι περίπου οι μισοί (11/21; 52%) από αυτούς οδηγήθηκαν τελικά στην εμφάνιση εκδηλώσεων APS [642]. Στην δεύτερη εργασία οι Arbuckle et al υποστηρίζουν ότι αυτοαντισώματα ειδικά για τον ΣΕΛ συμπεριλαμβανομένων των αντι-CL αντισωμάτων προϋπάρχουν στον ορό των ασθενών πολλά χρόνια πριν την διάγνωση και την εμφάνιση των κλινικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ [643]. Μελετώντας συγκεντρωτικά τα δεδομένα αυτά προσθέτοντας επιπλέον και το γεγονός ότι τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος έχουν συχνές συσχετίσεις με πολλές άλλες αυτοάνοσες καταστάσεις, πιστεύουμε ότι απαιτούνται προοπτικές μελέτες των ασθενών που είναι θετικοί για αντι-CL αντισώματα, προκειμένου να εξακριβωθεί εάν τα αντισώματα αυτά έχουν κάποια κλινική σημασία οδηγώντας στην επιδείνωση της ηπατικής νόσου και την εμφάνιση APS ή εάν απλά είναι ένα επιφανόμενο που εμφανίζεται λόγω της δυσλειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων και της ιστικής καταστροφής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Parkin J, Cohen B: **An overview of the immune system.** *Lancet* 2001, **357**(9270):1777-1789.
2. Kurosaki T: **Genetic analysis of B cell antigen receptor signaling.** *Annu Rev Immunol* 1999, **17**:555-592.
3. Mond JJ, Lees A, Snapper CM: **T cell-independent antigens type 2.** *Annu Rev Immunol* 1995, **13**:655-692.
4. Delves PJ, Roitt IM: **The immune system. Second of two parts.** *N Engl J Med* 2000, **343**(2):108-117.
5. Klein J: **Natural history of the major histocompatibility complex.** New York: John Wiley; 1986.
6. Forbes SA, Trowsdale J: **The MHC quarterly report.** *Immunogenetics* 1999, **50**(3-4):152-159.
7. Klein J, Sato A: **The HLA system. First of two parts.** *N Engl J Med* 2000, **343**(10):702-709.
8. Rose M: **HLA antigens in tissues.** In Dyer P and Middleton D: **Methods in Clinical Histocompatibility.** Oxford: Oxford University Press; 1992.
9. Navarette CV: **The HLA system in blood transfusion.** *Baillieres Clin Gastroenterol* 2000, **13**(4):511-532.
10. Klein J, Sato A: **The HLA system. Second of two parts.** *N Engl J Med* 2000, **343**(11):782-786.
11. Bach JF: **Non-Th2 regulatory T-cell control of Th1 autoimmunity.** *Scand J Immunol* 2001, **54**(1-2):21-29.
12. Letterio JJ, Roberts AB: **TGF-beta: a critical modulator of immune cell function.** *Clin Immunol Immunopathol* 1997, **84**(3):244-250.
13. Caruso C, Candore G, Colonna Romano G, Lio D, Bonafe M, Valensin S, Franceschi C: **HLA, aging, and longevity: a critical reappraisal.** *Hum Immunol* 2000, **61**(9):942-949.
14. Thorsby E: **Invited anniversary review: HLA associated diseases.** *Hum Immunol* 1997, **53**(1):1-11.
15. Born W, Cady C, Jones-Carson J, Mukasa A, Lahn M, O'Brien R: **Immunoregulatory functions of gamma delta T cells.** *Adv Immunol* 1999, **71**:77-144.
16. Schatz DG, Oettinger MA, Schlissel MS: **V(D)J recombination: molecular biology and regulation.** *Annu Rev Immunol* 1992, **10**:359-383.
17. Ohashi PS, DeFranco AL: **Making and breaking tolerance.** *Curr Opin Immunol* 2002, **14**(6):744-759.
18. Miller JF, Basten A: **Mechanisms of tolerance to self.** *Curr Opin Immunol* 1996, **8**(6):815-821.
19. Delves PJ, Roitt IM: **The immune system. First of two parts.** *N Engl J Med* 2000, **343**(1):37-49.
20. Walker LS, Abbas AK: **The enemy within: keeping self-reactive T cells at bay in the periphery.** *Nat Rev Immunol* 2002, **2**(1):11-19.
21. Kamradt T, Mitchison NA: **Tolerance and autoimmunity.** *N Engl J Med* 2001, **344**(9):655-664.

22. Dhein J, Walczak H, Baumler C, Debatin KM, Krammer PH: **Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD95)**. *Nature* 1995, **373**(6513):438-441.
23. Brunner T, Mogil RJ, LaFace D, Yoo NJ, Mahboubi A, Echeverri F, Martin SJ, Force WR, Lynch DH, Ware CF *et al*: **Cell-autonomous Fas (CD95)/Fas-ligand interaction mediates activation-induced apoptosis in T-cell hybridomas**. *Nature* 1995, **373**(6513):441-444.
24. Buer J, Lanoue A, Franzke A, Garcia C, von Boehmer H, Sarukhan A: **Interleukin 10 secretion and impaired effector function of major histocompatibility complex class II-restricted T cells anergized in vivo**. *J Exp Med* 1998, **187**(2):177-183.
25. Shevach EM: **Regulatory T cells in autoimmunity***. *Annu Rev Immunol* 2000, **18**:423-449.
26. Chambers CA, Allison JP: **Costimulatory regulation of T cell function**. *Curr Opin Cell Biol* 1999, **11**(2):203-210.
27. Miller SD, Vanderlugt CL, Begolka WS, Pao W, Yauch RL, Neville KL, Katz-Levy Y, Carrizosa A, Kim BS: **Persistent infection with Theiler's virus leads to CNS autoimmunity via epitope spreading**. *Nat Med* 1997, **3**(10):1133-1136.
28. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T: **Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells**. *J Immunol* 2000, **165**(11):6107-6115.
29. Cella M, Salio M, Sakakibara Y, Langen H, Julkunen I, Lanzavecchia A: **Maturation, activation, and protection of dendritic cells induced by double-stranded RNA**. *J Exp Med* 1999, **189**(5):821-829.
30. Perron H, Garson JA, Bedin F, Beseme F, Paranhos-Baccala G, Komurian-Pradel F, Mallet F, Tuke PW, Voisset C, Blond JL *et al*: **Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis**. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997, **94**(14):7583-7588.
31. Marrack P, Kappler J, Kotzin BL: **Autoimmune disease: why and where it occurs**. *Nat Med* 2001, **7**(8):899-905.
32. Goodnow CC: **Pathways for self-tolerance and the treatment of autoimmune diseases**. *Lancet* 2001, **357**(9274):2115-2121.
33. Roit I, Brostoff J, D. M: **Cell cooperation in the antibody response - Cell-mediated immune response - Immunological tolerance - Autoimmunity and autoimmune diseases**. In: Roit I (Ed). *Immunology*, 4th edition, Mosby 1996.
34. Hahn BH: **Antibodies to DNA**. *N Engl J Med* 1998, **338**(19):1359-1368.
35. Naparstek Y, Plotz PH: **The role of autoantibodies in autoimmune disease**. *Annu Rev Immunol* 1993, **11**:79-104.
36. Korganow AS, Ji H, Mangialaio S, Duchatelle V, Pelanda R, Martin T, Degott C, Kikutani H, Rajewsky K, Pasquali JL *et al*: **From systemic T cell self-reactivity to organ-specific autoimmune disease via immunoglobulins**. *Immunity* 1999, **10**(4):451-461.
37. Matsumoto I, Staub A, Benoist C, Mathis D: **Arthritis provoked by linked T and B cell recognition of a glycolytic enzyme**. *Science* 1999, **286**(5445):1732-1735.

38. Peter JB: **Antinuclear antibodies.** In: **Use and interpretation of tests in clinical immunology.** 8th edition Specialty Laboratories Inc, Santa Monica, USA 1991:13, 57-58, 190-191.
39. Ζέρβα Λ: **Ανίχνευση αντιπυρηνικών αντισωμάτων με την μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού.** *Ανοσολογία-Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα Μουτσόπουλος ΧΜ, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας* 1990:225-231.
40. Ward MM: **Laboratory testing for systemic rheumatic diseases.** *Postgrad Med* 1998, **103**(2):93-100.
41. Casiano CA, Tan EM: **Recent developments in the understanding of antinuclear autoantibodies.** *Int Arch Allergy Immunol* 1996, **111**(4):308-313.
42. Dalekos GN, Manoussakis MN, Zervou E, Tsianos EV, Moutsopoulos HM: **Immunologic and viral markers in the circulation of anti-HIV negative heroin addicts.** *Eur J Clin Invest* 1993, **23**(4):219-225.
43. Dalekos GN, Manoussakis MN, Merkouropoulos M: **Autoimmunity and cellular activation before and after-interferon administration in patients with chronic viral hepatitis. A preliminary study.** *Hel J Gastroenterol* 1993, **6**:166-171.
44. Goodwin JS, Searles RP, Tung KS: **Immunological responses of healthy elderly population.** *Clin Exp Immunol* 1982, **48**(2):403-410.
45. ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, Limburg PC, Kallenberg CG: **Measurement of increases in anti-double-stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation in systemic lupus erythematosus. A long-term, prospective study.** *Arthritis Rheum* 1990, **33**(5):634-643.
46. Τζιούφας ΑΓ: **Αντισώματα κατά δεοξυριβονουκλεικού οξέος (DNA) στο: Ανοσολογία-Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, Μουτσόπουλος ΧΜ.** *Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα* 1990:285-300.
47. Brinkman K, Termaat R, Van den Brink H, Berden J, Smeenk R: **The specificity of the anti-dsDNA ELISA. A closer look.** *J Immunol Methods* 1991, **139**(1):91-100.
48. Tzioufas AG, Manoussakis MN, Drosos AA, Silis G, Gharavi AE, Moutsopoulos HM: **Enzyme immunoassays for the detection of IgG and IgM anti-dsDNA antibodies: clinical significance and specificity.** *Clin Exp Rheumatol* 1987, **5**(3):247-253.
49. Tzioufas AG, Terzoglou C, Stavropoulos ED, Athanasiadou S, Moutsopoulos HM: **Determination of anti-ds-DNA antibodies by three different methods: comparison of sensitivity, specificity and correlation with lupus activity index (LAI).** *Clin Rheumatol* 1990, **9**(2):186-192.
50. van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, van der Giessen M, van der Hem GK, The TH: **Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis.** *Lancet* 1985, **1**(8426):425-429.
51. van der Geld YM, Limburg PC, Kallenberg CG: **Proteinase 3, Wegener's autoantigen: from gene to antigen.** *J Leukoc Biol* 2001, **69**(2):177-190.

52. Γούσια ΑΧ, Μανουσάκης ΜΝ, Γερμανίδης Γ: **Αντισώματα κατά αντιγόνων κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα.** *Ελλ Ρευματολογία* 1991(3):121-130.
53. Falk RJ, Jennette JC: **Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis.** *N Engl J Med* 1988, **318**(25):1651-1657.
54. Bretz U, Baggiolini M: **Biochemical and morphological characterization of azurophil and specific granules of human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes.** *J Cell Biol* 1974, **63**(1):251-269.
55. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC: **Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing.** *Blood* 1998, **92**(9):3007-3017.
56. Gallicchio MC, Savige JA: **Detection of anti-myeloperoxidase and anti-elastase antibodies in vasculitides and infections.** *Clin Exp Immunol* 1991, **84**(2):232-237.
57. Gueirard P, Delpech A, Gilbert D, Godin M, Le Loet X, Tron F: **Anti-myeloperoxidase antibodies: immunological characteristics and clinical associations.** *J Autoimmun* 1991, **4**(3):517-527.
58. Gayraud M, Guillevin L, le Toumelin P, Cohen P, Lhote F, Casassus P, Jarrousse B: **Long-term followup of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, and Churg-Strauss syndrome: analysis of four prospective trials including 278 patients.** *Arthritis Rheum* 2001, **44**(3):666-675.
59. Bartunkova J, Tesar V, Sediva A: **Diagnostic and pathogenetic role of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies.** *Clin Immunol* 2003, **106**(2):73-82.
60. Falk RJ, Jennette JC: **ANCA are pathogenic--oh yes they are!** *J Am Soc Nephrol* 2002, **13**(7):1977-1979.
61. Muller Kobold AC, Kallenberg CG, Tervaert JW: **Leucocyte membrane expression of proteinase 3 correlates with disease activity in patients with Wegener's granulomatosis.** *Br J Rheumatol* 1998, **37**(8):901-907.
62. Gaskin G, Savage CO, Ryan JJ, Jones S, Rees AJ, Lockwood CM, Pusey CD: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and disease activity during long-term follow-up of 70 patients with systemic vasculitis.** *Nephrol Dial Transplant* 1991, **6**(10):689-694.
63. Halbwachs-Mecarelli L, Nusbaum P, Noel LH, Reumaux D, Erlinger S, Grunfeld JP, Lesavre P: **Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against cathepsin G in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis.** *Clin Exp Immunol* 1992, **90**(1):79-84.
64. Peen E, Almer S, Bodemar G, Ryden BO, Sjolín C, Tejle K, Skogh T: **Anti-lactoferrin antibodies and other types of ANCA in ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and Crohn's disease.** *Gut* 1993, **34**(1):56-62.
65. Schmitt WH, Csernok E, Flesch BK, Hauschild S, Gross WL: **Autoantibodies directed against lysozyme: a new target antigen**

- for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Adv Exp Med Biol* 1993, **336**:267-272.
66. Hauschild S, Schmitt WH, Csernok E, Flesch BK, Rautmann A, Gross WL: **ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases**. *Adv Exp Med Biol* 1993, **336**:245-251.
 67. Roozendaal C, Zhao MH, Horst G, Lockwood CM, Kleibeuker JH, Limburg PC, Nelis GF, Kallenberg CG: **Catalase and alpha-enolase: two novel granulocyte autoantigens in inflammatory bowel disease (IBD)**. *Clin Exp Immunol* 1998, **112**(1):10-16.
 68. Stoffel MP, Csernok E, Herzberg C, Johnson T, Carroll SF, Gross WL: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders**. *Clin Exp Immunol* 1996, **104**(1):54-59.
 69. Cooper T, Savige J, Nassis L, Paspaliaris B, Neeson P, Neil J, Knight KR, Daskalakis M, Doery JC: **Clinical associations and characterisation of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against bactericidal/permeability-increasing protein and azurocidin**. *Rheumatol Int* 2000, **19**(4):129-136.
 70. Nassberger L, Ljungh A, Schumacher G, Kollberg B: **beta-Glucuronidase antibodies in ulcerative colitis**. *Lancet* 1992, **340**(8821):734-735.
 71. Eggena M, Cohavy O, Parseghian MH, Hamkalo BA, Clemens D, Targan SR, Gordon LK, Braun J: **Identification of histone H1 as a cognate antigen of the ulcerative colitis-associated marker antibody pANCA**. *J Autoimmun* 2000, **14**(1):83-97.
 72. Sobajima J, Ozaki S, Uesugi H, Osakada F, Inoue M, Fukuda Y, Shirakawa H, Yoshida M, Rokuhara A, Imai H *et al*: **High mobility group (HMG) non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 are significant target antigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune hepatitis**. *Gut* 1999, **44**(6):867-873.
 73. Terjung B, Herzog V, Worman HJ, Gestmann I, Bauer C, Sauerbruch T, Spengler U: **Atypical antineutrophil cytoplasmic antibodies with perinuclear fluorescence in chronic inflammatory bowel diseases and hepatobiliary disorders colocalize with nuclear lamina proteins**. *Hepatology* 1998, **28**(2):332-340.
 74. Rump JA, Scholmerich J, Gross V, Roth M, Helfesrieder R, Rautmann A, Ludemann J, Gross WL, Peter HH: **A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease**. *Immunobiology* 1990, **181**(4-5):406-413.
 75. Lesavre P, Noel LH, Gayno S, Nusbaum P, Reumaux D, Erlinger S, Grunfeld JP, Halbwachs-Mecarelli L: **Atypical autoantigen targets of perinuclear antineutrophil cytoplasm antibodies (P-ANCA): specificity and clinical associations**. *J Autoimmun* 1993, **6**(2):185-195.
 76. Terjung B, Worman HJ, Herzog V, Sauerbruch T, Spengler U: **Differentiation of antineutrophil nuclear antibodies in**

- inflammatory bowel and autoimmune liver diseases from antineutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) using immunofluorescence microscopy.** *Clin Exp Immunol* 2001, **126**(1):37-46.
77. Γερμενής Α: **Διαγνωστική Ανοσολογία.** Λάρισα; 2002.
 78. De Clerck LS, Van Offel JF, Smolders WA, Empsten FA, Bridts CH, Bourgeois N, Van Marck E, Timmermans U, Stevens WJ: **Pitfalls with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).** *Clin Rheumatol* 1989, **8**(4):512-516.
 79. Davenport A: **"False positive" perinuclear and cytoplasmic anti-neutrophil cytoplasmic antibody results leading to misdiagnosis of Wegener's granulomatosis and/or microscopic polyarteritis.** *Clin Nephrol* 1992, **37**(3):124-130.
 80. Dalekos GN, Tsianos EV: **Anti-neutrophil antibodies in chronic viral hepatitis.** *J Hepatol* 1994, **20**(4):561.
 81. Targan SR, Landers C, Vidrich A, Czaja AJ: **High-titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1995, **108**(4):1159-1166.
 82. Vidrich A, Lee J, James E, Cobb L, Targan S: **Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type 1 autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis.** *J Clin Immunol* 1995, **15**(6):293-299.
 83. Savige JA, Gallicchio MC, Stockman A, Cunningham TJ, Rowley MJ, Georgiou T, Davies D: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in rheumatoid arthritis.** *Clin Exp Immunol* 1991, **86**(1):92-98.
 84. Bakkaloglu A, Ozen S, Saatci U, Erguven S, Topaloglu R, Bassoy Y, Besbas N: **Antineutrophil cytoplasmic antibodies in juvenile chronic arthritis.** *Clin Rheumatol* 1999, **18**(4):304-307.
 85. Zhao MH, Jayne DR, Ardiles LG, Culley F, Hodson ME, Lockwood CM: **Autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein in patients with cystic fibrosis.** *Qjm* 1996, **89**(4):259-265.
 86. Dalekos GN, Manoussakis MN, Goussia AC, Tsianos EV, Moutsopoulos HM: **Soluble interleukin-2 receptors, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and other autoantibodies in patients with ulcerative colitis.** *Gut* 1993, **34**(5):658-664.
 87. Vasilias EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, Rotter JI, Vidrich A, Targan SR: **Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup.** *Gastroenterology* 1996, **110**(6):1810-1819.
 88. Yahya TM, Benedict S, Shalabi A, Bayoumi R: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in malaria is directed against cathepsin G.** *Clin Exp Immunol* 1997, **110**(1):41-44.
 89. Pudifin DJ, Duursma J, Gathiram V, Jackson TF: **Invasive amoebiasis is associated with the development of anti-neutrophil cytoplasmic antibody.** *Clin Exp Immunol* 1994, **97**(1):48-51.
 90. Klaassen RJ, Goldschmeding R, Dolman KM, Vlekke AB, Weigel HM, Eeftinck Schattenkerk JK, Mulder JW, Westedt ML, von dem Borne AE: **Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with symptomatic HIV infection.** *Clin Exp Immunol* 1992, **87**(1):24-30.

