

**ΑΠΟ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ ΚΑΙ
ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

Δ/τής: Καθηγητής Γ.Κουκούλης

**ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΩΝ
ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΜΕΣΟΛΟΒΙΩΝ ΠΟΡΩΝ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ
ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ**

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ Α. ΠΑΠΑΜΙΧΑΛΗΣ
Ιατρός, Παθολόγος, Εντατικολόγος

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

Λάρισα 2014

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

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (επιβλέπων)

Νταλέκος Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ιωάννου Μαρία, Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Κουκούλης Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Νταλέκος Γεώργιος, Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ιωάννου Μαρία, Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Κωστοπούλου Ευανθία, Επικ. Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ρούντας Χρήστος, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σγάντζος Μάρκος, Επικ. Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Σαμαρά Μαρία, Λέκτορας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ)	9
1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	10
2. ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	12
3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ	19
4. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	27
5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	30
6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	34
6.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	34
6.2 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ	35
6.3 ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	36
6.3.1 ΑΝΤΙΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	36
6.3.2 ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ	41
6.3.2.1 ΑΝΤΙΚΕΝΤΡΟΜΕΡΙΔΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	42
6.3.2.2 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ	43
6.3.2.3 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΦΑΚΕΛΟΥ	44
6.3.2.4 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΚΗΛΙΔΩΝ	44
6.3.2.4.1 Anti- SP100, NDP52 , SP140	44
6.3.2.4.2 Anti- PML	46
6.3.3 ΑΛΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ	53
7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ	53
8. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ / ΜΟΝΤΕΛΑ	54
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	58
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	59
II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ, ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	61
II.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ	61
II.1.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ	62
II.1.2 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ	64

II.1.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΑΓΓΕΪΤΙΔΑ	66
II.1.4 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΕΣ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ	67
II.1.5 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΣΤΕΑΤΟΗΠΑΤΙΤΙΔΑ	68
II.2 ΜΕΘΟΔΟΙ	69
II.2.1 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ	70
II.2.1.1 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ANA, aSMA, anti-LKM, AMA, PCA ΣΕ ΙΣΤΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ	70
II.2.1.2 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ANA, AMA, aSMA, ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ACA, RLM, anti-MND, ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ HEp2 ΚΥΤΤΑΡΩΝ	71
II.2.1.3 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ANCA	71
II.2.1.4 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ anti-SLA/LP, anti-LKM, GPA, anti-sp100, anti-gp210, anti-intristic factor , anti-β2-Glycoprotein I, anti-Ro52, anti-chromatin, anti-Histones, anti-LC1, anti-actin	71
II.2.1.5 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ anti-CL (IN-HOUSE ELISA)	72
II.2.2 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ PML ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΕ ΒΙΟΨΙΕΣ ΗΠΑΤΟΣ / ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΧΡΩΣΕΙΣ	73
II.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	78
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	78
III.1 Συσχέτιση του PML score με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων στον ορό, στο σύνολο των ασθενών της μελέτης	78
III.2 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στο σύνολο των ασθενών με ΠΧΚ (σ.ΠΧΚ)	80
III.3 Σύγκριση του PML score μεταξύ του συνόλου των ασθενών με ΠΧΚ (σ.ΠΧΚ) και των ομάδων ελέγχου	91
III.4 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στους ασθενείς με ΠΧΚ (χωρίς να συμπεριλαμβάνονται οι ασθενείς με πρόιμη ΠΧΚ)	93

III.5 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στους ασθενείς με πρόιμη ΠΧΚ	103
III.6 Σύγκριση του PML score μεταξύ των ασθενών με ΠΧΚ, των ασθενών με πρόιμη ΠΧΚ, και των ομάδων ελέγχου, με διαχωρισμό σε επιμέρους υποομάδες	110
IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	114
V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	120
VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ – SUMMARY	122
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	127

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση (ΠΧΚ) είναι ένα αγνώστου αιτιολογίας, χρόνιο χολοστατικό νόσημα του ήπατος, με προοδευτική, ανοσολογικά επαγόμενη καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων. Προσβάλλει κυρίως γυναίκες μέσης ηλικίας, οδηγώντας προοδευτικά σε κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια.

Κυρίαρχη παρουσία στη διάγνωση της ΠΧΚ κατέχουν τα αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA), καθώς ανιχνεύονται σε ποσοστό περίπου 95% των ασθενών, ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζουν εξαιρετική ειδικότητα. Η ύπαρξη ομάδων ασθενών όπως η πρόωγη ΠΧΚ (ασυμπτωματικοί και χωρίς βιοχημική δραστηριότητα ασθενείς) και η AMA αρνητική ΠΧΚ οδήγησαν στην περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου και της σημασίας άλλων αυτοαντισωμάτων.

Τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης της Προμυελοκυτταρικής Λευχαιμίας [antibodies against Promyelocytic Leukaemia protein, (anti- PML antibodies)], ανήκουν στην ομάδα των ειδικών για την ΠΧΚ αντιπυρηνικών αντισωμάτων [anti- nuclear antibodies (ANA)]. Η παρουσία τους στον ορό έχει βρεθεί ότι είναι κακός προγνωστικός δείκτης. Η ειδικότερη σημασία της ανίχνευσής τους λίγο έχει μελετηθεί στη διεθνή βιβλιογραφία. Επιπλέον ελάχιστες προσπάθειες έχουν γίνει για ανίχνευση των αντισωμάτων αυτών σε ιστό (βιοψίες ήπατος). Εκτός από την ΠΧΚ ανιχνεύονται στην Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία και στη χρόνια νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή.

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύτηκαν ανοσοϊστοχημικά τα anti- PML αντισώματα σε βιοψίες ήπατος ασθενών με ΠΧΚ και ασθενών με άλλα νοσήματα του ήπατος. Αναλυτικότερα, στο γενικό μέρος: α. Αναφέρονται εισαγωγικές γνώσεις για την ΠΧΚ, την επιδημιολογία, την αιτιοπαθογένεια, την παθοφυσιολογία, τα ιστολογικά ευρήματα, την κλινική της εικόνα. β. αναλύονται τα βασικά εργαστηριακά ευρήματα και γίνεται αναλυτική αναφορά στα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στην ΠΧΚ. γ. αναφέρονται γενικά στοιχεία για τα anti- PML αντισώματα, με τι συχνότητα, σε ποιες παθήσεις ανιχνεύονται, πως χρησιμοποιούνται διαγνωστικά και θεραπευτικά στην Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία καθώς και στοιχεία μοριακής βιολογίας, για την κατανόηση του πολυδιάστατου ρόλου της PML πρωτεΐνης σε πλήθος διεργασιών και κυτταρικών λειτουργιών. δ. γίνεται αναφορά στη θεραπεία και στα υπάρχοντα προγνωστικά για την ΠΧΚ μοντέλα. Στο ειδικό μέρος: α. μελετάται η συχνότητα ανίχνευσης των anti- PML αντισωμάτων σε βιοψίες ήπατος ασθενών με ΠΧΚ και ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα β. συσχετίζεται η παρουσία των αντισωμάτων αυτών στον ηπατικό ιστό με κλινικές και εργαστηριακές παραμέτρους των ασθενών, με συνύπαρξη άλλων νοσημάτων, με τη λήψη θεραπείας, με προγνωστικούς δείκτες και με την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών.

Τα αποτελέσματα αναμένεται να συμβάλουν στην κατανόηση του ρόλου των αντισωμάτων στην

παθοφυσιολογία και στην ιστολογική και κλινική εξέλιξη της νόσου. Επιπλέον να καθορίσουν το ρόλο τους στη διάγνωση της νόσου και να δώσουν ώθηση στην αναζήτηση νέων θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Η παρούσα διατριβή έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για την εκπόνησή της υπήρξε πολύτιμη βοήθεια από πολλούς στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή κ. Γ. Κ. Κουκούλη για την υπόδειξη του θέματος, την καθοδήγηση και την πολυδιάστατη υποστήριξη που προσέφερε, ώστε η διατριβή αυτή να ολοκληρωθεί. Ευχαριστώ επίσης τον δάσκαλό μου από τα φοιτητικά χρόνια ως και την ειδικότητα, Καθηγητή κ. Γ. Ν. Νταλέκο, που με προθυμία έθεσε στη διάθεση μου τα κλινικοεργαστηριακά δεδομένα και τα αποτελέσματα των διαγνωστικών δοκιμασιών στον ορό, των ασθενών της μελέτης μου. Χωρίς αυτά δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της διατριβής. Οι συμβουλές του υπήρξαν χρήσιμες και πολύτιμες. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Ιωάννου Μαρία, που συνέδραμε και συνέβαλε ουσιαστικά στη διεκπεραίωση σημαντικών τμημάτων της παρούσας διατριβής.