91. Choi HK, Lamprecht P, Niles JL, Gross WL, Merkel PA: **Subacute bacterial endocarditis with positive cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-proteinase 3 antibodies.** *Arthritis Rheum* 2000, **43**(1):226-231.
92. Nassberger L, Sjöholm AG, Jonsson H, Sturfelt G, Akesson A: **Autoantibodies against neutrophil cytoplasm components in systemic lupus erythematosus and in hydralazine-induced lupus.** *Clin Exp Immunol* 1990, **81**(3):380-383.
93. Spronk PE, Bootsma H, Horst G, Huitema MG, Limburg PC, Tervaert JW, Kallenberg CG: **Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus.** *Br J Rheumatol* 1996, **35**(7):625-631.
94. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Fairfax A, Swana G, Doniach D, Groeschel-Stewart U: **Classification of smooth muscle autoantibodies detected by immunofluorescence.** *J Clin Pathol* 1976, **29**(5):403-410.
95. Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN: **Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease.** *J Autoimmune Dis* 2004, **1**(1):2.
96. Zamanou A, Tsirogianni A, Terzoglou C, Balafas A, Economidou I, Lymberi P: **Anti-smooth muscle antibodies (ASMAs) and anti-cytoskeleton antibodies (ACTAs) in liver diseases: a comparison of classical indirect immunofluorescence with ELISA.** *J Clin Lab Anal* 2002, **16**(4):194-201.
97. Lopez SI, Seia J, Roy A, Cuarterolo M, Canero V, Maria C, Zelazko M, Ciocca M: **[Anti-actin antibodies in acute viral hepatitis A in children].** *Acta Gastroenterol Latinoam* 1998, **28**(3):261-264.
98. Gregorio GV, Choudhuri K, Ma Y, Vegnente A, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Mimicry between the hepatitis B virus DNA polymerase and the antigenic targets of nuclear and smooth muscle antibodies in chronic hepatitis B virus infection.** *J Immunol* 1999, **162**(3):1802-1810.
99. Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Muratori P, Giostra F, Francesconi R, Muratori L, Lenzi M, Bianchi G, Zauli D *et al*: **Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile.** *Hepatology* 1997, **26**(3):561-566.
100. Toh BH, Yildiz A, Sotelo J, Osung O, Holborow EJ, Kanakoudi F, Small JV: **Viral infections and IgM autoantibodies to cytoplasmic intermediate filaments.** *Clin Exp Immunol* 1979, **37**(1):76-82.
101. Holborow EJ, Hemsted EH, Mead SV: **Smooth muscle autoantibodies in infectious mononucleosis.** *Br Med J* 1973, **3**(5875):323-325.
102. Toh BH: **Anti-cytoskeletal autoantibodies: diagnostic significance for liver diseases, infections and systemic autoimmune diseases.** *Autoimmunity* 1991, **11**(2):119-125.
103. Whitehouse JM, Holborow EJ: **Smooth muscle antibody in malignant disease.** *Br Med J* 1971, **4**(786):511-513.

104. Teubner A, Tillmann HL, Schuppan D, Gericke G, Manns MP, Stolzel U: **[Prevalence of circulating autoantibodies in healthy individuals]**. *Med Klin (Munich)* 2002, **97**(11):645-649.
105. Shu S, Nisengard RJ, Hale WL, Beutner EH: **Incidence and titers of antinuclear, antismooth muscle, and other autoantibodies in blood donors**. *J Lab Clin Med* 1975, **86**(2):259-265.
106. Kurki P, Miettinen A, Salaspuro M, Virtanen I, Stenman S: **Cytoskeleton antibodies in chronic active hepatitis, primary biliary cirrhosis, and alcoholic liver disease**. *Hepatology* 1983, **3**(3):297-302.
107. Gleeson PA, Toh BH: **Molecular targets in pernicious anaemia**. *Immunol Today* 1991, **12**(7):233-238.
108. Callaghan JM, Khan MA, Alderuccio F, van Driel IR, Gleeson PA, Toh BH: **Alpha and beta subunits of the gastric H⁺/K⁺-ATPase are concordantly targeted by parietal cell autoantibodies associated with autoimmune gastritis**. *Autoimmunity* 1993, **16**(4):289-295.
109. Burman P, Karlsson FA, Loof L, Axelsson CK, Szesci PB, Borch K: **H⁺,K-ATPase antibodies in autoimmune gastritis: observations on the development of pernicious anemia**. *Scand J Gastroenterol* 1991, **26**(2):207-214.
110. Ungar B, Stocks AE, Martin FI, Whittingham S, Mackay IR: **Intrinsic-factor antibody, parietal-cell antibody, and latent pernicious anaemia in diabetes mellitus**. *Lancet* 1968, **2**(7565):415-417.
111. De Block CE, De Leeuw IH, Bogers JJ, Pelckmans PA, Ieven MM, Van Marck EA, Van Acker KL, Van Gaal LF: **Autoimmune gastropathy in type 1 diabetic patients with parietal cell antibodies: histological and clinical findings**. *Diabetes Care* 2003, **26**(1):82-88.
112. De Block CE, De Leeuw IH, Decochez K, Winnock F, Van Autreve J, Van Campenhout CM, Martin M, Gorus FK: **The presence of thyrogastric antibodies in first degree relatives of type 1 diabetic patients is associated with age and proband antibody status**. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, **86**(9):4358-4363.
113. Jassel SV, Ardill JE, Fillmore D, Bamford KB, O'Connor FA, Buchanan KD: **The rise in circulating gastrin with age is due to increases in gastric autoimmunity and Helicobacter pylori infection**. *Qjm* 1999, **92**(7):373-377.
114. Dickey W, Kenny BD, McMillan SA, Porter KG, McConnell JB: **Gastric as well as duodenal biopsies may be useful in the investigation of iron deficiency anaemia**. *Scand J Gastroenterol* 1997, **32**(5):469-472.
115. Burman P, Kampe O, Kraaz W, Loof L, Smolka A, Karlsson A, Karlsson-Parra A: **A study of autoimmune gastritis in the postpartum period and at a 5-year follow-up**. *Gastroenterology* 1992, **103**(3):934-942.
116. Rappel S, Muller H, Stolte M: **[Active pre-atrophic autoimmune gastritis. A practice-oriented concept for diagnosis and treatment]**. *Pathologe* 2001, **22**(1):19-24.
117. Vorobjova T, Faller G, Maaros HI, Sipponen P, Villako K, Uibo R, Kirchner T: **Significant increase in antigastric autoantibodies in a long-term follow-up study of H. pylori gastritis**. *Virchows Arch* 2000, **437**(1):37-45.

118. Annibale B, Negrini R, Caruana P, Lahner E, Grossi C, Bordi C, Delle Fave G: **Two-thirds of atrophic body gastritis patients have evidence of *Helicobacter pylori* infection.** *Helicobacter* 2001, **6(3):225-233.**
119. Ito M, Haruma K, Kaya S, Kamada T, Kim S, Sasaki A, Sumii M, Tanaka S, Yoshihara M, Chayama K: **Role of anti-parietal cell antibody in *Helicobacter pylori*-associated atrophic gastritis: evaluation in a country of high prevalence of atrophic gastritis.** *Scand J Gastroenterol* 2002, **37(3):287-293.**
120. Amedei A, Bergman MP, Appelmek BJ, Azzurri A, Benagiano M, Tamburini C, van der Zee R, Telford JL, Vandenbroucke-Grauls CM, D'Elios MM *et al*: **Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* antigens and H⁺, K⁺ --adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity.** *J Exp Med* 2003, **198(8):1147-1156.**
121. Presotto F, Sabini B, Cecchetto A, Plebani M, De Lazzari F, Pedini B, Betterle C: ***Helicobacter pylori* infection and gastric autoimmune diseases: is there a link?** *Helicobacter* 2003, **8(6):578-584.**
122. Fabbri C, Jaboli MF, Giovanelli S, Azzaroli F, Pezzoli A, Accogli E, Liva S, Nigro G, Miracolo A, Festi D *et al*: **Gastric autoimmune disorders in patients with chronic hepatitis C before, during and after interferon-alpha therapy.** *World J Gastroenterol* 2003, **9(7):1487-1490.**
123. Gatselis NK, Georgiadou SP, Tassopoulos N, Zachou K, Liaskos C, Hatzakis A, Dalekos GN: **Impact of parietal cell autoantibodies and non-organ-specific autoantibodies on the treatment outcome of patients with hepatitis C virus infection: a pilot study.** *World J Gastroenterol* 2005, **11(4):482-487.**
124. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE: **The anticardiolipin syndrome.** *J Rheumatol* 1986, **13(3):486-489.**
125. McIntyre JA, Wagenknecht DR, Faulk WP: **Antiphospholipid antibodies: discovery, definitions, detection and disease.** *Prog Lipid Res* 2003, **42(3):176-237.**
126. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR *et al*: **International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop.** *Arthritis Rheum* 1999, **42(7):1309-1311.**
127. Asherson RA: **The catastrophic antiphospholipid syndrome.** *J Rheumatol* 1992, **19(4):508-512.**
128. Asherson RA: **The Catastrophic Antiphospholipid (Asherson's) Syndrome in 2004-a review.** *Autoimmun Rev* 2005, **4(1):48-54.**
129. Hayem G, Kassis N, Nicaise P, Bouvet P, Andremont A, Labarre C, Kahn MF, Meyer O: **Systemic lupus erythematosus-associated catastrophic antiphospholipid syndrome occurring after typhoid fever: a possible role of *Salmonella* lipopolysaccharide in the occurrence of diffuse vasculopathy-coagulopathy.** *Arthritis Rheum* 1999, **42(5):1056-1061.**
130. Pangborn M: **A new serologically active phospholipid from beef hart.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1941, **48:484-486.**

131. Moore J, Lutz W: **The natural history of systemic lupus erythematosus: an approach to its study through chronic biologic false positive reactions.** *J Chronic Dis* 1955, **1**:297-316.
132. Haserick J, Long R: **Systemic lupus erythematosus preceded by false-positive serologic tests for syphilis: presentation of five cases.** *Ann Int Med* 1951, **37**:559-565.
133. Fiumara N: **Biologic false-positive reaction to syphilis.** *N Engl J Med* 1963, **268**:402-405.
134. Moore J, Mohr C: **Biologically false positive serologic test for siphilis; type, incidence and cause.** *JAMA* 1952, **150**:467-473.
135. Catterall R: **Collagen disease and chronic biologic false positive phenomenon.** *Q J Med* 1961, **30**:41-55.
136. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S, Hughes GR: **Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus.** *Lancet* 1983, **2**(8361):1211-1214.
137. Gharavi AE, Harris EN, Asherson RA, Hughes GR: **Anticardiolipin antibodies: isotype distribution and phospholipid specificity.** *Ann Rheum Dis* 1987, **46**(1):1-6.
138. Conley C, Hartmann R: **A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with dis-seminated lupue erythematosus.** *J Clin Invest* 1952, **31**:621-622.
139. Frick P: **Acquired circulating anticoagulants in systemic "collagen disease". Autoimmune thromboplastin deficiency.** *Blood* 1955, **10**:691-706.
140. Laurell A, IM. N: **Hypergammaglobulinemia, circulating anticoagulant and biologic falsepositive Wassermann reaction. A study in two cases.** *J Lab Clin Med* 1957, **49**:694-707.
141. Regan M, Lackner H, Karpatkin S: **Platelet function and coagulation profile in lupuserythematosus. Studies in 50 patients.** *Ann Int Med* 1974, **81**:462-468.
142. Boey M, Colaco C, Gharavi AE, Elcon KB, Loizou S, Hughes GR: **Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking associaion with the presence of irculating lupus anticoagulant.** *Br Med J* 1983, **287**:1021-1023.
143. Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, Barbui T, Zwaal RF, Bevers EM: **Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor.** *Lancet* 1990, **335**(8705):1544-1547.
144. Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T: **Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease.** *Lancet* 1990, **336**(8708):177-178.
145. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA: **Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H).** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, **87**(11):4120-4124.
146. Wagenknecht DR, McIntyre JA: **Changes in beta 2-glycoprotein I antigenicity induced by phospholipid binding.** *Thromb Haemost* 1993, **69**(4):361-365.

147. Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RF: **Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin.** *Thromb Haemost* 1991, **66**(6):629-632.
148. Matsuda J, Saitoh N, Gohchi K, Gotoh M, Tsukamoto M: **Anti-annexin V antibody in systemic lupus erythematosus patients with lupus anticoagulant and/or anticardiolipin antibody.** *Am J Hematol* 1994, **47**(1):56-58.
149. Oosting JD, Derksen RH, Bobbink IW, Hackeng TM, Bouma BN, de Groot PG: **Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism?** *Blood* 1993, **81**(10):2618-2625.
150. Pengo V, Biasiolo A, Brocco T, Tonetto S, Ruffatti A: **Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins in patients with thrombosis and phospholipid-reactive antibodies.** *Thromb Haemost* 1996, **75**(5):721-724.
151. Sugi T, McIntyre JA: **Autoantibodies to phosphatidylethanolamine (PE) recognize a kininogen-PE complex.** *Blood* 1995, **86**(8):3083-3089.
152. Rampazzo P, Biasiolo A, Garin J, Rosato A, Betterle C, Ruffatti A, Pengo V: **Some patients with antiphospholipid syndrome express hitherto undescribed antibodies to cardiolipin-binding proteins.** *Thromb Haemost* 2001, **85**(1):57-62.
153. Willems GM, Janssen MP, Pelsers MM, Comfurius P, Galli M, Zwaal RF, Bevers EM: **Role of divalency in the high-affinity binding of anticardiolipin antibody-beta 2-glycoprotein I complexes to lipid membranes.** *Biochemistry* 1996, **35**(43):13833-13842.
154. Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, Gries A, Kostner GM, Laggner P, Prassl R: **Crystal structure of human beta2-glycoprotein I: implications for phospholipid binding and the antiphospholipid syndrome.** *Embo J* 1999, **18**(22):6228-6239.
155. Bouma B, de Groot PG, van den Elsen JM, Ravelli RB, Schouten A, Simmelink MJ, Derksen RH, Kroon J, Gros P: **Adhesion mechanism of human beta(2)-glycoprotein I to phospholipids based on its crystal structure.** *Embo J* 1999, **18**(19):5166-5174.
156. Hammel M, Kriechbaum M, Gries A, Kostner GM, Laggner P, Prassl R: **Solution structure of human and bovine beta(2)-glycoprotein I revealed by small-angle X-ray scattering.** *J Mol Biol* 2002, **321**(1):85-97.
157. Miyakis S, Giannakopoulos B, Krilis SA: **Beta 2 glycoprotein I- function in health and disease.** *Thromb Res* 2004, **114**(5-6):335-346.
158. Sheng Y, Sali A, Herzog H, Lahnstein J, Krilis SA: **Site-directed mutagenesis of recombinant human beta 2-glycoprotein I identifies a cluster of lysine residues that are critical for phospholipid binding and anti-cardiolipin antibody activity.** *J Immunol* 1996, **157**(8):3744-3751.
159. Lee AT, Balasubramanian K, Schroit AJ: **beta(2)-glycoprotein I-dependent alterations in membrane properties.** *Biochim Biophys Acta* 2000, **1509**(1-2):475-484.

160. Sanghera DK, Wagenknecht DR, McIntyre JA, Kamboh MI: **Identification of structural mutations in the fifth domain of apolipoprotein H (beta 2-glycoprotein I) which affect phospholipid binding.** *Hum Mol Genet* 1997, **6**(2):311-316.
161. Probert DN: **The relation of sex, smoking status, birth rank, and parental age to beta2-glycoprotein I levels and phenotypes in a sample of Australian Caucasian adults.** *Hum Genet* 1978, **43**(3):281-288.
162. Brighton TA, Hogg PJ, Dai YP, Murray BH, Chong BH, Chesterman CN: **Beta 2-glycoprotein I in thrombosis: evidence for a role as a natural anticoagulant.** *Br J Haematol* 1996, **93**(1):185-194.
163. Koike T, Ichikawa K, Atsumi T, Kasahara H, Matsuura E: **Beta 2-glycoprotein I-anti-beta 2-glycoprotein I interaction.** *J Autoimmun* 2000, **15**(2):97-100.
164. Manfredi AA, Rovere P, Heltai S, Galati G, Nebbia G, Tincani A, Balestrieri G, Sabbadini MG: **Apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. II. Role of beta2-glycoprotein I.** *Arthritis Rheum* 1998, **41**(2):215-223.
165. Balasubramanian K, Schroit AJ: **Characterization of phosphatidylserine-dependent beta2-glycoprotein I macrophage interactions. Implications for apoptotic cell clearance by phagocytes.** *J Biol Chem* 1998, **273**(44):29272-29277.
166. George J, Harats D, Gilburd B, Afek A, Levy Y, Schneiderman J, Barshack I, Kopolovic J, Shoenfeld Y: **Immunolocalization of beta2-glycoprotein I (apolipoprotein H) to human atherosclerotic plaques: potential implications for lesion progression.** *Circulation* 1999, **99**(17):2227-2230.
167. Bas de Laat H, Derksen RH, de Groot PG: **beta2-glycoprotein I, the playmaker of the antiphospholipid syndrome.** *Clin Immunol* 2004, **112**(2):161-168.
168. Lutters BC, Meijers JC, Derksen RH, Arnout J, de Groot PG: **Dimers of beta 2-glycoprotein I mimic the in vitro effects of beta 2-glycoprotein I-anti-beta 2-glycoprotein I antibody complexes.** *J Biol Chem* 2001, **276**(5):3060-3067.
169. Iverson GM, Reddel S, Victoria EJ, Cockerill KA, Wang YX, Marti-Renom MA, Sali A, Marquis DM, Krilis SA, Linnik MD: **Use of single point mutations in domain I of beta 2-glycoprotein I to determine fine antigenic specificity of antiphospholipid autoantibodies.** *J Immunol* 2002, **169**(12):7097-7103.
170. Samarkos M, Asherson RA, Loizou S: **The clinical significance of IgA antiphospholipid antibodies.** *J Rheumatol* 2001, **28**(4):694-697.
171. Harris EN, Gharavi AE, Hughes GR: **Anti-phospholipid antibodies.** *Clin Rheum Dis* 1985, **11**(3):591-609.
172. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Loury I, Loustaud-Ratti V, Yamamoto AM, Camproux AC, Hausfater P, Musset L *et al*: **Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatite C.** *Medicine (Baltimore)* 2000, **79**(1):47-56.

173. Harada M, Fujisawa Y, Sakisaka S, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sakamoto M, Sumie S, Sasatomi K, Koga H, Torimura T *et al*: **High prevalence of anticardiolipin antibodies in hepatitis C virus infection: lack of effects on thrombocytopenia and thrombotic complications.** *J Gastroenterol* 2000, **35**(4):272-277.
174. Ordi-Ros J, Villarreal J, Monegal F, Sauleda S, Esteban I, Vilardell M: **Anticardiolipin antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: characterization in relation to antiphospholipid syndrome.** *Clin Diagn Lab Immunol* 2000, **7**(2):241-244.
175. Leroy V, Arvieux J, Jacob MC, Maynard-Muet M, Baud M, Zarski JP: **Prevalence and significance of anticardiolipin, anti-beta2 glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in chronic hepatitis C.** *Br J Haematol* 1998, **101**(3):468-474.
176. Sthoeger ZM, Fogel M, Smirov A, Ergas D, Lurie Y, Bass DD, Geltner D, Malnick SD: **Anticardiolipin autoantibodies in serum samples and cryoglobulins of patients with chronic hepatitis C infection.** *Ann Rheum Dis* 2000, **59**(6):483-486.
177. Dalekos GN, Kistis KG, Boumba DS, Voulgari P, Zervou EK, Drosos AA, Tsianos EV: **Increased incidence of anti-cardiolipin antibodies in patients with hepatitis C is not associated with aetiopathogenetic link to anti-phospholipid syndrome.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000, **12**(1):67-74.
178. Baid S, Pascual M, Williams WW, Jr., Tolkoff-Rubin N, Johnson SM, Collins B, Chung RT, Delmonico FL, Cosimi AB, Colvin RB: **Renal thrombotic microangiopathy associated with anticardiolipin antibodies in hepatitis C-positive renal allograft recipients.** *J Am Soc Nephrol* 1999, **10**(1):146-153.
179. Malnick SD, Abend Y, Evron E, Sthoeger ZM: **HCV hepatitis associated with anticardiolipin antibody and a cerebrovascular accident. Response to interferon therapy.** *J Clin Gastroenterol* 1997, **24**(1):40-42.
180. Prieto J, Yuste JR, Beloqui O, Civeira MP, Riezu JI, Aguirre B, Sangro B: **Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis C: implication of hepatitis C virus as the cause of the antiphospholipid syndrome.** *Hepatology* 1996, **23**(2):199-204.
181. Dalekos GN, Zachou K, Liaskos C: **The antiphospholipid syndrome and infection.** *Curr Rheumatol Rep* 2001, **3**(4):277-285.
182. Cacoub P, Musset L, Amoura Z, Guilani P, Chabre H, Lunel F, Poynard T, Opolon P, Piette JC: **Anticardiolipin, anti-beta2-glycoprotein I, and antinucleosome antibodies in hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia.** *Multivirc Group. J Rheumatol* 1997, **24**(11):2139-2144.
183. Matsuda J, Saitoh N, Gotoh M, Gohchi K, Tsukamoto M, Syoji S, Miyake K, Yamanaka M: **High prevalence of anti-phospholipid antibodies and anti-thyroglobulin antibody in patients with hepatitis C virus infection treated with interferon-alpha.** *Am J Gastroenterol* 1995, **90**(7):1138-1141.
184. Mangia A, Margaglione M, Cascavilla I, Gentile R, Cappucci G, Facciorusso D, Grandone E, Di Minno G, Rizzetto M, Andriulli A:

- Anticardiolipin antibodies in patients with liver disease.** *Am J Gastroenterol* 1999, **94**(10):2983-2987.
185. Giordano P, Galli M, Del Vecchio G: **Lupus anticoagulant, anticardiolipin antibodies and hepatitis C virus infection in thalassaemia.** *Br J Haematol* 1998, **102**:903-906.
186. Biron C, Andreani H, Blanc P, Ramos J, Ducos J, Guigue N, Michel H, Larrey D, Schved JF: **Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with chronic liver disease related to alcohol or hepatitis C virus: correlation with liver injury.** *J Lab Clin Med* 1998, **131**(3):243-250.
187. Munoz-Rodriguez FJ, Tassies D, Font J: **Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with antiphospholipid syndrome.** *J Hepatol* 1999, **30**:770-773.
188. al-Saeed A, Makris M, Malia RG, Preston FE, Greaves M: **The development of antiphospholipid antibodies in haemophilia is linked to infection with hepatitis C.** *Br J Haematol* 1994, **88**(4):845-848.
189. Zachou K, Liaskos C, Christodoulou DK, Kardasi M, Papadamou G, Gatselis N, Georgiadou SP, Tsianos EV, Dalekos GN: **Anti-cardiolipin antibodies in patients with chronic viral hepatitis are independent of beta2-glycoprotein I cofactor or features of antiphospholipid syndrome.** *Eur J Clin Invest* 2003, **33**(2):161-168.
190. Stimmler MM, Quismorio FP, Jr., McGehee WG, Boylen T, Sharma OP: **Anticardiolipin antibodies in acquired immunodeficiency syndrome.** *Arch Intern Med* 1989, **149**(8):1833-1835.
191. Coll Daroca J, Gutierrez-Cebollada J, Yazbeck H, Berges A, Rubies-Prat J: **Anticardiolipin antibodies and acquired immunodeficiency syndrome: prognostic marker or association with HIV infection?** *Infection* 1992, **20**(3):140-142.
192. Hassell KL, Kressin DC, Neumann A, Ellison R, Marlar RA: **Correlation of antiphospholipid antibodies and protein S deficiency with thrombosis in HIV-infected men.** *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994, **5**(4):455-462.
193. Constans J, Guerin V, Couchouron A, Seigneur M, Ryman A, Blann AD, Amiral J, Amara A, Peuchant E, Moreau JF *et al*: **Autoantibodies directed against phospholipids or human beta 2-glycoprotein I in HIV-seropositive patients: relationship with endothelial activation and antimalonic dialdehyde antibodies.** *Eur J Clin Invest* 1998, **28**(2):115-122.
194. Medina-Rodriguez F, Guzman C, Jara LJ, Hermida C, Alboukrek D, Cervera H, Miranda JM, Fraga A: **Rheumatic manifestations in human immunodeficiency virus positive and negative individuals: a study of 2 populations with similar risk factors.** *J Rheumatol* 1993, **20**(11):1880-1884.
195. Carreno L, Monteagudo I, Lopez-Longo FJ, Gonzalez C, Perez T, Rodriguez Mahou M, Samson J, Lapointe N: **Anticardiolipin antibodies in pediatric patients with human immunodeficiency virus.** *J Rheumatol* 1994, **21**(7):1344-1346.

196. Grunewald T, Burmester GR, Schuler-Maue W, Hiepe F, Buttgerit F: **Anti-phospholipid antibodies and CD5+ B cells in HIV infection.** *Clin Exp Immunol* 1999, **115**(3):464-471.
197. Falco M, Sorrenti A, Priori R, Luan FL, Pittoni V, Agresti MG, Valesini G: **Anti-cardiolipin antibodies in HIV infection are true antiphospholipids not associated with antiphospholipid syndrome.** *Ann Ital Med Int* 1993, **8**(3):171-174.
198. Matsuda J, Gohchi K, Hama H, Tsukamoto M, Saitoh N, Kinoshita T: **High prevalence of anti-cardiolipin antibody, C1q-, C3d-, and mRF-IgG immune complexes, and anti-nuclear antibody in hemophiliacs irrespective of infection with human immunodeficiency virus type 1.** *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993, **6**(10):1120-1124.
199. Petrovas C, Vlachoyiannopoulos PG, Kordossis T, Moutsopoulos HM: **Anti-phospholipid antibodies in HIV infection and SLE with or without anti-phospholipid syndrome: comparisons of phospholipid specificity, avidity and reactivity with beta2-GPI.** *J Autoimmun* 1999, **13**(3):347-355.
200. Keeling DM, Birley H, Machin SJ: **Multiple transient ischaemic attacks and a mild thrombotic stroke in a HIV-positive patient with anticardiolipin antibodies.** *Blood Coagul Fibrinolysis* 1990, **1**(3):333-335.
201. Cappell MS, Simon T, Tiku M: **Splenic infarction associated with anticardiolipin antibodies in a patient with acquired immunodeficiency syndrome.** *Dig Dis Sci* 1993, **38**(6):1152-1155.
202. Soweid AM, Hajjar RR, Hewan-Lowe KO, Gonzalez EB: **Skin necrosis indicating antiphospholipid syndrome in patient with AIDS.** *South Med J* 1995, **88**(7):786-788.
203. Sorice M, Pittoni V, Griggi T, Losardo A, Leri O, Magno MS, Misasi R, Valesini G: **Specificity of anti-phospholipid antibodies in infectious mononucleosis: a role for anti-cofactor protein antibodies.** *Clin Exp Immunol* 2000, **120**(2):301-306.
204. Yamazaki M, Asakura H, Kawamura Y, Ohka T, Endo M, Matsuda T: **Transient lupus anticoagulant induced by Epstein-Barr virus infection.** *Blood Coagul Fibrinolysis* 1991, **2**(6):771-774.
205. Loizou S, Cazabon JK, Walport MJ, Tait D, So AK: **Similarities of specificity and cofactor dependence in serum antiphospholipid antibodies from patients with human parvovirus B19 infection and from those with systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum* 1997, **40**(1):103-108.
206. Gratacos E, Torres PJ, Vidal J, Font J, Antolin E, Cararach V, Fortuny A: **Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in pregnancies complicated by parvovirus B19 infection.** *Prenat Diagn* 1995, **15**(12):1109-1113.
207. Mengarelli A, Minotti C, Palumbo G, Arcieri P, Gentile G, Iori AP, Arcese W, Mandelli F, Avvisati G: **High levels of antiphospholipid antibodies are associated with cytomegalovirus infection in unrelated bone marrow and cord blood allogeneic stem cell transplantation.** *Br J Haematol* 2000, **108**(1):126-131.

208. Uthman I, Tabbarah Z, Gharavi AE: **Hughes syndrome associated with cytomegalovirus infection.** *Lupus* 1999, **8**(9):775-777.
209. Labarca JA, Rabagliati RM, Radrigan FJ, Rojas PP, Perez CM, Ferres MV, Acuna GG, Bertin PA: **Antiphospholipid syndrome associated with cytomegalovirus infection: case report and review.** *Clin Infect Dis* 1997, **24**(2):197-200.
210. Wilson WA, Morgan Ost C, Barton EN, Smikle M, Hanchard B, Blattner WA, Doggett S, Gharavi AE: **IgA antiphospholipid antibodies in HTLV-1-associated tropical spastic paraparesis.** *Lupus* 1995, **4**(2):138-141.
211. Faghiri Z, Wilson WA, Taheri F, Barton EN, Morgan OS, Gharavi AE: **Antibodies to cardiolipin and beta2-glycoprotein-1 in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis.** *Lupus* 1999, **8**(3):210-214.
212. Jaeger U, Kapiotis S, Pabinger I, Puchhammer E, Kyrle PA, Lechner K: **Transient lupus anticoagulant associated with hypoprothrombinemia and factor XII deficiency following adenovirus infection.** *Ann Hematol* 1993, **67**(2):95-99.
213. Manco-Johnson MJ, Nuss R, Key N, Moertel C, Jacobson L, Meech S, Weinberg A, Lefkowitz J: **Lupus anticoagulant and protein S deficiency in children with postvaricella purpura fulminans or thrombosis.** *J Pediatr* 1996, **128**(3):319-323.
214. Peyton BD, Cutler BS, Stewart FM: **Spontaneous tibial artery thrombosis associated with varicella pneumonia and free protein S deficiency.** *J Vasc Surg* 1998, **27**(3):563-567.
215. Barcat D, Constans J, Seigneur M, Guerin V, Conri C: **[Deep venous thrombosis in an adult with varicella].** *Rev Med Interne* 1998, **19**(7):509-511.
216. McNally T, Purdy G, Mackie IJ, Machin SJ, Isenberg DA: **The use of an anti-beta 2-glycoprotein-I assay for discrimination between anticardiolipin antibodies associated with infection and increased risk of thrombosis.** *Br J Haematol* 1995, **91**(2):471-473.
217. Yanez A, Cedillo L, Neyrolles O, Alonso E, Prevost MC, Rojas J, Watson HL, Blanchard A, Cassell GH: **Mycoplasma penetrans bacteremia and primary antiphospholipid syndrome.** *Emerg Infect Dis* 1999, **5**(1):164-167.
218. Blank M, Eisenstein M, Asherson RA, Cervera R, Shoenfeld Y: **the infectious origin of the antiphospholipid syndrome In: infection and autoimmunity. Shoenfeld Y and Rose N.R. ELSEVIER. 2004.**
219. McNeil HP, Krillis SA: **Antiphospholipid antibodies.** *Aust N Z J Med* 1991, **21**(4):463-475.
220. Yannitsi SG, Manoussakis MN, Mavridis AK, Tzioufas AG, Loukas SB, Plataris GK, Liakos AD, Moutsopoulos HM: **Factors related to the presence of autoantibodies in patients with chronic mental disorders.** *Biol Psychiatry* 1990, **27**(7):747-756.
221. Γερμενής Α: **Αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα. Στο: Διαγνωστική ανοσολογία. Λάρισα. 2002.** 2002.
222. Vila P, Hernandez MC, Lopez-Fernandez MF, Batlle J: **Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects.** *Thromb Haemost* 1994, **72**(2):209-213.

223. Shi W, Krilis SA, Chong BH, Gordon S, Chesterman CN: **Prevalence of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a healthy population.** *Aust N Z J Med* 1990, **20**(3):231-236.
224. Boberg KM, Aadland E, Jahnsen J, Raknerud N, Stiris M, Bell H: **Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a Norwegian population.** *Scand J Gastroenterol* 1998, **33**(1):99-103.
225. Feld JJ, Heathcote EJ: **Epidemiology of autoimmune liver disease.** *J Gastroenterol Hepatol* 2003, **18**(10):1118-1128.
226. Strassburg CP, Manns M: **Autoimmune hepatitis.** *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 2003, **17**(2):291-306.
227. Dalekos G, Makri E, Zachou K, Liaskos C, Pliaka A, Papadamou G, Patsiaoura K: **Clinical, laboratory and demographic characteristics of autoimmune hepatitis type 1 (AIH-1) in Central Greece.** *Hepatology* 2001, **34**(part 2):528A.
228. Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP: **Autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 2000, **32**(1 Suppl):181-197.
229. Van den Berg AP: **Autoimmune hepatitis: pathogenesis, diagnosis and treatment.** *Scand J Gastroenterol* 1998(225):66-69.
230. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ *et al*: **International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 1999, **31**(5):929-938.
231. Omagari K, Kinoshita H, Kato Y, Nakata K, Kanematsu T, Kusumoto Y, Mori I, Furukawa R, Tanioka H, Tajima H *et al*: **Clinical features of 89 patients with autoimmune hepatitis in Nagasaki Prefecture, Japan.** *J Gastroenterol* 1999, **34**(2):221-226.
232. Λιάσκος Χ, Νταλέκος ΓΝ: **Νεότερα επιδημιολογικά και κλινικοεργαστηριακά δεδομένα για την διάγνωση και τη διαφορική δάγνωση της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.** *Ιατρική* 2000:233-243.
233. Manns MP, Strassburg CP: **Autoimmune hepatitis: clinical challenges.** *Gastroenterology* 2001, **120**(6):1502-1517.
234. Vergani D, Mieli-Vergani G: **Autoimmune hepatitis.** *Autoimmun Rev* 2003, **2**(5):241-247.
235. Czaja AJ, Manns MP: **The validity and importance of subtypes in autoimmune hepatitis: a point of view.** *Am J Gastroenterol* 1995, **90**(8):1206-1211.
236. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ: **Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging.** *Hepatology* 1994, **19**(6):1513-1520.
237. Al-Khalidi JA, Czaja AJ: **Current concepts in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of autoimmune hepatitis.** *Mayo Clin Proc* 2001, **76**(12):1237-1252.
238. Wies I, Brunner S, Henninger J, Herkel J, Kanzler S, Meyer zum Buschenfelde KH, Lohse AW: **Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis.** *Lancet* 2000, **355**(9214):1510-1515.

239. Kanzler S, Weidemann C, Gerken G, Lohr HF, Galle PR, Meyer zum Buschenfelde KH, Lohse AW: **Clinical significance of autoantibodies to soluble liver antigen in autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 1999, **31**(4):635-640.
240. Ballot E, Homberg JC, Johanet C: **Antibodies to soluble liver antigen: an additional marker in type 1 auto-immune hepatitis.** *J Hepatol* 2000, **33**(2):208-215.
241. Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP: **Target proteins in human autoimmunity: cytochromes P450 and UDP-glucuronosyltransferases.** *Can J Gastroenterol* 2000, **14**(5):429-439.
242. **The Finish-APECED Consortium. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains.** *Nat Genet* 1997, **17**:399-403.
243. Obermayer-Straub P, Manns MP: **Autoimmune polyglandular syndromes.** *Baillieres Clin Gastroenterol* 1998, **12**(2):293-315.
244. Νταλέκος ΓΝ: **Μοριακά ταυτοποιημένα αυτοαντιγόνα-στόχοι στη διάγνωση, διαφορική διάγνωση και μελέτη της αιτιοπαθογένειας των αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος.** *Ιατρική* 1999, **75**:408-418.
245. Krawitt EL: **Autoimmune hepatitis.** *N Engl J Med* 1996, **334**(14):897-903.
246. Manns MP, Obermayer-Straub P: **Cytochromes P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, virus-induced, and autoimmune liver disease.** *Hepatology* 1997, **26**(4):1054-1066.
247. Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P, Kayser A, Barut A, Frank H, Manns MP: **Epitope mapping of cytochrome P4502D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment.** *J Hepatol* 1999, **30**(3):366-375.
248. Ruiz-Moreno M, Rua MJ, Carreno V, Quiroga JA, Manns M, Meyer zum Buschenfelde KH: **Autoimmune chronic hepatitis type 2 manifested during interferon therapy in children.** *J Hepatol* 1991, **12**(2):265-266.
249. Todros L, Saracco G, Durazzo M, Abate ML, Touscoz G, Scaglione L, Verme G, Rizzetto M: **Efficacy and safety of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C with autoantibodies to liver-kidney microsomes.** *Hepatology* 1995, **22**(5):1374-1378.
250. Vergani D, Mieli-Vergani G: **Type II autoimmune hepatitis: the conundrum of cytochrome P450IID6.** *Clin Exp Immunol* 1993, **92**(3):367-368.
251. Muratori L, Lenzi M, Cataleta M, Giostra F, Cassani F, Ballardini G, Zauli D, Bianchi FB: **Interferon therapy in liver/kidney microsomal antibody type 1-positive patients with chronic hepatitis C.** *J Hepatol* 1994, **21**(2):199-203.
252. Pessayre D: **Toxic and immune mechanisms leading to acute and subacute drug induced liver injury.** In: Miguet JP, D humeaux D. eds. *Progr Hepatol Paris: John Libbey Eurotext* 1993, **30**:23-39.
253. Czaja AJ, Nishioka M, Morshed SA, Hachiya T: **Patterns of nuclear immunofluorescence and reactivities to recombinant nuclear**

- antigens in autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1994, **107**(1):200-207.
254. Parveen S, Morshed SA, Arima K, Nishioka M, Czaja AJ, Chow WC, Ng HS: **Antibodies to Ro/La, Cenp-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia: patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association.** *Dig Dis Sci* 1998, **43**(6):1322-1331.
255. Czaja AJ, Morshed SA, Parveen S, Nishioka M: **Antibodies to single-stranded and double-stranded DNA in antinuclear antibody-positive type 1-autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1997, **26**(3):567-572.
256. Chen M, Shirai M, Czaja AJ, Kurokohchi K, Arichi T, Arima K, Kodama T, Nishioka M: **Characterization of anti-histone antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis.** *J Gastroenterol Hepatol* 1998, **13**(5):483-489.
257. Czaja AJ, Homburger HA: **Autoantibodies in liver disease.** *Gastroenterology* 2001, **120**(1):239-249.
258. Strassburg CP, Alex B, Zindy F, Gerken G, Luttig B, Meyer zum Buschenfelde KH, Brechot C, Manns MP: **Identification of cyclin A as a molecular target of antinuclear antibodies (ANA) in hepatic and non-hepatic autoimmune diseases.** *J Hepatol* 1996, **25**(6):859-866.
259. Νταλέκος ΓΝ: **Εργαστηριακή διάγνωση της πρωτοπαθούς χολικής κίρρωσης και της αυτοάνοσης ηπατίτιδας.** *Πρακτικά του Πανελληνίου Ηπατολογικού Συνεδρίου, Θεσσαλονίκη* 1999, **ΕΛΛ. Ιατρ** 1999(65 παραρτ 1):124-135.
260. Czaja AJ, Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Bianchi FB: **Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1996, **24**(5):1068-1073.
261. Dalekos GN, Zachou K, Liaskos C, Gatselis N: **Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview.** *Eur J Intern Med* 2002, **13**(5):293-303.
262. Czaja AJ: **Behavior and significance of autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 1999, **30**(3):394-401.
263. Zauli D, Ghetti S, Grassi A, Descovich C, Cassani F, Ballardini G, Muratori L, Bianchi FB: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1997, **25**(5):1105-1107.
264. Roozendaal C, de Jong MA, van den Berg AP, van Wijk RT, Limburg PC, Kallenberg CG: **Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases.** *J Hepatol* 2000, **32**(5):734-741.
265. Roozendaal C, Kallenberg CG: **Anti-neutrophil cytoplasm autoantibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases.** *Hepato-gastroenterology* 1999, **46**(30):3034-3040.
266. Lindgren S, Nilsson S, Nassberger L, Verbaan H, Wieslander J: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with chronic liver diseases: prevalence, antigen specificity and predictive value for diagnosis of autoimmune liver disease. Swedish Internal Medicine Liver Club (SILK).** *J Gastroenterol Hepatol* 2000, **15**(4):437-442.

267. Mulder AH, Horst G, Haagsma EB, Limburg PC, Kleibeuker JH, Kallenberg CG: **Prevalence and characterization of neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver diseases.** *Hepatology* 1993, **17**(3):411-417.
268. Treichel U, McFarlane BM, Seki T, Krawitt EL, Alessi N, Stickel F, McFarlane IG, Kiyosawa K, Furuta S, Freni MA *et al*: **Demographics of anti-asialoglycoprotein receptor autoantibodies in autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1994, **107**(3):799-804.
269. Manns M, Gerken G, Kyriatsoulis A, Staritz M, Meyer zum Buschenfelde KH: **Characterisation of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against a soluble liver antigen.** *Lancet* 1987, **1**(8528):292-294.
270. Stechemesser E, Klein R, Berg PA: **Characterization and clinical relevance of liver-pancreas antibodies in autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1993, **18**(1):1-9.
271. Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, Underhill J, Durr R, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease.** *Hepatology* 2002, **35**(3):658-664.
272. Manns MP: **Antibodies to soluble liver antigen: specific marker of autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 2000, **33**(2):326-328.
273. Czaja AJ, Donaldson PT, Lohse AW: **Antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas and HLA risk factors for type 1 autoimmune hepatitis.** *Am J Gastroenterol* 2002, **97**(2):413-419.
274. Wachter B, Kyriatsoulis A, Lohse AW, Gerken G, Meyer zum Buschenfelde KH, Manns M: **Characterization of liver cytokeratin as a major target antigen of anti-SLA antibodies.** *J Hepatol* 1990, **11**(2):232-239.
275. Wesierska-Gadek J, Grimm R, Hitchman E, Penner E: **Members of the glutathione S-transferase gene family are antigens in autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1998, **114**(2):329-335.
276. Costa M, Rodriguez-Sanchez JL, Czaja AJ, Gelpi C: **Isolation and characterization of cDNA encoding the antigenic protein of the human tRNP(Ser)Sec complex recognized by autoantibodies from patients with type-1 autoimmune hepatitis.** *Clin Exp Immunol* 2000, **121**(2):364-374.
277. Rizzetto M, Swana G, Doniach D: **Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders.** *Clin Exp Immunol* 1973, **15**(3):331-344.
278. Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil SH, Poupon R, Darnis F, Levy VG, Gripon P *et al*: **Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis.** *Hepatology* 1987, **7**(6):1333-1339.
279. Dalekos GN, Makri E, Loges S, Obermayer-Straub P, Zachou K, Tsikrikas T, Schmidt E, Papadamou G, Manns MP: **Increased incidence of anti-LKM autoantibodies in a consecutive cohort of hepatitis C patients from central Greece.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002, **14**(1):35-42.

280. Manns MP, Johnson EF, Griffin KJ, Tan EM, Sullivan KF: **Major antigen of liver kidney microsomal autoantibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450db1.** *J Clin Invest* 1989, **83**(3):1066-1072.
281. Gueguen M, Yamamoto AM, Bernard O, Alvarez F: **Anti-liver-kidney microsome antibody type 1 recognizes human cytochrome P450 db1.** *Biochem Biophys Res Commun* 1989, **159**(2):542-547.
282. Zanger UM, Hauri HP, Loeper J, Homberg JC, Meyer UA: **Antibodies against human cytochrome P-450db1 in autoimmune hepatitis type II.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988, **85**(21):8256-8260.
283. Beaune P, Dansette PM, Mansuy D, Kiffel L, Finck M, Amar C, Leroux JP, Homberg JC: **Human anti-endoplasmic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis are directed against a human liver cytochrome P-450 that hydroxylates the drug.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, **84**(2):551-555.
284. Durazzo M, Philipp T, Van Pelt FN, Luttig B, Borghesio E, Michel G, Schmidt E, Loges S, Rizzetto M, Manns MP: **Heterogeneity of liver-kidney microsomal autoantibodies in chronic hepatitis C and D virus infection.** *Gastroenterology* 1995, **108**(2):455-462.
285. Philipp T, Durazzo M, Trautwein C, Alex B, Straub P, Lamb JG, Johnson EF, Tukey RH, Manns MP: **Recognition of uridine diphosphate glucuronosyl transferases by LKM-3 antibodies in chronic hepatitis D.** *Lancet* 1994, **344**(8922):578-581.
286. Philipp T, Straub P, Durazzo M, Tukey RH, Manns MP: **Molecular analysis of autoantigens in hepatitis D.** *J Hepatol* 1995, **22**(1 Suppl):132-135.
287. Strassburg CP, Obermayer-Straub P, Alex B, Durazzo M, Rizzetto M, Tukey RH, Manns MP: **Autoantibodies against glucuronosyltransferases differ between viral hepatitis and autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1996, **111**(6):1576-1586.
288. Crivelli O, Lavarini C, Chiaberge E, Amoroso A, Farci P, Negro F, Rizzetto M: **Microsomal autoantibodies in chronic infection with the HBsAg associated delta (delta) agent.** *Clin Exp Immunol* 1983, **54**(1):232-238.
289. Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, Johnson EF: **LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase.** *J Clin Invest* 1991, **88**(4):1370-1378.
290. Duclos-Vallee JC, Hajoui O, Yamamoto AM, Jacz-Aigrain E, Alvarez F: **Conformational epitopes on CYP2D6 are recognized by liver/kidney microsomal antibodies.** *Gastroenterology* 1995, **108**(2):470-476.
291. Muratori L, Lenzi M, Ma Y, Cataleta M, Mieli-Vergani G, Vergani D, Bianchi FB: **Heterogeneity of liver/kidney microsomal antibody type 1 in autoimmune hepatitis and hepatitis C virus related liver disease.** *Gut* 1995, **37**(3):406-412.
292. Klein R, Zanger UM, Berg T, Hopf U, Berg PA: **Overlapping but distinct specificities of anti-liver-kidney microsome antibodies in autoimmune hepatitis type II and hepatitis C revealed by**

- recombinant native CYP2D6 and novel peptide epitopes.** *Clin Exp Immunol* 1999, **118**(2):290-297.
293. Herzog D, Yamamoto AM, Jara P, Maggiore G, Sarles J, Alvarez F: **Sera of children with hepatitis C infection and anti-liver-kidney microsome-1 antibodies recognize different CYP2D6 epitopes than adults with LKM+/HCV+ sera.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999, **29**(5):551-555.
294. Yamamoto AM, Cresteil D, Boniface O, Clerc FF, Alvarez F: **Identification and analysis of cytochrome P450IID6 antigenic sites recognized by anti-liver-kidney microsome type-1 antibodies (LKM1).** *Eur J Immunol* 1993, **23**(5):1105-1111.
295. Bogdanos DP, Choudhuri K, Vergani D: **Molecular mimicry and autoimmune liver disease: virtuous intentions, malign consequences.** *Liver* 2001, **21**(4):225-232.
296. Yamamoto AM, Johanet C, Duclos-Vallee JC, Bustarret FA, Alvarez F, Homberg JC, Bach JF: **A new approach to cytochrome CYP2D6 antibody detection in autoimmune hepatitis type-2 (AIH-2) and chronic hepatitis C virus (HCV) infection: a sensitive and quantitative radioligand assay.** *Clin Exp Immunol* 1997, **108**(3):396-400.
297. Ma Y, Gregorio G, Gaken J, Muratori L, Bianchi FB, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Establishment of a novel radioligand assay using eukaryotically expressed cytochrome P4502D6 for the measurement of liver kidney microsomal type 1 antibody in patients with autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection.** *J Hepatol* 1997, **26**(6):1396-1402.
298. Loeper J, Le Berre A, Pompon D: **Topology inversion of CYP2D6 in the endoplasmic reticulum is not required for plasma membrane transport.** *Mol Pharmacol* 1998, **53**(3):408-414.
299. Loeper J, Louerat-Oriou B, Duport C, Pompon D: **Yeast expressed cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) exposed on the external face of plasma membrane is functionally competent.** *Mol Pharmacol* 1998, **54**(1):8-13.
300. Muratori L, Parola M, Ripalti A, Robino G, Muratori P, Bellomo G, Carini R, Lenzi M, Landini MP, Albano E *et al*: **Liver/kidney microsomal antibody type 1 targets CYP2D6 on hepatocyte plasma membrane.** *Gut* 2000, **46**(4):553-561.
301. Vergani D: **LKM antibody: getting in some target practice.** *Gut* 2000, **46**(4):449-450.
302. Lohse AW, Obermayer-Straub P, Gerken G, Brunner S, Altes U, Dienes HP, Manns MP, Meyer zum Buschenfelde KH: **Development of cytochrome P450 2D6-specific LKM-autoantibodies following liver transplantation for Wilson's disease -- possible association with a steroid-resistant transplant rejection episode.** *J Hepatol* 1999, **31**(1):149-155.
303. Martini E, Abuaf N, Cavalli F, Durand V, Johanet C, Homberg JC: **Antibody to liver cytosol (anti-LC1) in patients with autoimmune chronic active hepatitis type 2.** *Hepatology* 1988, **8**(6):1662-1666.
304. Abuaf N, Johanet C, Chretien P, Martini E, Soulier E, Laperche S, Homberg JC: **Characterization of the liver cytosol antigen type 1**

- reacting with autoantibodies in chronic active hepatitis. *Hepatology* 1992, **16**(4):892-898.
305. Lapiere P, Hajoui O, Homberg JC, Alvarez F: **Formiminotransferase cyclodeaminase is an organ-specific autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1999, **116**(3):643-649.
306. Beland K, Lapiere P, Marceau G, Alvarez F: **Anti-LC1 autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection.** *J Autoimmun* 2004, **22**(2):159-166.
307. Lenzi M, Manotti P, Muratori L, Cataleta M, Ballardini G, Cassani F, Bianchi FB: **Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection.** *Gut* 1995, **36**(5):749-754.
308. Muratori L, Cataleta M, Muratori P, Lenzi M, Bianchi FB: **Liver/kidney microsomal antibody type 1 and liver cytosol antibody type 1 concentrations in type 2 autoimmune hepatitis.** *Gut* 1998, **42**(5):721-726.
309. Ahonen P, Myllarniemi S, Sipila I, Perheentupa J: **Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients.** *N Engl J Med* 1990, **322**(26):1829-1836.
310. Heino M, Peterson P, Kudoh J, Nagamine K, Lagerstedt A, Ovod V, Ranki A, Rantala I, Nieminen M, Tuukkanen J *et al*: **Autoimmune regulator is expressed in the cells regulating immune tolerance in thymus medulla.** *Biochem Biophys Res Commun* 1999, **257**(3):821-825.
311. Clemente MG, Meloni A, Obermayer-Straub P, Frau F, Manns MP, De Virgiliis S: **Two cytochromes P450 are major hepatocellular autoantigens in autoimmune polyglandular syndrome type 1.** *Gastroenterology* 1998, **114**(2):324-328.
312. Clemente MG, Obermayer-Straub P, Meloni A, Strassburg CP, Arangino V, Tukey RH, De Virgiliis S, Manns MP: **Cytochrome P450 1A2 is a hepatic autoantigen in autoimmune polyglandular syndrome type 1.** *J Clin Endocrinol Metab* 1997, **82**(5):1353-1361.
313. Obermayer-Straub P, Perheentupa J, Braun S, Kayser A, Barut A, Loges S, Harms A, Dalekos G, Strassburg CP, Manns MP: **Hepatic autoantigens in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy.** *Gastroenterology* 2001, **121**(3):668-677.
314. Dalekos GN, Obermayer-Straub P, Bartels M, Maeda T, Kayser A, Braun S, Loges S, Schmidt E, Gershwin ME, Manns MP: **Cytochrome P450 2A6: a new hepatic autoantigen in patients with chronic hepatitis C virus infection.** *J Hepatol* 2003, **39**(5):800-806.
315. Bourdi M, Larrey D, Nataf J, Bernuau J, Pessayre D, Iwasaki M, Guengerich FP, Beaune PH: **Anti-liver endoplasmic reticulum autoantibodies are directed against human cytochrome P-450IA2. A specific marker of dihydralazine-induced hepatitis.** *J Clin Invest* 1990, **85**(6):1967-1973.
316. Donaldson PT, Doherty DG, Hayllar KM, McFarlane IG, Johnson PJ, Williams R: **Susceptibility to autoimmune chronic active hepatitis:**

- human leukocyte antigens DR4 and A1-B8-DR3 are independent risk factors.** *Hepatology* 1991, **13**(4):701-706.
317. Czaja AJ, Strettell MD, Thomson LJ, Santrach PJ, Moore SB, Donaldson PT, Williams R: **Associations between alleles of the major histocompatibility complex and type 1 autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1997, **25**(2):317-323.
318. Czaja AJ, Donaldson PT: **Genetic susceptibilities for immune expression and liver cell injury in autoimmune hepatitis.** *Immunol Rev* 2000, **174**:250-259.
319. Seki T, Kiyosawa K, Inoko H, Ota M: **Association of autoimmune hepatitis with HLA-Bw54 and DR4 in Japanese patients.** *Hepatology* 1990, **12**(6):1300-1304.
320. Seki T, Ota M, Furuta S, Fukushima H, Kondo T, Hino K, Mizuki N, Ando A, Tsuji K, Inoko H *et al*: **HLA class II molecules and autoimmune hepatitis susceptibility in Japanese patients.** *Gastroenterology* 1992, **103**(3):1041-1047.
321. Fainboim L, Marcos Y, Pando M, Capucchio M, Reyes GB, Galoppo C, Badia I, Remondino G, Ciocca M, Ramonet M *et al*: **Chronic active autoimmune hepatitis in children. Strong association with a particular HLA-DR6 (DRB1*1301) haplotype.** *Hum Immunol* 1994, **41**(2):146-150.
322. Vazquez-Garcia MN, Alaez C, Olivo A, Debaz H, Perez-Luque E, Burguete A, Cano S, de la Rosa G, Bautista N, Hernandez A *et al*: **MHC class II sequences of susceptibility and protection in Mexicans with autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 1998, **28**(6):985-990.
323. Czaja AJ, Kruger M, Santrach PJ, Moore SB, Manns MP: **Genetic distinctions between types 1 and 2 autoimmune hepatitis.** *Am J Gastroenterol* 1997, **92**(12):2197-2200.
324. Manns MP, Kruger M: **Immunogenetics of chronic liver diseases.** *Gastroenterology* 1994, **106**(6):1676-1697.
325. Ohira H, Shinzawa J, Suzuki T, Tojo J, Sato H, Nishimaki T, Morito T, Kasukawa R: **Two sister cases of autoimmune hepatitis.** *Fukushima J Med Sci* 1998, **44**(2):113-120.
326. Findor JA, Sorda JA, Daruich JR, Manero EF: **Familial association in autoimmune liver disease.** *Medicina (B Aires)* 2002, **62**(3):241-244.
327. Czaja AJ, Carpenter HA: **Sensitivity, specificity, and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis.** *Gastroenterology* 1993, **105**(6):1824-1832.
328. Bach N, Thung SN, Schaffner F: **The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis.** *Hepatology* 1992, **15**(4):572-577.
329. Lau JY, Koukoulis G, Mieli-Vergani G, Portmann BC, Williams R: **Syncytial giant-cell hepatitis--a specific disease entity?** *J Hepatol* 1992, **15**(1-2):216-219.
330. Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Immunohistochemical features of the portal tract mononuclear cell infiltrate in chronic aggressive hepatitis.** *Arch Dis Child* 1992, **67**(12):1447-1453.

331. Lobo-Yeo A, Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Class I and class II major histocompatibility complex antigen expression on hepatocytes: a study in children with liver disease.** *Hepatology* 1990, **12**(2):224-232.
332. Vergani D, Mieli-Vergani G: **Mechanisms of autoimmune hepatitis.** *Pediatr Transplant* 2004, **8**(6):589-593.
333. Diamantis I, Boumpas DT: **Autoimmune hepatitis: evolving concepts.** *Autoimmun Rev* 2004, **3**(3):207-214.
334. Medina J, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R: **Review article: immunopathogenetic and therapeutic aspects of autoimmune hepatitis.** *Aliment Pharmacol Ther* 2003, **17**(1):1-16.
335. Cookson S, Constantini PK, Clare M, Underhill JA, Bernal W, Czaja AJ, Donaldson PT: **Frequency and nature of cytokine gene polymorphisms in type 1 autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1999, **30**(4):851-856.
336. Czaja AJ, Cookson S, Constantini PK, Clare M, Underhill JA, Donaldson PT: **Cytokine polymorphisms associated with clinical features and treatment outcome in type 1 autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1999, **117**(3):645-652.
337. Autschbach F, Meuer SC, Moebius U, Manns M, Hess G, Meyer zum Buschenfelde KH, Thoenes W, Dienes HP: **Hepatocellular expression of lymphocyte function-associated antigen 3 in chronic hepatitis.** *Hepatology* 1991, **14**(2):223-230.
338. Agarwal K, Jones DE, Daly AK, James OF, Vaidya B, Pearce S, Bassendine MF: **CTLA-4 gene polymorphism confers susceptibility to primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 2000, **32**(4):538-541.
339. Sanz-Cameno P, Medina J, Garcia-Buey L, Garcia-Sanchez A, Borque MJ, Martin-Vilchez S, Gamallo C, Jones EA, Moreno-Otero R: **Enhanced intrahepatic inducible nitric oxide synthase expression and nitrotyrosine accumulation in primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 2002, **37**(6):723-729.
340. Vento S, Garofano T, Di Perri G, Dolci L, Concia E, Bassetti D: **Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals.** *Lancet* 1991, **337**(8751):1183-1187.
341. Laskus T, Slusarczyk J: **Autoimmune chronic active hepatitis developing after acute type B hepatitis.** *Dig Dis Sci* 1989, **34**(8):1294-1297.
342. Silva E, Sallie R, Tibbs C, McFarlane I, Johnson P, Williams R: **Absence of hepatitis C virus in British patients with type 1 autoimmune chronic active hepatitis--a polymerase chain reaction and serological study.** *J Hepatol* 1993, **19**(2):211-215.
343. Manns M, Obermayer-Straub P: **Triggering factors and immunogenetics of autoimmune hepatitis.** In: **Moreno-Otero R, Clemente-Ricote G, Garcia-Monzon C eds. Immunology and the liver.** *Autoimmunity Madrid:Aran Ediciones SA* 2000.
344. Salcedo M, Vaquero J, Banares R, Rodriguez-Mahou M, Alvarez E, Vicario JL, Hernandez-Albuja A, Tiscar JL, Rincon D, Alonso S *et al*: **Response to steroids in de novo autoimmune hepatitis after liver transplantation.** *Hepatology* 2002, **35**(2):349-356.

345. Choudhuri K, Gregorio GV, Mieli-Vergani G, Vergani D: **Immunological cross-reactivity to multiple autoantigens in patients with liver kidney microsomal type 1 autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1998, **28**(5):1177-1181.
346. Johnson PJ, McFarlane IG: **Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group.** *Hepatology* 1993, **18**(4):998-1005.
347. Roberts SK, Therneau TM, Czaja AJ: **Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 1996, **110**(3):848-857.
348. Νταλέκος ΓΝ: **Αυτοάνοση ηπατίτιδα: Νεότερα δεδομένα.** *Ελληνική Ιατρική* 2001, **67**(suppl 1):78-92.
349. Czaja AJ: **Drug therapy in the management of type 1 autoimmune hepatitis.** *Drugs* 1999, **57**(1):49-68.
350. Kanzler S, Gerken G, Lohr H, Galle PR, Meyer zum Buschenfelde KH, Lohse AW: **Duration of immunosuppressive therapy in autoimmune hepatitis.** *J Hepatol* 2001, **34**(2):354-355.
351. Dufour JF, DeLellis R, Kaplan MM: **Reversibility of hepatic fibrosis in autoimmune hepatitis.** *Ann Intern Med* 1997, **127**(11):981-985.
352. Cotler SJ, Jakate S, Jensen DM: **Resolution of cirrhosis in autoimmune hepatitis with corticosteroid therapy.** *J Clin Gastroenterol* 2001, **32**(5):428-430.
353. Czaja AJ, Lindor KD: **Failure of budesonide in a pilot study of treatment-dependent autoimmune hepatitis.** *Gastroenterology* 2000, **119**(5):1312-1316.
354. Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, Seaberg EC, Lake JR, Zetterman RK, Everhart J, Detre KM: **Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome.** *Hepatology* 1998, **28**(3):638-645.
355. Prados E, Cuervas-Mons V, de la Mata M, Fraga E, Rimola A, Prieto M, Clemente G, Vicente E, Casanovas T, Fabrega E: **Outcome of autoimmune hepatitis after liver transplantation.** *Transplantation* 1998, **66**(12):1645-1650.
356. Hubscher SG: **Recurrent autoimmune hepatitis after liver transplantation: diagnostic criteria, risk factors, and outcome.** *Liver Transpl* 2001, **7**(4):285-291.
357. Manns MP, Bahr MJ: **Recurrent autoimmune hepatitis after liver transplantation-when non-self becomes self.** *Hepatology* 2000, **32**(4 Pt 1):868-870.
358. Kerkar N, Hadzic N, Davies ET, Portmann B, Donaldson PT, Rela M, Heaton ND, Vergani D, Mieli-Vergani G: **De-novo autoimmune hepatitis after liver transplantation.** *Lancet* 1998, **351**(9100):409-413.
359. Kaplan MM: **Primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1996, **335**(21):1570-1580.
360. Neuberger J: **Primary biliary cirrhosis.** *Lancet* 1997, **350**(9081):875-879.
361. Sherlock S, Scheuer PJ: **The presentation and diagnosis of 100 patients with primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1973, **289**(13):674-678.