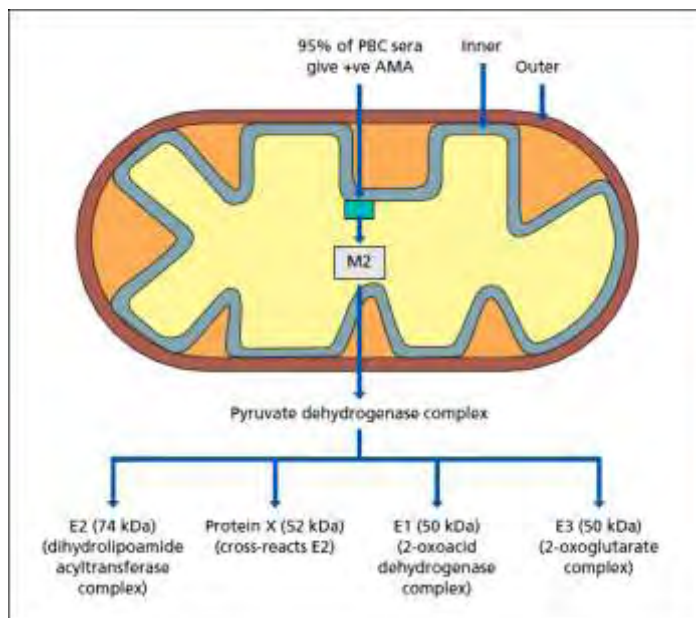
Μεγάλη ευγνωμοσύνη οφείλω στην Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Ζάχου Καλλιόπη, η οποία προσέφερε καθοριστικής σημασίας βοήθεια στη διενέργεια της διατριβής, από τα πρώτα στάδια ως και την ολοκλήρωσή της. Η συμβολή της υπήρξε ανεκτίμητη.

Θέλω τέλος να ευχαριστήσω τους Ιατρούς και το προσωπικό τόσο του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας όσο και του Ερευνητικού Εργαστηρίου της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, καθώς συνολική εργασία πολλών ατόμων των δυο αυτών εργαστηρίων απέδωσε το υλικό που χρησιμοποιήθηκε στη διατριβή μου.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΧΟΛΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ (ΠΧΚ) – PRIMARY BILIARY CIRRHOISIS (PBC)

Η Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση (ΠΧΚ) είναι ένα βραδέως εξελισσόμενο, αυτοάνοσου αρχής, χολοστατικό νόσημα του ήπατος, που κατά κύριο λόγο προσβάλλει γυναίκες, χαρακτηριζόμενο από προοδευτική καταστροφή των ενδοηπατικών χοληφόρων (1, 2). Πρωτοπεριγράφηκε από τους Addison και Gull, ήδη από το 1851 (3), ενώ η ονομασία ΠΧΚ εισήχθη και υιοθετήθηκε από το 1949-1950 (4, 5), ονομασία που περιλαμβάνει τον ιστοπαθολογικό όρο ‘κίρρωση’, παρά το γεγονός ότι στα πρώιμα στάδια της νόσου η κίρρωση είναι απύσχα (1, 6). Η πιο δόκιμη ορολογία, που αντανάκλα τη βασική ιστοπαθολογική αλλοίωση της νόσου, περιέγραψε τις αλλοιώσεις της ΠΧΚ ως ‘Χρόνια μη πυώδης καταστροφική χολαγγειίτιδα’, ήδη από το 1965 (7), παρέμεινε όμως δύσκριστη λόγω μεγέθους και δεν υιοθετήθηκε ποτέ (2, 8). Την ίδια χρονιά (1965), ανακαλύφθηκε το ειδικό για τη νόσο αυτοαντίσωμα, που αποτελεί ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της νόσου και επιτρέπει την ασφαλή και πρώιμη διάγνωσή της, το αντιμιτοχονδριακό αντίσωμα [anti-mitochondrial antibody (AMA)] (9). Αρκετά χρόνια αργότερα (1982), βρέθηκε το ειδικό για τη νόσο μιτοχονδριακό αντιγόνο M2 (10), με επίτοπο-στόχο το σύμπλεγμα της Πυρουβικής Δεϋδρογονάσης (ΣΠΔ) - Pyruvate Dehydrogenase Complex (PDC) (11, 12) (εικόνα 1).