362. Mahl TC, Shockcor W, Boyer JL: **Primary biliary cirrhosis: survival of a large cohort of symptomatic and asymptomatic patients followed for 24 years.** *J Hepatol* 1994, **20**(6):707-713.
363. James OF, Bhopal R, Howel D, Gray J, Burt AD, Metcalf JV: **Primary biliary cirrhosis once rare, now common in the United Kingdom?** *Hepatology* 1999, **30**(2):390-394.
364. Witt-Sullivan H, Heathcote J, Cauch K, Blendis L, Ghent C, Katz A, Milner R, Pappas SC, Rankin J, Wanless IR: **The demography of primary biliary cirrhosis in Ontario, Canada.** *Hepatology* 1990, **12**(1):98-105.
365. Watson RG, Angus PW, Dewar M, Goss B, Sewell RB, Smallwood RA: **Low prevalence of primary biliary cirrhosis in Victoria, Australia. Melbourne Liver Group.** *Gut* 1995, **36**(6):927-930.
366. Metcalf J, James O: **The geoeidemiology of primary biliary cirrhosis.** *Semin Liver Dis* 1997, **17**(1):13-22.
367. Kingham JG, Parker DR: **The association between primary biliary cirrhosis and coeliac disease: a study of relative prevalences.** *Gut* 1998, **42**(1):120-122.
368. Prince MI, Chetwynd A, Diggle P, Jarner M, Metcalf JV, James OF: **The geographical distribution of primary biliary cirrhosis in a well-defined cohort.** *Hepatology* 2001, **34**(6):1083-1088.
369. Kim WR, Lindor KD, Locke GR, 3rd, Therneau TM, Homburger HA, Batts KP, Yawn BP, Petz JL, Melton LJ, 3rd, Dickson ER: **Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community.** *Gastroenterology* 2000, **119**(6):1631-1636.
370. Talwalkar JA, Lindor KD: **Primary biliary cirrhosis.** *Lancet* 2003, **362**(9377):53-61.
371. Tsianos EV, Hoofnagle JH, Fox PC, Alspaugh M, Jones EA, Schafer DF, Moutsopoulos HM: **Sjogren's syndrome in patients with primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1990, **11**(5):730-734.
372. Angulo P, Lindor KD: **Primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis.** *Clin Liver Dis* 1999, **3**(3):529-570.
373. Pares A, Rimola A, Bruguera M, Mas E, Rodes J: **Renal tubular acidosis in primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1981, **80**(4):681-686.
374. Romics L, Nemesanszky E, Szalay F, Csaszar A, Tresch J, Karadi I: **Lipoprotein(a) concentration and phenotypes in primary biliary cirrhosis.** *Clin Chim Acta* 1996, **255**(2):165-171.
375. Potter BJ, Elias E, Thomas HC, Sherlock S: **Complement metabolism in chronic liver disease: catabolism of C1q in chronic active liver disease and primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1980, **78**(5 Pt 1):1034-1040.
376. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S: **Serological Tests In Diagnosis Of Primary Biliary Cirrhosis.** *Lancet* 1965, **39**:827-831.
377. Mackay IR: **Primary biliary cirrhosis showing a high titer of autoantibody; report of a case.** *N Engl J Med* 1958, **258**(4):185-188.
378. Doniach D, Roitt IM, Walker JG, Sherlock S: **Tissue antibodies in primary biliary cirrhosis, active chronic (lupoid) hepatitis, cryptogenic cirrhosis and other liver diseases and their clinical implications.** *Clin Exp Immunol* 1966, **1**(3):237-262.

379. Berg PA, Doniach D, Roitt IM: **Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. I. Localization of the antigen to mitochondrial membranes.** *J Exp Med* 1967, **126**(2):277-290.
380. Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J, Kloppel W: **ATPase-associated antigen (M2): marker antigen for serological diagnosis of primary biliary cirrhosis.** *Lancet* 1982, **2**(8313):1423-1426.
381. Lindenborn-Fotinos J, Baum H, Berg PA: **Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis: species and nonspecies specific determinants of M2 antigen.** *Hepatology* 1985, **5**(5):763-769.
382. Frazer IH, Mackay IR, Jordan TW, Whittingham S, Marzuki S: **Reactivity of anti-mitochondrial autoantibodies in primary biliary cirrhosis: definition of two novel mitochondrial polypeptide autoantigens.** *J Immunol* 1985, **135**(3):1739-1745.
383. Baum H, Berg PA: **The complex nature of mitochondrial antibodies and their relation to primary biliary cirrhosis.** *Semin Liver Dis* 1981, **1**(4):309-321.
384. Bassendine MF, Jones DE, Yeaman SJ: **Biochemistry and autoimmune response to the 2-oxoacid dehydrogenase complexes in primary biliary cirrhosis.** *Semin Liver Dis* 1997, **17**(1):49-60.
385. Yeaman SJ: **The 2-oxo acid dehydrogenase complexes: recent advances.** *Biochem J* 1989, **257**(3):625-632.
386. Yeaman SJ, Kirby JA, Jones DE: **Autoreactive responses to pyruvate dehydrogenase complex in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis.** *Immunol Rev* 2000, **174**:238-249.
387. De Marcucci O, Lindsay JG: **Component X. An immunologically distinct polypeptide associated with mammalian pyruvate dehydrogenase multi-enzyme complex.** *Eur J Biochem* 1985, **149**(3):641-648.
388. Gershwin ME, Mackay IR, Sturgess A, Coppel RL: **Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis.** *J Immunol* 1987, **138**(10):3525-3531.
389. Van de Water J, Gershwin ME, Leung P, Ansari A, Coppel RL: **The autoepitope of the 74-kD mitochondrial autoantigen of primary biliary cirrhosis corresponds to the functional site of dihydrolipoamide acetyltransferase.** *J Exp Med* 1988, **167**(6):1791-1799.
390. Yeaman SJ, Fussey SP, Danner DJ, James OF, Mutimer DJ, Bassendine MF: **Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens.** *Lancet* 1988, **1**(8594):1067-1070.
391. Leung PS, Coppel RL, Ansari A, Munoz S, Gershwin ME: **Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis.** *Semin Liver Dis* 1997, **17**(1):61-69.
392. Baum H: **Mitochondrial antigens, molecular mimicry and autoimmune disease.** *Biochim Biophys Acta* 1995, **1271**(1):111-121.
393. Surh CD, Roche TE, Danner DJ, Ansari A, Coppel RL, Prindiville T, Dickson ER, Gershwin ME: **Antimitochondrial autoantibodies in primary biliary cirrhosis recognize cross-reactive epitope(s) on**

- protein X and dihydrolipoamide acetyltransferase of pyruvate dehydrogenase complex.** *Hepatology* 1989, **10**(2):127-133.
394. Dubel L, Tanaka A, Leung PS, Van de Water J, Coppel R, Roche T, Johanet C, Motokawa Y, Ansari A, Gershwin ME: **Autoepitope mapping and reactivity of autoantibodies to the dihydrolipoamide dehydrogenase-binding protein (E3BP) and the glycine cleavage proteins in primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1999, **29**(4):1013-1018.
395. Palmer JM, Jones DE, Quinn J, McHugh A, Yeaman SJ: **Characterization of the autoantibody responses to recombinant E3 binding protein (protein X) of pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1999, **30**(1):21-26.
396. Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J: **Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 1986, **2**(1):123-131.
397. Klein R, Kloppel G, Garbe W, Fintelmann V, Berg PA: **Antimitochondrial antibody profiles determined at early stages of primary biliary cirrhosis differentiate between a benign and a progressive course of the disease. A retrospective analysis of 76 patients over 6-18 years.** *J Hepatol* 1991, **12**(1):21-27.
398. Joshi S, Cauch-Dudek K, Heathcote EJ, Lindor K, Jorgensen R, Klein R: **Antimitochondrial antibody profiles: are they valid prognostic indicators in primary biliary cirrhosis?** *Am J Gastroenterol* 2002, **97**(4):999-1002.
399. Van de Water J, Cooper A, Surh CD, Coppel R, Danner D, Ansari A, Dickson R, Gershwin ME: **Detection of autoantibodies to recombinant mitochondrial proteins in patients with primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1989, **320**(21):1377-1380.
400. Miyakawa H, Tanaka A, Kikuchi K, Matsushita M, Kitazawa E, Kawaguchi N, Fujikawa H, Gershwin ME: **Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens.** *Hepatology* 2001, **34**(2):243-248.
401. Brunner G, Klinge O: **[A chronic destructive non-suppurative cholangitis-like disease picture with antinuclear antibodies (immunocholangitis)].** *Dtsch Med Wochenschr* 1987, **112**(38):1454-1458.
402. Goodman ZD, McNally PR, Davis DR, Ishak KG: **Autoimmune cholangitis: a variant of primary biliary cirrhosis. Clinicopathologic and serologic correlations in 200 cases.** *Dig Dis Sci* 1995, **40**(6):1232-1242.
403. Taylor SL, Dean PJ, Riely CA: **Primary autoimmune cholangitis. An alternative to antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis.** *Am J Surg Pathol* 1994, **18**(1):91-99.
404. Michieletti P, Wanless IR, Katz A, Scheuer PJ, Yeaman SJ, Bassendine MF, Palmer JM, Heathcote EJ: **Antimitochondrial antibody negative primary biliary cirrhosis: a distinct syndrome of autoimmune cholangitis.** *Gut* 1994, **35**(2):260-265.

405. Ben-Ari Z, Dhillon AP, Sherlock S: **Autoimmune cholangiopathy: part of the spectrum of autoimmune chronic active hepatitis.** *Hepatology* 1993, **18**(1):10-15.
406. Lacerda MA, Ludwig J, Dickson ER, Jorgensen RA, Lindor KD: **Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis.** *Am J Gastroenterol* 1995, **90**(2):247-249.
407. Sanchez-Pobre P, Castellano G, Colina F, Dominguez P, Rodriguez S, Canga F, Herruzo JA: **Antimitochondrial antibody-negative chronic nonsuppurative destructive cholangitis. Atypical primary biliary cirrhosis or autoimmune cholangitis?** *J Clin Gastroenterol* 1996, **23**(3):191-198.
408. Invernizzi P, Crosignani A, Battezzati PM, Covini G, De Valle G, Larghi A, Zuin M, Podda M: **Comparison of the clinical features and clinical course of antimitochondrial antibody-positive and -negative primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1997, **25**(5):1090-1095.
409. Nakanuma Y, Harada K, Kaji K, Terasaki S, Tsuneyama K, Moteki S, Van de Water J, Leung PS, Gershwin ME: **Clinicopathological study of primary biliary cirrhosis negative for antimitochondrial antibodies.** *Liver* 1997, **17**(6):281-287.
410. Kitami N, Komada T, Ishii H, Shimizu H, Adachi H, Yamaguchi Y, Kitamura T, Oide H, Miyazaki A, Ishikawa M *et al*: **Immunological study of anti-M2 in antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis.** *Intern Med* 1995, **34**(6):496-501.
411. Kinoshita H, Omagari K, Whittingham S, Kato Y, Ishibashi H, Sugi K, Yano M, Kohno S, Nakanuma Y, Penner E *et al*: **Autoimmune cholangitis and primary biliary cirrhosis--an autoimmune enigma.** *Liver* 1999, **19**(2):122-128.
412. Nakajima M, Shimizu H, Miyazaki A, Watanabe S, Kitami N, Sato N: **Detection of IgA, IgM, and IgG subclasses of anti-M2 antibody by immunoblotting in autoimmune cholangitis: is autoimmune cholangitis an early stage of primary biliary cirrhosis?** *J Gastroenterol* 1999, **34**(5):607-612.
413. Vergani D, Bogdanos DP: **Positive markers in AMA-negative PBC.** *Am J Gastroenterol* 2003, **98**(2):241-243.
414. Courvalin JC, Worman HJ: **Nuclear envelope protein autoantibodies in primary biliary cirrhosis.** *Semin Liver Dis* 1997, **17**(1):79-90.
415. Szosteki C, Will H, Netter HJ, Guldner HH: **Autoantibodies to the nuclear Sp100 protein in primary biliary cirrhosis and associated diseases: epitope specificity and immunoglobulin class distribution.** *Scand J Immunol* 1992, **36**(4):555-564.
416. Rigopoulou EI, Davies ET, Pares A, Zachou K, Liaskos C, Bogdanos DP, Rodes J, Dalekos GN, Vergani D: **Prevalence and clinical significance of isotype specific antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis.** *Gut* 2005, **54**(4):528-532.
417. Courvalin JC, Lassoued K, Bartnik E, Blobel G, Wozniak RW: **The 210-kD nuclear envelope polypeptide recognized by human autoantibodies in primary biliary cirrhosis is the major glycoprotein of the nuclear pore.** *J Clin Invest* 1990, **86**(1):279-285.

418. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E: **Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis preferentially react with the amino-terminal domain of nuclear pore complex glycoprotein gp210.** *J Exp Med* 1995, **182**(4):1159-1162.
419. Nickowitz RE, Worman HJ: **Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis recognize a restricted region within the cytoplasmic tail of nuclear pore membrane glycoprotein Gp210.** *J Exp Med* 1993, **178**(6):2237-2242.
420. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E: **Anti-gp210 antibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. Identification of a 64 kD fragment of gp210 as a major epitope.** *Hum Antibodies Hybridomas* 1996, **7**(4):167-174.
421. Itoh S, Ichida T, Yoshida T, Hayakawa A, Uchida M, Tashiro-Itoh T, Matsuda Y, Ishihara K, Asakura H: **Autoantibodies against a 210 kDa glycoprotein of the nuclear pore complex as a prognostic marker in patients with primary biliary cirrhosis.** *J Gastroenterol Hepatol* 1998, **13**(3):257-265.
422. Nickowitz RE, Wozniak RW, Schaffner F, Worman HJ: **Autoantibodies against integral membrane proteins of the nuclear envelope in patients with primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1994, **106**(1):193-199.
423. Bandin O, Courvalin JC, Poupon R, Dubel L, Homberg JC, Johanet C: **Specificity and sensitivity of gp210 autoantibodies detected using an enzyme-linked immunosorbent assay and a synthetic polypeptide in the diagnosis of primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1996, **23**(5):1020-1024.
424. Mattalia A, Luttig B, Rosina F, Leung PS, Van de Water J, Bauducci M, Ciancio A, Boker KH, Worman H, Cooper RL *et al*: **Persistence of autoantibodies against recombinant mitochondrial and nuclear pore proteins after orthotopic liver transplantation for primary biliary cirrhosis.** *J Autoimmun* 1997, **10**(5):491-497.
425. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E: **Autoantibodies against nucleoporin p62 constitute a novel marker of primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1996, **110**(3):840-847.
426. Miyachi K, Shibata M, Onozuka Y, Kikuchi F, Imai N, Horigome T: **Primary biliary cirrhosis sera recognize not only gp210 but also proteins of the p62 complex bearing N-acetylglucosamine residues from rat liver nuclear envelope. Anti-p62 complex antibody in PBC.** *Mol Biol Rep* 1996, **23**(3-4):227-234.
427. Lin F, Noyer CM, Ye Q, Courvalin JC, Worman HJ: **Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis recognize a region within the nucleoplasmic domain of inner nuclear membrane protein LBR.** *Hepatology* 1996, **23**(1):57-61.
428. Konstantinov K, Foisner R, Byrd D, Liu FT, Tsai WM, Wiik A, Gerace L: **Integral membrane proteins associated with the nuclear lamina are novel autoimmune antigens of the nuclear envelope.** *Clin Immunol Immunopathol* 1995, **74**(1):89-99.

429. Szostecki C, Krippner H, Penner E, Bautz FA: **Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100).** *Clin Exp Immunol* 1987, **68**(1):108-116.
430. Fusconi M, Cassani F, Govoni M, Caselli A, Farabegoli F, Lenzi M, Ballardini G, Zauli D, Bianchi FB: **Anti-nuclear antibodies of primary biliary cirrhosis recognize 78-92-kD and 96-100-kD proteins of nuclear bodies.** *Clin Exp Immunol* 1991, **83**(2):291-297.
431. Evans J, Reuben A, Craft J: **PBC 95k, a 95-kilodalton nuclear autoantigen in primary biliary cirrhosis.** *Arthritis Rheum* 1991, **34**(6):731-736.
432. Zuchner D, Sternsdorf T, Szostecki C, Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Will H: **Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1997, **26**(5):1123-1130.
433. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, Rodrigo L, Linares A, Fuentes D, Bianchi FB: **Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis.** *Am J Gastroenterol* 2003, **98**(2):431-437.
434. Gordon MA, Oppenheim E, Camp NJ, di Giovine FS, Duff GW, Gleeson D: **Primary biliary cirrhosis shows association with genetic polymorphism of tumour necrosis factor alpha promoter region.** *J Hepatol* 1999, **31**(2):242-247.
435. Gregory WL, Daly AK, Dunn AN, Cavanagh G, Idle JR, James OF, Bassendine MF: **Analysis of HLA-class-II-encoded antigen-processing genes TAP1 and TAP2 in primary biliary cirrhosis.** *Q J Med* 1994, **87**(4):237-244.
436. Zappala F, Grove J, Watt FE, Daly AK, Day CP, Bassendine MF, Jones DE: **No evidence for involvement of the interleukin-10 -592 promoter polymorphism in genetic susceptibility to primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 1998, **28**(5):820-823.
437. Springer JE, Cole DE, Rubin LA, Cauch-Dudek K, Harewood L, Evrovski J, Peltekova VD, Heathcote EJ: **Vitamin D-receptor genotypes as independent genetic predictors of decreased bone mineral density in primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 2000, **118**(1):145-151.
438. Invernizzi P, Miozzo M, Battezzati PM, Bianchi I, Grati FR, Simoni G, Selmi C, Watnik M, Gershwin ME, Podda M: **Frequency of monosomy X in women with primary biliary cirrhosis.** *Lancet* 2004, **363**(9408):533-535.
439. Zinn AR: **The X chromosome and the ovary.** *J Soc Gynecol Investig* 2001, **8**(1 Suppl Proceedings):S34-36.
440. Bach N, Schaffner F: **Familial primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 1994, **20**(6):698-701.
441. Brind AM, Bray GP, Portmann BC, Williams R: **Prevalence and pattern of familial disease in primary biliary cirrhosis.** *Gut* 1995, **36**(4):615-617.
442. Tsuji K, Watanabe Y, Van De Water J, Nakanishi T, Kajiyama G, Parikh-Patel A, Coppel R, Gershwin ME: **Familial primary biliary cirrhosis in Hiroshima.** *J Autoimmun* 1999, **13**(1):171-178.

443. Jones DE, Watt FE, Metcalf JV, Bassendine MF, James OF: **Familial primary biliary cirrhosis reassessed: a geographically-based population study.** *J Hepatol* 1999, **30**(3):402-407.
444. Zein CO, Angulo P, Lindor KD: **When is liver biopsy needed in the diagnosis of primary biliary cirrhosis?** *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003, **1**(2):89-95.
445. Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS: **Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis).** *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1978, **379**(2):103-112.
446. Hashimoto E, Lindor KD, Homburger HA, Dickson ER, Czaja AJ, Wiesner RH, Ludwig J: **Immunohistochemical characterization of hepatic lymphocytes in primary biliary cirrhosis in comparison with primary sclerosing cholangitis and autoimmune chronic active hepatitis.** *Mayo Clin Proc* 1993, **68**(11):1049-1055.
447. Jones DE: **Pathogenesis of primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 2003, **39**(4):639-648.
448. Tinmouth J, Lee M, Wanless IR, Tsui FW, Inman R, Heathcote EJ: **Apoptosis of biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis.** *Liver* 2002, **22**(3):228-234.
449. Tsirikoni A, Kyriakou DS, Rigopoulou EI, Alexandrakis MG, Zachou K, Passam F, Dalekos GN: **Markers of cell activation and apoptosis in bone marrow mononuclear cells of patients with autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 2005, **42**(3):393-399.
450. Tsuneyama K, Van de Water J, Leung PS, Cha S, Nakanuma Y, Kaplan M, De Lellis R, Coppel R, Ansari A, Gershwin ME: **Abnormal expression of the E2 component of the pyruvate dehydrogenase complex on the luminal surface of biliary epithelium occurs before major histocompatibility complex class II and BB1/B7 expression.** *Hepatology* 1995, **21**(4):1031-1037.
451. Gershwin ME, Mackay IR: **Primary biliary cirrhosis: paradigm or paradox for autoimmunity.** *Gastroenterology* 1991, **100**(3):822-833.
452. Shimoda S, Nakamura M, Ishibashi H, Hayashida K, Niho Y: **HLA DRB4 0101-restricted immunodominant T cell autoepitope of pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: evidence of molecular mimicry in human autoimmune diseases.** *J Exp Med* 1995, **181**(5):1835-1845.
453. Burroughs AK, Rosenstein IJ, Epstein O, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W, Sherlock S: **Bacteriuria and primary biliary cirrhosis.** *Gut* 1984, **25**(2):133-137.
454. Butler P, Valle F, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W, Baum H, Burroughs AK: **M2 mitochondrial antibodies and urinary rough mutant bacteria in patients with primary biliary cirrhosis and in patients with recurrent bacteriuria.** *J Hepatol* 1993, **17**(3):408-414.
455. Vilagut L, Pares A, Vinas O, Vila J, Jimenez de Anta MT, Rodes J: **Antibodies to mycobacterial 65-kD heat shock protein cross-react with the main mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis.** *Eur J Clin Invest* 1997, **27**(8):667-672.

456. Klein R, Wiebel M, Engelhart S, Berg PA: **Sera from patients with tuberculosis recognize the M2a-epitope (E2-subunit of pyruvate dehydrogenase) specific for primary biliary cirrhosis.** *Clin Exp Immunol* 1993, **92**(2):308-316.
457. Nilsson I, Lindgren S, Eriksson S, Wadstrom T: **Serum antibodies to Helicobacter hepaticus and Helicobacter pylori in patients with chronic liver disease.** *Gut* 2000, **46**(3):410-414.
458. Abdulkarim AS, Petrovic LM, Kim WR, Angulo P, Lloyd RV, Lindor KD: **Primary biliary cirrhosis: an infectious disease caused by Chlamydia pneumoniae?** *J Hepatol* 2004, **40**(3):380-384.
459. Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, Masuda S, Nakamura Y: **Molecular identification of bacterial 16S ribosomal RNA gene in liver tissue of primary biliary cirrhosis: Is Propionibacterium acnes involved in granuloma formation.** *Hepatology* 2001, **33**:530-536.
460. Mason AL, Xu L, Guo L, Munoz S, Jaspán JB, Bryer-Ash M, Cao Y, Sander DM, Shoenfeld Y, Ahmed A *et al*: **Detection of retroviral antibodies in primary biliary cirrhosis and other idiopathic biliary disorders.** *Lancet* 1998, **351**(9116):1620-1624.
461. Xu L, Shen Z, Guo L, Fodera B, Keogh A, Joplin R, O'Donnell B, Aitken J, Carman W, Neuberger J *et al*: **Does a betaretrovirus infection trigger primary biliary cirrhosis?** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, **100**(14):8454-8459.
462. Shimoda S, Nakamura M, Shigematsu H, Tanimoto H, Gushima T, Gershwin ME, Ishibashi H: **Mimicry peptides of human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant T-cell epitope of primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 2000, **31**(6):1212-1216.
463. Kita H, Matsumura S, He XS, Ansari AA, Lian ZX, Van de Water J, Coppel RL, Kaplan MM, Gershwin ME: **Analysis of TCR antagonism and molecular mimicry of an HLA-A0201-restricted CTL epitope in primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 2002, **36**(4 Pt 1):918-926.
464. Selmi C, Balkwill DL, Invernizzi P, Ansari AA, Coppel RL, Podda M, Leung PS, Kenny TP, Van De Water J, Nantz MH *et al*: **Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium.** *Hepatology* 2003, **38**(5):1250-1257.
465. Christensen E, Crowe J, Doniach D, Popper H, Ranek L, Rodes J, Tygstrup N, Williams R: **Clinical pattern and course of disease in primary biliary cirrhosis based on an analysis of 236 patients.** *Gastroenterology* 1980, **78**(2):236-246.
466. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A: **Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making.** *Hepatology* 1989, **10**(1):1-7.
467. Roll J, Boyer JL, Barry D, Klatskin G: **The prognostic importance of clinical and histologic features in asymptomatic and symptomatic primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1983, **308**(1):1-7.
468. Christensen E, Neuberger J, Crowe J, Altman DG, Popper H, Portmann B, Doniach D, Ranek L, Tygstrup N, Williams R: **Beneficial effect of azathioprine and prediction of prognosis in primary biliary cirrhosis. Final results of an international trial.** *Gastroenterology* 1985, **89**(5):1084-1091.

469. Rydning A, Schruppf E, Abdelnoor M, Elgjo K, Jenssen E: **Factors of prognostic importance in primary biliary cirrhosis.** *Scand J Gastroenterol* 1990, **25**(2):119-126.
470. Heseltine L, Turner IB, Fussey SP, Kelly PJ, James OF, Yeaman SJ, Bassendine MF: **Primary biliary cirrhosis. Quantitation of autoantibodies to purified mitochondrial enzymes and correlation with disease progression.** *Gastroenterology* 1990, **99**(6):1786-1792.
471. Van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD, Therneau TM, Gershwin ME, Leung PS, Dickson ER, Homburger HA: **Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: relationship of levels of autoantibodies to disease progression.** *Hepatology* 1997, **25**(1):6-11.
472. Mitchison HC, Bassendine MF, Hendrick A, Bennett MK, Bird G, Watson AJ, James OF: **Positive antimitochondrial antibody but normal alkaline phosphatase: is this primary biliary cirrhosis?** *Hepatology* 1986, **6**(6):1279-1284.
473. Kisand KE, Metskula K, Kisand KV, Kivik T, Gershwin ME, Uibo R: **The follow-up of asymptomatic persons with antibodies to pyruvate dehydrogenase in adult population samples.** *J Gastroenterol* 2001, **36**(4):248-254.
474. Heuman DM, Bajaj R: **Ursodeoxycholate conjugates protect against disruption of cholesterol-rich membranes by bile salts.** *Gastroenterology* 1994, **106**(5):1333-1341.
475. Hillaire S, Boucher E, Calmus Y, Gane P, Ballet F, Franco D, Moukthar M, Poupon R: **Effects of bile acids and cholestasis on major histocompatibility complex class I in human and rat hepatocytes.** *Gastroenterology* 1994, **107**(3):781-788.
476. Yoshikawa M, Tsujii T, Matsumura K, Yamao J, Matsumura Y, Kubo R, Fukui H, Ishizaka S: **Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses.** *Hepatology* 1992, **16**(2):358-364.
477. Zachou K, Rigopoulou E, Liaskos C, Patsiaoura K, Makri E, Stathakis N, Dalekos GN: **Primary biliary cirrhosis presented as peripheral eosinophilia in asymptomatic women with or without elevated alkaline phosphatase.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, **16**(4):425-428.
478. Rodrigues CM, Steer CJ: **Mitochondrial membrane perturbations in cholestasis.** *J Hepatol* 2000, **32**(1):135-141.
479. Lindor KD, Dickson ER, Baldus WP, Jorgensen RA, Ludwig J, Murtaugh PA, Harrison JM, Wiesner RH, Anderson ML, Lange SM *et al*: **Ursodeoxycholic acid in the treatment of primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1994, **106**(5):1284-1290.
480. Poupon RE, Balkau B, Eschwege E, Poupon R: **A multicenter, controlled trial of ursodiol for the treatment of primary biliary cirrhosis. UDCA-PBC Study Group.** *N Engl J Med* 1991, **324**(22):1548-1554.
481. Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Walker V, Bailey RJ, Blendis LM, Ghent CN, Michieletti P, Minuk GY, Pappas SC, Scully LJ *et al*: **The Canadian Multicenter Double-blind Randomized Controlled Trial of**

- ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1994, **19**(5):1149-1156.
482. Pares A, Caballeria L, Rodes J, Bruguera M, Rodrigo L, Garcia-Plaza A, Berenguer J, Rodriguez-Martinez D, Mercader J, Velicia R: **Long-term effects of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: results of a double-blind controlled multicentric trial. UDCA-Cooperative Group from the Spanish Association for the Study of the Liver.** *J Hepatol* 2000, **32**(4):561-566.
483. Combes B, Carithers RL, Jr., Maddrey WC, Lin D, McDonald MF, Wheeler DE, Eigenbrodt EH, Munoz SJ, Rubin R, Garcia-Tsao G *et al*: **A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 1995, **22**(3):759-766.
484. Leuschner M, Dietrich CF, You T, Seidl C, Raedle J, Herrmann G, Ackermann H, Leuschner U: **Characterisation of patients with primary biliary cirrhosis responding to long term ursodeoxycholic acid treatment.** *Gut* 2000, **46**(1):121-126.
485. Goulis J, Leandro G, Burroughs AK: **Randomised controlled trials of ursodeoxycholic-acid therapy for primary biliary cirrhosis: a meta-analysis.** *Lancet* 1999, **354**(9184):1053-1060.
486. Poupon RE: **Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis: lessons from the past--issues for the future.** *J Hepatol* 2000, **32**(4):685-688.
487. Mitchison HC, Bassendine MF, Malcolm AJ, Watson AJ, Record CO, James OF: **A pilot, double-blind, controlled 1-year trial of prednisolone treatment in primary biliary cirrhosis: hepatic improvement but greater bone loss.** *Hepatology* 1989, **10**(4):420-429.
488. Mitchison HC, Palmer JM, Bassendine MF, Watson AJ, Record CO, James OF: **A controlled trial of prednisolone treatment in primary biliary cirrhosis. Three-year results.** *J Hepatol* 1992, **15**(3):336-344.
489. Crowe J, Christensen E, Smith M, Cochrane M, Ranek L, Watkinson G, Doniach D, Popper H, Tygstrup N, Williams R: **Azathioprine in primary biliary cirrhosis: a preliminary report of an international trial.** *Gastroenterology* 1980, **78**(5 Pt 1):1005-1010.
490. Wiesner RH, Ludwig J, Lindor KD, Jorgensen RA, Baldus WP, Homburger HA, Dickson ER: **A controlled trial of cyclosporine in the treatment of primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1990, **322**(20):1419-1424.
491. Lombard M, Portmann B, Neuberger J, Williams R, Tygstrup N, Ranek L, Ring-Larsen H, Rodes J, Navasa M, Trepo C *et al*: **Cyclosporin A treatment in primary biliary cirrhosis: results of a long-term placebo controlled trial.** *Gastroenterology* 1993, **104**(2):519-526.
492. Kaplan MM, Knox TA: **Treatment of primary biliary cirrhosis with low-dose weekly methotrexate.** *Gastroenterology* 1991, **101**(5):1332-1338.
493. Hendrickse MT, Rigney E, Giaffer MH, Soomro I, Triger DR, Underwood JC, Gleeson D: **Low-dose methotrexate is ineffective in primary biliary cirrhosis: long-term results of a placebo-controlled trial.** *Gastroenterology* 1999, **117**(2):400-407.

494. Dickson ER, Fleming TR, Wiesner RH, Baldus WP, Fleming CR, Ludwig J, McCall JT: **Trial of penicillamine in advanced primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1985, **312**(16):1011-1015.
495. Kaplan MM, Alling DW, Zimmerman HJ, Wolfe HJ, Sepersky RA, Hirsch GS, Elta GH, Glick KA, Eagen KA: **A prospective trial of colchicine for primary biliary cirrhosis.** *N Engl J Med* 1986, **315**(23):1448-1454.
496. McCormick PA, Scott F, Epstein O, Burroughs AK, Scheuer PJ, McIntyre N: **Thalidomide as therapy for primary biliary cirrhosis: a double-blind placebo controlled pilot study.** *J Hepatol* 1994, **21**(4):496-499.
497. Hoofnagle JH, Davis GL, Schafer DF, Peters M, Avigan MI, Pappas SC, Hanson RG, Minuk GY, Dusheiko GM, Campbell G *et al*: **Randomized trial of chlorambucil for primary biliary cirrhosis.** *Gastroenterology* 1986, **91**(6):1327-1334.
498. Angulo P, Patel T, Jorgensen RA, Therneau TM, Lindor KD: **Silymarin in the treatment of patients with primary biliary cirrhosis with a suboptimal response to ursodeoxycholic acid.** *Hepatology* 2000, **32**(5):897-900.
499. Kurihara T, Niimi A, Maeda A, Shigemoto M, Yamashita K: **Bezafibrate in the treatment of primary biliary cirrhosis: comparison with ursodeoxycholic acid.** *Am J Gastroenterol* 2000, **95**(10):2990-2992.
500. Jones EA: **Rationale for trials of long-term mycophenolate mofetil therapy for primary biliary cirrhosis.** *Hepatology* 2002, **35**(2):258-262.
501. Leuschner M, Guldutuna S, You T, Hubner K, Bhatti S, Leuschner U: **Ursodeoxycholic acid and prednisolone versus ursodeoxycholic acid and placebo in the treatment of early stages of primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 1996, **25**(1):49-57.
502. Leuschner M, Maier KP, Schlichting J, Strahl S, Herrmann G, Dahm HH, Ackermann H, Happ J, Leuschner U: **Oral budesonide and ursodeoxycholic acid for treatment of primary biliary cirrhosis: results of a prospective double-blind trial.** *Gastroenterology* 1999, **117**(4):918-925.
503. Angulo P, Jorgensen RA, Keach JC, Dickson ER, Smith C, Lindor KD: **Oral budesonide in the treatment of patients with primary biliary cirrhosis with a suboptimal response to ursodeoxycholic acid.** *Hepatology* 2000, **31**(2):318-323.
504. Wolfhagen FH, van Hoogstraten HJ, van Buuren HR, van Berge-Henegouwen GP, ten Kate FJ, Hop WC, van der Hoek EW, Kerbert MJ, van Lijf HH, den Ouden JW *et al*: **Triple therapy with ursodeoxycholic acid, prednisone and azathioprine in primary biliary cirrhosis: a 1-year randomized, placebo-controlled study.** *J Hepatol* 1998, **29**(5):736-742.
505. Lindor KD, Dickson ER, Jorgensen RA, Anderson ML, Wiesner RH, Gores GJ, Lange SM, Rossi SS, Hofmann AF, Baldus WP: **The combination of ursodeoxycholic acid and methotrexate for patients with primary biliary cirrhosis: the results of a pilot study.** *Hepatology* 1995, **22**(4 Pt 1):1158-1162.

506. Gonzalez-Koch A, Brahm J, Antezana C, Smok G, Cumsille MA: **The combination of ursodeoxycholic acid and methotrexate for primary biliary cirrhosis is not better than ursodeoxycholic acid alone.** *J Hepatol* 1997, **27**(1):143-149.
507. Poupon RE, Huet PM, Poupon R, Bonnand AM, Nhieu JT, Zafrani ES: **A randomized trial comparing colchicine and ursodeoxycholic acid combination to ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. UDCA-PBC Study Group.** *Hepatology* 1996, **24**(5):1098-1103.
508. Almasio PL, Floreani A, Chiaramonte M, Provenzano G, Battezzati P, Crosignani A, Podda M, Todros L, Rosina F, Saccoccio G *et al*: **Multicentre randomized placebo-controlled trial of ursodeoxycholic acid with or without colchicine in symptomatic primary biliary cirrhosis.** *Aliment Pharmacol Ther* 2000, **14**(12):1645-1652.
509. Cullen S, Chapman R: **Primary sclerosing cholangitis.** *Autoimmun Rev* 2003, **2**(6):305-312.
510. Lee YM, Kaplan MM: **Primary sclerosing cholangitis.** *N Engl J Med* 1995, **332**(14):924-933.
511. Wiesner RH, Grambsch PM, Dickson ER, Ludwig J, MacCarty RL, Hunter EB, Fleming TR, Fisher LD, Beaver SJ, LaRusso NF: **Primary sclerosing cholangitis: natural history, prognostic factors and survival analysis.** *Hepatology* 1989, **10**(4):430-436.
512. Wilschanski M, Chait P, Wade JA, Davis L, Corey M, St Louis P, Griffiths AM, Blendis LM, Moroz SP, Scully L *et al*: **Primary sclerosing cholangitis in 32 children: clinical, laboratory, and radiographic features, with survival analysis.** *Hepatology* 1995, **22**(5):1415-1422.
513. Debray D, Pariente D, Urvoas E, Hadchouel M, Bernard O: **Sclerosing cholangitis in children.** *J Pediatr* 1994, **124**(1):49-56.
514. Escorsell A, Pares A, Rodes J, Solis-Herruzo JA, Miras M, de la Morena E: **Epidemiology of primary sclerosing cholangitis in Spain. Spanish Association for the Study of the Liver.** *J Hepatol* 1994, **21**(5):787-791.
515. Takikawa H, Manabe T: **Primary sclerosing cholangitis in Japan--analysis of 192 cases.** *J Gastroenterol* 1997, **32**(1):134-137.
516. Kochhar R, Goenka MK, Das K, Nagi B, Bhasin DK, Chawla YK, Vaiphei K, Singh K, Dilawari JB: **Primary sclerosing cholangitis: an experience from India.** *J Gastroenterol Hepatol* 1996, **11**(5):429-433.
517. Ponsioen CI, Tytgat GN: **Primary sclerosing cholangitis: a clinical review.** *Am J Gastroenterol* 1998, **93**(4):515-523.
518. Schrupf E, Boberg KM: **Epidemiology of primary sclerosing cholangitis.** *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001, **15**(4):553-562.
519. Okolicsanyi L, Fabris L, Viaggi S, Carulli N, Podda M, Ricci G: **Primary sclerosing cholangitis: clinical presentation, natural history and prognostic variables: an Italian multicentre study. The Italian PSC Study Group.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996, **8**(7):685-691.
520. Saarinen S, Olerup O, Broome U: **Increased frequency of autoimmune diseases in patients with primary sclerosing cholangitis.** *Am J Gastroenterol* 2000, **95**(11):3195-3199.

521. Chapman RW, Arborgh BA, Rhodes JM, Summerfield JA, Dick R, Scheuer PJ, Sherlock S: **Primary sclerosing cholangitis: a review of its clinical features, cholangiography, and hepatic histology.** *Gut* 1980, **21**(10):870-877.
522. Wiesner RH, LaRusso NF: **Clinicopathologic features of the syndrome of primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 1980, **79**(2):200-206.
523. Broome U, Olsson R, Loof L, Bodemar G, Hultcrantz R, Danielsson A, Prytz H, Sandberg-Gertzen H, Wallerstedt S, Lindberg G: **Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis.** *Gut* 1996, **38**(4):610-615.
524. Boberg KM, Fausa O, Haaland T, Holter E, Mellbye OJ, Spurkland A, Schruppf E: **Features of autoimmune hepatitis in primary sclerosing cholangitis: an evaluation of 114 primary sclerosing cholangitis patients according to a scoring system for the diagnosis of autoimmune hepatitis.** *Hepatology* 1996, **23**(6):1369-1376.
525. Schruppf E, Fausa O, Kolmannskog F, Elgjo K, Ritland S, Gjone E: **Sclerosing cholangitis in ulcerative colitis. A follow-up study.** *Scand J Gastroenterol* 1982, **17**(1):33-39.
526. Zauli D, Schruppf E, Crespi C, Cassani F, Fausa O, Aadland E: **An autoantibody profile in primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 1987, **5**(1):14-18.
527. Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, LaRusso NF, Lindsay KL, Wiesner RH, Shanahan F: **Neutrophil cytoplasmic antibodies: a link between primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis.** *Gastroenterology* 1991, **100**(5 Pt 1):1385-1391.
528. Klein R, Eisenburg J, Weber P, Seibold F, Berg PA: **Significance and specificity of antibodies to neutrophils detected by western blotting for the serological diagnosis of primary sclerosing cholangitis.** *Hepatology* 1991, **14**(6):1147-1152.
529. Seibold F, Weber P, Klein R, Berg PA, Wiedmann KH: **Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis.** *Gut* 1992, **33**(5):657-662.
530. Bansi DS, Bauducci M, Bergqvist A, Boberg K, Broome U, Chapman R, Fleming K, Jorgensen R, Lindor K, Rosina F *et al*: **Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary sclerosing cholangitis: a comparison of the alkaline phosphatase and immunofluorescent techniques.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997, **9**(6):575-580.
531. Pokorny CS, Norton ID, McCaughan GW, Selby WS: **Anti-neutrophil cytoplasmic antibody: a prognostic indicator in primary sclerosing cholangitis.** *J Gastroenterol Hepatol* 1994, **9**(1):40-44.
532. Terjung B, Worman HJ: **Anti-neutrophil antibodies in primary sclerosing cholangitis.** *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001, **15**(4):629-642.
533. Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ: **"Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-**

- kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines.** *Gastroenterology* 2000, **119**(2):310-322.
534. Rubel LR, Seeff LB, Patel V: **Primary biliary cirrhosis-primary sclerosing cholangitis overlap syndrome.** *Arch Pathol Lab Med* 1984, **108**(5):360-361.
535. Burak KW, Urbanski SJ, Swain MG: **A case of coexisting primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: a new overlap of autoimmune liver diseases.** *Dig Dis Sci* 2001, **46**(9):2043-2047.
536. Chapman RW, Cottone M, Selby WS, Shepherd HA, Sherlock S, Jewell DP: **Serum autoantibodies, ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis.** *Gut* 1986, **27**(1):86-91.
537. Donaldson PT, Farrant JM, Wilkinson ML, Hayllar K, Portmann BC, Williams R: **Dual association of HLA DR2 and DR3 with primary sclerosing cholangitis.** *Hepatology* 1991, **13**(1):129-133.
538. Mehal WZ, Lo YM, Wordsworth BP, Neuberger JM, Hubscher SC, Fleming KA, Chapman RW: **HLA DR4 is a marker for rapid disease progression in primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 1994, **106**(1):160-167.
539. Olerup O, Olsson R, Hultcrantz R, Broome U: **HLA-DR and HLA-DQ are not markers for rapid disease progression in primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 1995, **108**(3):870-878.
540. Boberg KM, Spurkland A, Rocca G, Egeland T, Saarinen S, Mitchell S, Broome U, Chapman R, Olerup O, Pares A *et al*: **The HLA-DR3,DQ2 heterozygous genotype is associated with an accelerated progression of primary sclerosing cholangitis.** *Scand J Gastroenterol* 2001, **36**(8):886-890.
541. Donaldson PT, Norris S, Constantini PK, Bernal W, Harrison P, Williams R: **The interleukin-1 and interleukin-10 gene polymorphisms in primary sclerosing cholangitis: no associations with disease susceptibility/resistance.** *J Hepatol* 2000, **32**(6):882-886.
542. Bernal W, Moloney M, Underhill J, Donaldson PT: **Association of tumor necrosis factor polymorphism with primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 1999, **30**(2):237-241.
543. Satsangi J, Chapman RW, Haldar N, Donaldson P, Mitchell S, Simmons J, Norris S, Marshall SE, Bell JI, Jewell DP *et al*: **A functional polymorphism of the stromelysin gene (MMP-3) influences susceptibility to primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 2001, **121**(1):124-130.
544. Bergquist A, Lindberg G, Saarinen S, Broome U: **Increased prevalence of primary sclerosing cholangitis among first-degree relatives.** *J Hepatol* 2005, **42**(2):252-256.
545. Barbatis C, Grases P, Shepherd HA, Chapman RW, Trowell J, Jewell DP, McGee JO: **Histological features of sclerosing cholangitis in patients with chronic ulcerative colitis.** *J Clin Pathol* 1985, **38**(7):778-783.
546. MacCarty RL, LaRusso NF, Wiesner RH, Ludwig J: **Primary sclerosing cholangitis: findings on cholangiography and pancreatography.** *Radiology* 1983, **149**(1):39-44.