ΕΙΚΟΝΑ 1. (13)
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ
AMA (ΑΝΤΙΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ)

1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η νόσος ευθύνεται για το 2% των θανάτων από κίρρωση ήπατος (14). Η επίπτωση της νόσου

ποικίλει, ανάλογα με τη μελέτη, από 0.7 σε παλαιότερες ως 49 άτομα ανά εκατομμύριο ανά έτος σε νεώτερες μελέτες και ο επιπολασμός της σε τυχαία χρονική στιγμή από 6.7 ως 402 ανά εκατομμύριο (15-23). Τα πιο υψηλά ποσοστά ανευρίσκονται στο Ηνωμένο Βασίλειο (16, 21), στη Σκανδιναβία (17), στον Καναδά (18), στις Η.Π.Α (19, 22), όλα στο Βόρειο Ημισφαίριο, ενώ το χαμηλότερο στην Αυστραλία (20). Εμφανίζεται συχνότερα στην Καυκάσια φυλή, ενώ υπάρχουν ενδείξεις για αυξημένη σοβαρότητα κλινικών εκδηλώσεων στους μη Καυκάσιους (24). Προσβάλλει κυρίως γυναίκες, καθώς ποσοστό ως και 95% των ασθενών είναι γυναίκες ενώ σχετικά, σε μια μελέτη, η επίπτωση ανά 100000 άτομα ήταν 4.5 για τις γυναίκες και 0.7 για τους άνδρες (19). Παρουσιάζει κορύφωση της επίπτωσης στην πέμπτη δεκαετία της ζωής ενώ σπάνια εμφανίζεται σε ηλικία κάτω από τα 25 (πίνακας 1).

Υπάρχουν ενδείξεις αύξησης της επίπτωσης και του επιπολασμού της νόσου, όταν συγκρίθηκαν ίδιοι πληθυσμοί με παλαιότερες χρονικές περιόδους, στην Αγγλία (21), την Αυστραλία (25) και τον Καναδά (26). Πιθανολογείται ότι αυτή η αύξηση δεν είναι πραγματική, αλλά αντανακλά την εξέλιξη στις διαγνωστικές δοκιμασίες, που επιτρέπουν πλέον την έγκαιρη, πρώιμη και ασφαλή διάγνωση της νόσου ακόμα και σε ασυμπτωματικά άτομα [η επίπτωση της θετικότητας στα AMA είναι ως και διπλάσια σε ασυμπτωματικούς, σε σχέση με τους ασθενείς που παρουσιάζουν σημειολογία ηπατικής νόσου (27, 28)]. Από την άλλη μεριά η γεωγραφική κατανομή υπαινίσσεται εμπλοκή περιβαλλοντικών παραγόντων στην παθογένεια της νόσου. Δυο μελέτες με καλά καθορισμένα γεωγραφικά κριτήρια, στη Βόρεια Αγγλία (29) και σε περιοχές γύρω από τοξικά κατάλοιπα στη Νέα Υόρκη (30), ανέδειξαν ξεκάθαρη και καλά οριοθετημένη γεωγραφική κατανομή της νόσου.