547. Epstein O, Chapman RW, Lake-Bakaar G, Foo AY, Rosalki SB, Sherlock S: **The pancreas in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 1982, **83**(6):1177-1182.
548. Cullen S, Chapman R: **Aetiopathogenesis of primary sclerosing cholangitis.** *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001, **15**(4):577-589.
549. Sherlock S: **Pathogenesis of sclerosing cholangitis: the role of nonimmune factors.** *Semin Liver Dis* 1991, **11**(1):5-10.
550. Ludwig J, Kim CH, Wiesner RH, Krom RA: **Floxuridine-induced sclerosing cholangitis: an ischaemic cholangiopathy?** *Hepatology* 1989, **9**:215-218.
551. Loftus EV, Jr., Sandborn WJ, Tremaine WJ, Mahoney DW, Zinsmeister AR, Offord KP, Melton LJ, 3rd: **Primary sclerosing cholangitis is associated with nonsmoking: a case-control study.** *Gastroenterology* 1996, **110**(5):1496-1502.
552. Bergquist A, Glaumann H, Persson B, Broome U: **Risk factors and clinical presentation of hepatobiliary carcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis: a case-control study.** *Hepatology* 1998, **27**(2):311-316.
553. Wadstrom T, Ljungh A, Willen R: **Primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis are of infectious origin!** *Gut* 2001, **49**(3):454.
554. Lichtman SN, Sartor RB, Keku J, Schwab JH: **Hepatic inflammation in rats with experimental small intestinal bacterial overgrowth.** *Gastroenterology* 1990, **98**(2):414-423.
555. Vierling J: **Aetiopathogenesis of primary sclerosing cholangitis.** *Manns PCR, Stiehl A, Wiesner R, editors Primary sclerosing cholangitis London: Kluwer Academic Publishers* 1998:9.
556. Grant AJ, Lalor PF, Salmi M, Jalkanen S, Adams DH: **Homing of mucosal lymphocytes to the liver in the pathogenesis of hepatic complications of inflammatory bowel disease.** *Lancet* 2002, **359**(9301):150-157.
557. Aadland E, Schrupf E, Fausa O, Elgjo K, Heilo A, Aakhus T, Gjone E: **Primary sclerosing cholangitis: a long-term follow-up study.** *Scand J Gastroenterol* 1987, **22**(6):655-664.
558. Porayko MK, Wiesner RH, LaRusso NF, Ludwig J, MacCarty RL, Steiner BL, Twomey CK, Zinsmeister AR: **Patients with asymptomatic primary sclerosing cholangitis frequently have progressive disease.** *Gastroenterology* 1990, **98**(6):1594-1602.
559. Farrant JM, Hayllar KM, Wilkinson ML, Karani J, Portmann BC, Westaby D, Williams R: **Natural history and prognostic variables in primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 1991, **100**(6):1710-1717.
560. Dickson ER, Murtaugh PA, Wiesner RH, Grambsch PM, Fleming TR, Ludwig J, LaRusso NF, Malinchoc M, Chapman RW, Kaplan MM *et al*: **Primary sclerosing cholangitis: refinement and validation of survival models.** *Gastroenterology* 1992, **103**(6):1893-1901.
561. Abu-Elmagd KM, Selby R, Iwatsuki S, Fung J, Tzakis A, Todo S, Demetris AJ, Baddour N, Irish W, Van Thiel DH *et al*: **Cholangiocarcinoma and sclerosing cholangitis: clinical**

- characteristics and effect on survival after liver transplantation.** *Transplant Proc* 1993, **25**(1 Pt 2):1124-1125.
562. Rosen CB, Nagorney DM, Wiesner RH, Coffey RJ, Jr., LaRusso NF: **Cholangiocarcinoma complicating primary sclerosing cholangitis.** *Ann Surg* 1991, **213**(1):21-25.
563. Bergquist A, Ekbom A, Olsson R, Kornfeldt D, Loof L, Danielsson A, Hultcrantz R, Lindgren S, Prytz H, Sandberg-Gertzen H *et al*: **Hepatic and extrahepatic malignancies in primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 2002, **36**(3):321-327.
564. Kim WR, Therneau TM, Wiesner RH, Poterucha JJ, Benson JT, Malinchoc M, LaRusso NF, Lindor KD, Dickson ER: **A revised natural history model for primary sclerosing cholangitis.** *Mayo Clin Proc* 2000, **75**(7):688-694.
565. Levy C, Lindor KD: **Current management of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 2003, **38** Suppl 1:S24-37.
566. Beuers U, Spengler U, Kruis W, Aydemir U, Wiebecke B, Heldwein W, Weinzierl M, Pape GR, Sauerbruch T, Paumgartner G: **Ursodeoxycholic acid for treatment of primary sclerosing cholangitis: a placebo-controlled trial.** *Hepatology* 1992, **16**(3):707-714.
567. Lo S, Hermann R, Chapman R, Flemming K, Sherman J, P C: **Ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis: a double-blind placebo controlled trial.** *Hepatology* 1992, **16**:92A.
568. Van Thiel DH, Wright H, Gavalier J: **Ursodeoxycholic acid therapy from primary sclerosing cholangitis: preliminary report of a randomized controlled trial.** *Hepatology* 1992, **16**:62A.
569. Stiehl A, Walker S, Stiehl L, Rudolph G, Hofmann WJ, Theilmann L: **Effect of ursodeoxycholic acid on liver and bile duct disease in primary sclerosing cholangitis. A 3-year pilot study with a placebo-controlled study period.** *J Hepatol* 1994, **20**(1):57-64.
570. De Maria N, Colantoni A, Rosenbloom E, Van Thiel DH: **Ursodeoxycholic acid does not improve the clinical course of primary sclerosing cholangitis over a 2-year period.** *Hepatogastroenterology* 1996, **43**(12):1472-1479.
571. Lindor KD: **Ursodiol for primary sclerosing cholangitis.** **Mayo Primary Sclerosing Cholangitis-Ursodeoxycholic Acid Study Group.** *N Engl J Med* 1997, **336**(10):691-695.
572. van Hoogstraten HJ, Wolfhagen FH, van de Meeberg PC, Kuiper H, Nix GA, Becx MC, Hoek AC, van Houte DP, Rijk MC, Salemans JM *et al*: **Ursodeoxycholic acid therapy for primary sclerosing cholangitis: results of a 2-year randomized controlled trial to evaluate single versus multiple daily doses.** *J Hepatol* 1998, **29**(3):417-423.
573. Mitchell SA, Bansi DS, Hunt N, Von Bergmann K, Fleming KA, Chapman RW: **A preliminary trial of high-dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis.** *Gastroenterology* 2001, **121**(4):900-907.

574. Harnois DM, Angulo P, Jorgensen RA, Larusso NF, Lindor KD: **High-dose ursodeoxycholic acid as a therapy for patients with primary sclerosing cholangitis.** *Am J Gastroenterol* 2001, **96**(5):1558-1562.
575. Baluyut AR, Sherman S, Lehman GA, Hoen H, Chalasani N: **Impact of endoscopic therapy on the survival of patients with primary sclerosing cholangitis.** *Gastrointest Endosc* 2001, **53**(3):308-312.
576. Sekido H, Takeda K, Morioka D, Kubota T, Tanaka K, Endo I, Nagahori K, Togo S, Shimada H: **Liver transplantation for primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999, **6**(4):373-376.
577. Nashan B, Schlitt HJ, Tusch G, Oldhafer KJ, Ringe B, Wagner S, Pichlmayr R: **Biliary malignancies in primary sclerosing cholangitis: timing for liver transplantation.** *Hepatology* 1996, **23**(5):1105-1111.
578. Meyer CG, Penn I, James L: **Liver transplantation for cholangiocarcinoma: results in 207 patients.** *Transplantation* 2000, **69**(8):1633-1637.
579. Graziadei IW, Wiesner RH, Batts KP, Marotta PJ, LaRusso NF, Porayko MK, Hay JE, Gores GJ, Charlton MR, Ludwig J *et al*: **Recurrence of primary sclerosing cholangitis following liver transplantation.** *Hepatology* 1999, **29**(4):1050-1056.
580. Vogel A, Wedemeyer H, M PM, Strassburg CP: **Autoimmune hepatitis and overlap syndromes.** *J Gastroenterol Hepatol* 2002, **17** Suppl 3:S389-S398.
581. Poupon R: **Autoimmune overlapping syndromes.** *Clin Liver Dis* 2003, **7**(4):865-878.
582. Talwalkar JA, Keach JC, Angulo P, Lindor KD: **Overlap of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis: an evaluation of a modified scoring system.** *Am J Gastroenterol* 2002, **97**(5):1191-1197.
583. Joshi S, Cauch-Dudek K, Wanless IR, Lindor KD, Jorgensen R, Batts K, Heathcote EJ: **Primary biliary cirrhosis with additional features of autoimmune hepatitis: response to therapy with ursodeoxycholic acid.** *Hepatology* 2002, **35**(2):409-413.
584. Czaja AJ: **Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease.** *Hepatology* 1998, **28**(2):360-365.
585. Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, Montembault S, Rosmorduc O, Poupon R: **Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy.** *Hepatology* 1998, **28**(2):296-301.
586. Kaya M, Angulo P, Lindor KD: **Overlap of autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis: an evaluation of a modified scoring system.** *J Hepatol* 2000, **33**(4):537-542.
587. van Buuren HR, van Hoogstraten HJE, Terkivatan T, Schalm SW, Vleggaar FP: **High prevalence of autoimmune hepatitis among patients with primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 2000, **33**(4):543-548.
588. Muratori L, Cassani F, Pappas G, Guidi M, Mele L, Lorenza V, Lenzi M, Bianchi FB, Muratori P: **The hepatitic/cholestatic "overlap" syndrome: an Italian experience.** *Autoimmunity* 2002, **35**(8):565-568.

589. Kyriakou DS, Alexandrakis MG, Zachou K, Passam F, Stathakis NE, Dalekos GN: **Hemopoietic progenitor cells and bone marrow stromal cells in patients with autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis.** *J Hepatol* 2003, **39**(5):679-685.
590. **EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris, 26-28, February 1999, Consensus Statement.** European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 1999, **30**(5):956-961.
591. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J: **Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis.** *Hepatology* 1981, **1**(5):431-435.
592. Goodman ZD, Ishak KG: **Histopathology of hepatitis C virus infection.** *Semin Liver Dis* 1995, **15**(1):70-81.
593. Tincani A, Allegri F, Sanmarco M, Cinquini M, Taglietti M, Balestrieri G, Koike T, Ichikawa K, Meroni P, Boffa MC: **Anticardiolipin antibody assay: a methodological analysis for a better consensus in routine determinations--a cooperative project of the European Antiphospholipid Forum.** *Thromb Haemost* 2001, **86**(2):575-583.
594. Reber G, Arvieux J, Comby E, Degenne D, De Moerloose P, Sanmarco M: **Multicenter evaluation of nine commercial kits for quantification of anticardiolipin antibodies. The Working Group on Methodologies in Haemostasis from GEHT (Group de Etudes sur la Hemostase et la Thrombose).** *Thromb Haemost* 1995, **73**:444-452.
595. Reber G, Schousboe I, Tincani A, Sanmarco M, Kveder T, de Moerloose P, Boffa MC, Arvieux J: **Inter-laboratory variability of anti-beta2-glycoprotein I measurement. A collaborative study in the frame of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies Standardization Group.** *Thromb Haemost* 2002, **88**(1):66-73.
596. Manoussakis MN, Gharavi AE, Drosos AA, Kitridou RC, Moutsopoulos HM: **Anticardiolipin antibodies in unselected autoimmune rheumatic disease patients.** *Clin Immunol Immunopathol* 1987, **44**(3):297-307.
597. Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJ, Goudevenos J, Moutsopoulos HM: **High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population.** *Clin Exp Immunol* 1987, **69**(3):557-565.
598. Dalekos GN, Ringstad J, Savaidis I, Seferiadis KI, Tsianos EV: **Zinc, copper and immunological markers in the circulation of well nourished patients with ulcerative colitis.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998, **10**(4):331-337.
599. Lewis S, Keil LB, Binder WL, DeBari VA: **Standardized measurement of major immunoglobulin class (IgG, IgA, and IgM) antibodies to beta2glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome.** *J Clin Lab Anal* 1998, **12**(5):293-297.
600. Kamoun PP: **Denaturation of globular proteins by urea: breakdown of hydrogen or hydrophobic bonds?** *Trends Biochem Sci* 1988, **13**(11):424-425.

601. Bohinski RC: **in: Modern Concepts in Biochemistry, 2th edition:** Allyn Bacon; 1976.
602. Newsholme EA, Leech AR: **in: Biochemistry for the Medical Sciences:** John Wiley and Sons; 1983.
603. Creighton TE: **in Proteins-Structure and Molecular Principles.** 1983:p149-152 and 291-295.
604. Devlin TM: **in: Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations.** 1986:p62.
605. Cucnik S, Kveder T, Rozman B, Bozic B: **Binding of high-avidity anti-beta2-glycoprotein I antibodies.** *Rheumatology (Oxford)* 2004, **43(11):1353-1356.**
606. Cucnik S, Kveder T, Krizaj I, Rozman B, Bozic B: **High avidity anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in patients with antiphospholipid syndrome.** *Ann Rheum Dis* 2004, **63(11):1478-1482.**
607. Vlachoyiannopoulos PG, Petrovas C, Tektonidou M, Krilis S, Moutsopoulos HM: **Antibodies to beta 2-glycoprotein-I: urea resistance, binding specificity, and association with thrombosis.** *J Clin Immunol* 1998, **18(6):380-391.**
608. de Larranaga GF, Harris N, Pierangeli SS, Alonso BS, Schroder T, Fainboim H: **[Low prevalence of autoimmune antiphospholipid antibodies in hepatic diseases].** *Medicina (B Aires)* 2000, **60(6):919-922.**
609. Yasuda T, Umise S, Saito K, Nishimagi T, Morifuji T, Kasukawa R: **Anticardiolipin antribodies on autoimmune liver disease.** *Syoukaki to Men-eki* 1989, **23:194-198.**
610. Klein R, Goller S, Bianchi L: **Nodular regenerative hyperplasia (NRH) of the liver--a manifestation of 'organ-specific antiphospholipid syndrome'?** *Immunobiology* 2003, **207(1):51-57.**
611. Pathmakanthan S, Kay EW, Murray FE: **Autoimmune chronic active hepatitis associated with the presence of antiphospholipid antibodies.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998, **10(2):155-157.**
612. Gurudu SR, Mittal SK, Shaber M, Gamboa E, Michael S, Sigal LH: **Autoimmune hepatitis associated with autoimmune hemolytic anemia and anticardiolipin antibody syndrome.** *Dig Dis Sci* 2000, **45(9):1878-1880.**
613. Tanaka H, Umekawa T, Kikukawa T, Toyoda N: **Autoimmune hepatitis complicated with antiphospholipid syndrome in pregnancy.** *Am J Reprod Immunol* 2002, **47(3):142-145.**
614. Dourakis SP, Michael AE, Papanikolaou IS, Nomikou E, Thalassinou P, Hadziyannis SJ: **Autoimmune hepatitis associated with the antiphospholipid syndrome.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001, **13(5):591-593.**
615. Katayama Y, Kohriyama K, Kirizuka K, Nishizaki H, Fujii H, Tanji Y: **Sjogren's syndrome complicated with autoimmune hepatitis and antiphospholipid antibody syndrome.** *Intern Med* 2000, **39(1):73-76.**
616. Benten D, Widjaja A, von Depka M, Flemming P, Trautwein C, Boker K, Vogel A, Rosenau J, Manns MP: **Autoimmune hepatitis associated with coagulation disorders and immunethyreopathy.** *Z Gastroenterol* 2001, **39(10):837-840.**

617. Tauchmanova L, Rossi R, Coppola A, Luciano A, Del Viscovo L, Soriente L, De Bellis A, Di Minno G, Lombardi G: **Antiphospholipid syndrome, adrenal failure, dilated cardiomyopathy and chronic hepatitis: an unusual manifestation of multiorgan autoimmune injury?** *Eur J Endocrinol* 1998, **139**(6):641-645.
618. Saeki R, Kaneko S, Terasaki S, Unoura M, Ogino H, Wakabayashi T, Kawara S, Nakanuma Y, Kobayashi K: **Mixed types of chronic active hepatitis and primary biliary cirrhosis associated with the anti-phospholipid antibody syndrome: a case report.** *Hepatogastroenterology* 1993, **40**(5):499-501.
619. Kesler A, Pomeranz IS, Huberman M, Novis B, Kott E: **Cerebral venous thrombosis and chronic active hepatitis as part of the antiphospholipid syndrome.** *Postgrad Med J* 1996, **72**(853):690-692.
620. Beales IL: **An acquired-pseudo Bernard Soulier syndrome occurring with autoimmune chronic active hepatitis and anti-cardiolipin antibody.** *Postgrad Med J* 1994, **70**(822):305-308.
621. Kobayashi N, Sakai M, Ohta M, Akagi M, Mori T, Fujino H, Oishi T, Inada Y, Okanou T, Kashima K: **[A case of autoimmune hepatitis with anti-phospholipid syndrome].** *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1998, **95**(6):557-562.
622. Nagayama K, Izumi N, Watanabe H, Saito K, Miyasaka Y, Noguchi O, Hoshino Y, Uchihara M, Miyake S, Sawabe M *et al*: **[A case of autoimmune hepatitis associated with anti-phospholipid antibody syndrome].** *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1997, **94**(10):695-699.
623. Barak N, Orion Y, Schneider M, Bernheim J, Mekori YA: **Case report: Hepatic involvement in antiphospholipid syndrome.** *J Gastroenterol Hepatol* 1999, **14**(11):1124-1128.
624. Hadjigogos K, Marinaki P: **Autoimmune hepatitis and the antiphospholipid antibody syndrome. A case report.** *Panminerva Med* 2003, **45**(3):223-224.
625. Cervera R, Asherson RA, Lie JT: **Clinicopathologic correlations of the antiphospholipid syndrome.** *Semin Arthritis Rheum* 1995, **24**(4):262-272.
626. Asherson RA, Khamashta MA, Hughes GR: **The hepatic complications of the antiphospholipid antibodies.** *Clin Exp Rheumatol* 1991, **9**(4):341-344.
627. Hueber AJ, Boxberger F, Ganslmayer M, Hahn EG: **Antiphospholipid syndrome in combination with autoimmune hepatitis.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005, **17**(2):241-243.
628. Dalekos G, Skopouli F, Tsianos EV: **Primary biliary cirrhosis associated with anticardiolipin syndrome.** *Eur J Intern Med* 1995, **6**:179-181.
629. Hoffman M, Burke M, Fried M, Turner D, Yosipov Y, Yust I: **Primary biliary cirrhosis associated with antiphospholipid syndrome.** *Isr J Med Sci* 1997, **33**(10):681-686.
630. Tanaka A, Igarashi M, Kakinuma M, Oh-i T, Koga M, Okuda T: **The occurrence of various collagen diseases in one family: a sister with ISSc, PBC, APS, and SS and a brother with systemic lupus erythematosus.** *J Dermatol* 2001, **28**(10):547-553.

631. Aspinall AI, Lee SS: **Concurrence of primary biliary cirrhosis and antiphospholipid antibody syndrome.** *Am J Gastroenterol* 2004, **99**(10):2069-2070.
632. Cholongitas E, Mavrogiannaki A, Papaioannou C, Karagiannis S, Papatheodoridis GV: **Pericarditis and possible antiphospholipid syndrome on primary biliary cirrhosis.** *Ann Hepatol* 2004, **3**(4):167-168.
633. Jones JV, Mosher DP, Jones DE: **Antibodies to cardiolipin in patients with primary biliary cirrhosis.** *Can J Gastroenterol* 1989, **3**:98-102.
634. Cowchock S, Fort J, Munoz S, Norberg R, Maddrey W: **False positive ELISA tests for anticardiolipin antibodies in sera from patients with repeated abortion, rheumatologic disorders and primary biliary cirrhosis: correlation with elevated polyclonal IgM and implications for patients with repeated abortion.** *Clin Exp Immunol* 1988, **73**(2):289-294.
635. Angulo P, Peter JB, Gershwin ME, DeSotel CK, Shoenfeld Y, Ahmed AE, Lindor KD: **Serum autoantibodies in patients with primary sclerosing cholangitis.** *J Hepatol* 2000, **32**(2):182-187.
636. Kirby DF, Blei AT, Rosen ST, Vogelzang RL, Neiman HL: **Primary sclerosing cholangitis in the presence of a lupus anticoagulant.** *Am J Med* 1986, **81**(6):1077-1080.
637. Stevens HP, Ostlere LS, Rustin MH: **Systemic lupus erythematosus in association with ulcerative colitis: related autoimmune diseases.** *Br J Dermatol* 1994, **130**(3):385-389.
638. Yuste JR, Prieto J: **Anticardiolipin antibodies in chronic viral hepatitis. Do they have clinical consequences?** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003, **15**(7):717-719.
639. Elefsiniotis IS, Diamantis ID, Dourakis SP, Kafiri G, Pantazis K, Mavrogiannis C: **Anticardiolipin antibodies in chronic hepatitis B and chronic hepatitis D infection, and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. Relationship with portal vein thrombosis.** *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003, **15**(7):721-726.
640. Gharavi AE, Pierangeli SS, Harris EN: **New developments in viral peptides and APL induction.** *J Autoimmun* 2000, **15**(2):227-230.
641. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, Jacobsen S, Lakos G, Tincani A, Kontopoulou-Griva I *et al*: **Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients.** *Arthritis Rheum* 2002, **46**(4):1019-1027.
642. Shah NM, Khamashta MA, Atsumi T, Hughes GR: **Outcome of patients with anticardiolipin antibodies: a 10 year follow-up of 52 patients.** *Lupus* 1998, **7**(1):3-6.
643. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, Harley JB: **Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus.** *N Engl J Med* 2003, **349**(16):1526-1533.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο (APS) είναι μια αυτοάνοση διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται από αρτηριακές ή φλεβικές θρομβώσεις και από μαιευτικές επιπλοκές σε συνδυασμό με την παρουσία αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (αντι-PL). Τα αντι-PL είναι αντισώματα που στρέφονται έναντι συμπλέγματος αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων και πρωτεϊνών του πλάσματος (συμπαράγοντες). Σύμφωνα με τα πρόσφατα τροποποιημένα κριτήρια, μόνο τα αντικαρδιολιπινικά αντισώματα (αντι-CL) ή το αντιπηκτικό του λύκου (LA), αποτελούν αποδεκτά εργαστηριακά κριτήρια για να θεωρηθεί ένα δείγμα θετικό για αντι-PL. Έχει βρεθεί, ότι συμπαράγοντες όπως η β2-γλυκοπρωτεΐνη (β2-GPI) πρέπει να είναι παρόντες για να μπορούν τα αντι-PL αντισώματα να δεσμευτούν στα φωσφολιπίδια σε ασθενείς με APS. Αντίθετα σε άλλες χρόνιες φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η ελκώδης κολίτιδα ή σε διάφορες λοιμώξεις, φαίνεται ότι τα αντι-CL είναι μη παθογενετικά (ανεξάρτητα από συμπαράγοντες ή μη-θρομβογεννητικά).

Η ομάδα των αυτοανόσων νοσημάτων του ήπατος περιλαμβάνει την αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), την πρωτοπαθή χολική κίρρωση (ΠΧΚ) και την πρωτοπαθή σκληυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ). Η ΑΗ είναι μια χρόνια ηπατική διαταραχή που προσβάλλει κυρίως την περιπυλαία περιοχή και στην οποία συχνά ανευρίσκεται υπεργαμμασφαιριναιμία, χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα, έντονη γενετική συσχέτιση ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχει καλή ανταπόκριση στην θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Η ΠΧΚ είναι μια χρόνια αυτοάνοση χολοστατική νόσος η οποία προσβάλλει κυρίως γυναίκες μέσης ηλικίας και χαρακτηρίζεται από καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων από χρόνια, συχνά κοκκιωματώδη, φλεγμονή. Το 95% των

ασθενών ανιχνεύονται θετικοί για την παρουσία αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων. Η ΠΣΧ είναι μια χρόνια χολοστατική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή και ίνωση των ενδο- και εξωηπατικών χοληφόρων.

Τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος (ΑΝΗ) έχουν συσχετισθεί με αρκετές άλλες αυτοάνοσες διαταραχές και/ή σύνδρομα. Στην ΑΗ, κυρίως υπάρχει συσχετισμός με αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς, ελκώδη κολίτιδα, αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, σύνδρομο Sjogren και sicca, ρευματοειδή αρθρίτιδα. Σε ασθενείς με ΠΧΚ έχουν επίσης αναφερθεί μια ποικιλία άλλων αυτοάνοσων εκδηλώσεων, όπως σύνδρομο sicca, φαινόμενο Raynaud, σύνδρομο CREST, αυτοάνοσα νοσήματα του θυρεοειδούς, αρθρίτιδα, νεφρική σωληναριακή οξείδωση, σκληρόδερμα, αναιμία Biermer. Επιπλέον περίπου 70% των ασθενών με ΠΣΧ έχουν ελκώδη κολίτιδα ενώ υπάρχει επίσης συσχετισμός με άλλες αυτοάνοσες καταστάσεις όπως σύνδρομο Sjogren, θυρεοειδίτιδα Riedel, νόσο Crohn, Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο, πολυμοσσίτιδα.

Παρόλα αυτά, υπάρχουν πάρα πολύ λίγες αναφορές στην βιβλιογραφία για τον συσχετισμό μεταξύ ΑΝΗ και της παρουσίας αντι-PL και/ή εκδηλώσεων APS.

Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν:

- Να εκτιμήσει την συχνότητα και την κλινική σημαντικότητα της παρουσίας των IgG και/ή IgM αντι-CL αντισωμάτων σε διαδοχικούς ασθενείς με ΑΗ, ΠΧΚ, και ΠΣΧ και σε ασθενείς με άλλες ηπατικές παθήσεις καθώς σε υγιή πληθυσμό.

- Να εκτιμήσει εάν τα αντισώματα αυτά είναι παθογεννητικά (θρομβογενετικά) ή όχι. Στην προσπάθεια διερεύνησης αυτού, μελετήσαμε την εξάρτηση των αντισωμάτων αυτών από συμπαράγοντες και την συγγένεια τους (χαμηλή ή υψηλή αντίσταση της δέσμευσης των αντι-CL παρουσία αποδιατακτικών παραγόντων όπως η ουρία) επειδή η εξάρτηση από συμπαράγοντες ή η αυξημένη αντίσταση των αντι-CL στην ουρία έχει συσχετισθεί με εκδηλώσεις APS.
- Να εκτιμήσει τις παραμέτρους, που πιθανόν μπορεί να συσχετίζονται με την παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων. Για τον λόγο αυτό, η παρουσία των αντι-CL συσχετίστηκε με διάφορα δημογραφικά, επιδημιολογικά, κλινικά, εργαστηριακά, ιστολογικά και ιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

Βρέθηκε ότι ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με ANH, ανιχνεύθηκαν θετικοί για την παρουσία IgG και/ή IgM αντι-CL αντισωμάτων (50,8% στην ANH, 45% στην ΠΧΚ και 26,8% στην ΠΣΧ). Επιπλέον, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, οι ασθενείς που ήταν θετικοί στο πρώτο δείγμα, παρέμειναν θετικοί σε δύο τουλάχιστον διαδοχικές μετρήσεις, σε χρονική απόσταση τουλάχιστον 6 εβδομάδων.

Η θετικότητα για IgG, IgM ή για τουλάχιστον ενός ιστοτύπου αντι-CL αντισωμάτων δεν συσχετιζόταν με το φύλο, το ιστορικό κατανάλωσης αλκοόλ, την διάρκεια της νόσου, την παρουσία ή όχι εξωηπατικών αυτοανόσων εκδηλώσεων και το ιστορικό θρομβωτικών φαινομένων ή αποβολών κατά το παρελθόν. Επίσης, ούτε η θετικότητα και ο τίτλος των άλλων αυτοαντισωμάτων που μελετήθηκαν, ούτε η παρουσία δεικτών παρελθούσας

λοίμωξης από HBV ή HCV, δεν συσχετίζονταν με την θετικότητα κανενός ισοτύπου των αντι-CL αντισωμάτων.

Ανάμεσα στις παραμέτρους που μελετήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές βρέθηκαν : α. στην ANH, μεταξύ της θετικότητας για IgG ή για τουλάχιστον ενός ισοτύπου αντι-CL αντισωμάτων και της παρουσίας κίρρωσης, της κλινικής ενεργότητας της νόσου και της βιοχημικής δραστηριότητας (αυξημένες τιμές τρανσαμινασών στους θετικούς ασθενείς), β. στους ασθενείς με ΠΧΚ, μεταξύ της θετικότητας των αντι-CL αντισωμάτων και της παρουσίας κίρρωσης, την προχωρημένη ηλικία, τα αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης, τα μειωμένα επίπεδα αλβουμίνης και επίσης με την χειρότερη πρόγνωση (όπως προσδιορίζεται από την τιμή του Mayo Risk Score). Επιπρόσθετα, στην ομάδα των ασθενών με ΠΧΚ, η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων σχετίζονταν με την μειωμένη τιμή αιμοπεταλίων καθώς και με την παρουσία θρομβοπενίας.

Παρατηρήσαμε επίσης ότι τα αντι-CL αντισώματα στους ασθενείς με ANH είναι μάλλον μη παθογενετικά, όπως αντανακλάται από την απουσία αντι-β2-GPI αντισωμάτων (μόνο 2 ασθενείς με ANH, 2 με ΠΧΚ και 1 με ΠΣΧ βρέθηκαν θετικοί αλλά κανένας από αυτούς δεν είχε κλινικές ενδείξεις δηλωτικές APS). Σε αντίθεση όμως με το παραπάνω στοιχείο, η αντίσταση των IgG αντι-CL αντισωμάτων να απομακρυνθούν από το αντιγόνο-στόχο τους, όπως εκφράζεται από την τιμή RA%, ήταν παρόμοια με αυτήν που παρατηρήθηκε στους ασθενείς με APS. Αυτή η παραγωγή αντι-CL αντισωμάτων με υψηλή συγγένεια στους ασθενείς με ANH, είναι σημαντικού ενδιαφέροντος, δημιουργώντας ερωτηματικά για την πιθανότητα ανάπτυξης εκδηλώσεων APS κατά την πορεία της ηπατικής νόσου.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που διαπιστώνει την ύπαρξη ενός σημαντικά υψηλού ποσοστού αντι-CL αντισωμάτων σε ασθενείς με ANH, και κυρίως στην AH και την ΠΧΚ, σε σχέση με το ποσοστό που ανευρίσκεται σε ασθενείς με άλλες ηπατικές παθήσεις. Από κλινικής απόψεως, στους ασθενείς με AH, τα αντι-CL αντισώματα σχετίζονται με την κλινική ενεργότητα και το στάδιο της νόσου. Επιπρόσθετα, στους ασθενείς με ΠΧΚ η παρουσία των αντι-CL αντισωμάτων σχετίζεται με την παρουσία θρομβοκυτταροπενίας και πιο προχωρημένης ηπατικής νόσου (προχωρημένη ηλικία, αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης και μειωμένα επίπεδα αλβουμίνης, αυξημένη τιμή Mayo Risk Score). Η παρουσία των αυτοαντισωμάτων αυτών δεν σχετίζεται με την εμφάνιση γνωστών εκδηλώσεων του APS και φαίνεται να είναι μη παθογενετικά. Εντούτοις, η χημική συγγένεια των αντι-CL αντισωμάτων στους ασθενείς με ANH είναι παρόμοια με αυτήν που αναφέρεται για τους ασθενείς με APS. Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν, λαμβάνοντας υπόψη και το γεγονός ότι τα ANH σχετίζονται με αρκετά εξωηπατικά αυτοάνοσα σύνδρομα, πιστεύουμε ότι χρειάζονται πολυκεντρικές προοπτικές μελέτες με μεγάλο διάστημα παρακολούθησης των θετικών για αντι-CL αντισώματα ασθενών προκειμένου να εξακριβωθεί εάν τα αυτοαντισώματα αυτά έχουν κλινική σημασία συμβάλλοντας στην επιδείνωση της νόσου και την εμφάνιση εκδηλώσεων APS ή είναι απλά ένα επιφανόμενο που σχετίζεται με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και την ιστική καταστροφή.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disorder characterized by arterial or venous thrombosis and obstetric complication in association with the presence of anti-phospholipid antibodies (anti-PL Abs). Anti-PL Abs are directed against complexes of negatively charged phospholipids and plasma proteins (co-factors). According to the recently established criteria, only anticardiolipin antibodies (anti-CL Abs) or lupus anticoagulant (LA), are considered as laboratory criteria for anti-PL Abs positivity in APS. It seems that co-factors such beta-2-glycoprotein I (β -2-GPI) must be present for the anti-PL Abs to bind to phospholipids in APS patients. In other chronic inflammatory conditions, such as ulcerative colitis or infectious diseases, anti-CL Abs seem to be of non-pathogenic origin (co-factor independent or non-thrombogenic).

The principal immune-mediated liver diseases are autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). AIH is a chronic liver disorder defined as an unresolving, predominantly periportal hepatitis that is usually associated with hypergammaglobulinaemia, tissue autoantibodies, a strong genetic predisposition and in most cases, responsiveness to immunosuppressive therapy. PBC is a chronic, autoimmune, cholestatic liver disease, which predominantly affects middle-aged women and is characterized by destruction of the small intrahepatic bile ducts by chronic, often granulomatous, inflammation. Ninety-five per cent of patients are tested positive for antimitochondrial antibodies. PSC is a chronic cholestatic disorder

characterized by inflammation and fibrosis of the intra- and extrahepatic bile ducts.

The autoimmune liver diseases (ALD) have been associated with several other autoimmune diseases and/or syndromes. In AIH, these include autoimmune thyroid diseases, ulcerative colitis, autoimmune hemolytic anaemia, Sjogren's and sicca syndrome, rheumatoid arthritis. Patients with PBC may also have a variety of associated autoimmune features such as sicca syndrome, Raynaud phenomenon, CREST syndrome, autoimmune thyroid diseases, arthritis, renal tubular acidosis, scleroderma, Biermer anaemia. In addition, approximately 70% of patients with PSC have ulcerative colitis while there is a strong association with other autoimmune diseases such as Sjogren syndrome, Riedel's thyroiditis, Crohn's disease, systemic lupus erythematosus (SLE), polyositis.

However, only a very few case reports on the association between ALD and the presence of antiphospholipid antibodies (anti-PL Abs) and/or antiphospholipid syndrome (APS) have been reported so far.

The aims of the present study were:

- To evaluate the prevalence and the clinical significance of IgG and IgM isotype-specific anti-CL Abs in a consecutive series of AIH, PBC and PSC patients and in patients with other hepatic diseases, as well as in healthy control.
- To evaluate whether these antibodies are pathogenic (thrombogenic) or not. In order to address this point, we investigated their co-factor dependency and avidity (low or high resistance of anti-CL Abs binding to

dissociating agents such as urea) because co-factor dependency or increased resistance of anti-CL Abs to urea is associated with the occurrence of APS features.

- To evaluate the parameters, that are possibly correlated with the presence of the anti-CL Abs. For this reason, the presence of the anti-CL Abs was associated with certain demographical, epidemiological, clinical, laboratory, histological and virologic characteristics of patients.

It was found that a significant proportion of patients with ALD had detectable IgG and/or IgM anti-CL Abs (50.8% in AIH, 45% in PBC and 26.8 in PSC patients). In addition the majority of the IgG anti-CL Abs patients were consistently positive in at least two subsequent testings, 6 week apart.

Positivity for IgG, IgM or for at least one anti-CL Abs isotype was not associated with sex, alcohol abuse, disease duration, the presence of extrahepatic autoimmune diseases and the reported thrombotic events and foetal losses in the past. Neither positivity nor the titre of other autoantibodies tested or the presence of markers of past HBV or HCV infection were associated with positivity for any isotype of the anti-CL Abs.

Among the parameters studied, statistically significant association was found: a) in AIH patients, between the positivity for IgG or for at least one isotype of anti-CL Abs and the presence of cirrhosis, clinically active disease and biochemical activity (increased mean levels of AST and ALT in positive patients); b) in patients with PBC, between the positivity of anti-CL Abs and the presence of cirrhosis, the advanced age, the increase level of bilirubin and the decrease level of albumin and also with poor outcome (as reflected

by the increase value of Mayo Risk Score. Furthermore, in the group of PBC patients the presence of anti-CL Abs was associated with lower platelets counts, as well as the presence of thrombocytopenia.

We also showed that anti-CL Abs in ALD patients are most likely non pathogenic as demonstrated by the absence of anti- β 2 GPI IgG Abs (only 2 patients with AIH, 2 with PBC and 1 with PSC tested positive but all of them without any clinical evidence suggestive of APS). In the contrary, the resistance to dissociation of the IgG anti-CL Abs from the respective antigen, as illustrated by the RA% values, was similar with that observed in APLS patients. This production of high avidity anti-CL Abs in our ALD patients may be of particular interest, raising questions on the possibility of developing APS features during the time course of the disease.

In conclusion, our report is the first to demonstrate a significantly higher prevalence of anti-CL Abs in autoimmune liver diseases, especially in AIH and PBC, compared to that found in patients with other liver disorders. From the clinical point of view, in patients with AIH, anti-CL Abs appear to be associated with the clinical activity and the stage of the disease. Furthermore, in patients with PBC the presence of anti-CL Abs seems to be correlated to the presence of thrombocytopenia and more severe disease (advanced age, increase level of bilirubin and decrease level of albumin and increased Mayo Risk Score). These autoantibodies were not correlated with the known APS features and appear to be non-pathogenic. However, the avidity of IgG anti-CL Abs in patients with autoimmune liver diseases was comparable with the reported for APS patients. Taking into account the results mentioned above, as well as the known propensity of ALD to be

associated with extrahepatic immune-mediated syndromes, we believe that multicentre prospective studies with long-term follow-up of anti-CL Abs positive patients are needed in order to address definitely whether these autoantibodies have any clinical importance being able to contribute to the progression of disease and the appearance of APS or they are simply an epiphenomenon associated with the endothelial dysfunction and tissue damage.