Synopsis of population-based epidemiological studies of PBC

Year	Location	No. of cases	Case finding methods	Diagnostic criteria	Incidence (per million, per year)	Prevalence (per million)	Gender ratio (M/F)
1980	Sheffield, UK	34	PS, lab reports	AMA+ and LFTs or liver histology	5.8	54	1:16
1980	Dumfries, UK	21	Liver histology	AMA+ and liver histology	10.6	40.2	1:9.5
1983	Newcastle, UK	117	Hospital registers, lab reports, death certificates	AMA+, LFTs, and liver histology	10	37-144	1:14
1984	Malmö, Sweden	33	PS, lab reports, death certificates	AMA+, LFTs, and liver histology	4-24	28-92	1:3
1984	Western Europe	569	PS	Non uniform	4	23 (5-75)	1:10
1985	Örebro, Sweden	18	Lab reports	AMA+, LFTs, and liver histology	14	128	1:3.5
1987	Glasgow, UK	373	Lab reports	AMA+, liver histology	11-15	70-93	-
1990	Umeå, Sweden	111	PS, hospital registers, lab reports	Liver histology	13.3	151	1:6
1990	Ontario, Canada	225	PS	AMA+, liver histology	3.26	22.4	1:13
1990	Northern England	347	PS, hospital admission data, lab reports	AMA+ and LFTs or liver histology	19	129-154	1:9
1995	Victoria, Australia	84	PS, hospital records	AMA+, LFTs, and liver histology	-	10.1	1:11
1995	Estonia	69	PS, hospital admission data, lab reports	AMA+ and LFTs and liver histology	2.27	26.9	1:22
1997	Newcastle, UK	160	PS, hospital admission data, lab reports, death certificates	AMA+, LFTs, and liver histology	14-32	240	1:10
2000	Olmsted county, MN (USA)	46	Hospital records	LFTs, and AMA+ or liver histology	27	402	1:8

Abbreviations used: PS physician survey; AMA anti-mitochondrial antibodies; LFTs liver function tests

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. (31)

ΣΥΝΟΨΗ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΧΚ

AMA (ΑΝΤΙΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ)

LFTs (LIVER FUNCTION TESTS- ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ)

2. ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η ΠΧΚ θεωρείται το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης πολλαπλών γενετικών παραγόντων και περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, με αποτέλεσμα αλλαγές στο ανοσολογικό σύστημα και επίθεση στο όργανο-στόχος, το ήπαρ (εικόνα 2).

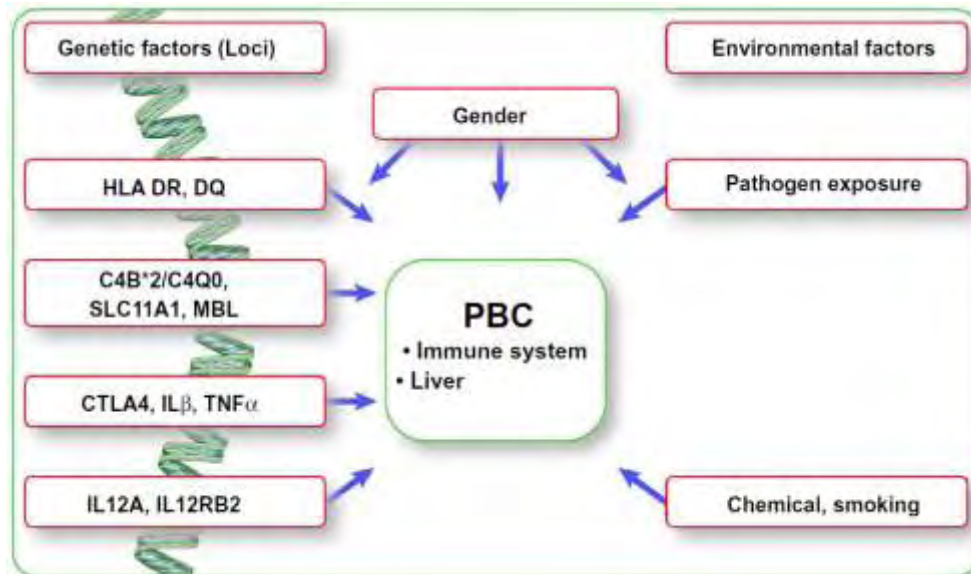
Η ύπαρξη γενετικής προδιάθεσης στην ΠΧΚ υποστηρίζεται από την οικογενειακή κατανομή (32-35) και την υψηλή επίπτωση συνύπαρξης ΠΧΚ σε μονοζυγωτικούς δίδυμους (36). Ο επιπολασμός της ΠΧΚ σε οικογένειες με ένα προσβεβλημένο μέλος φαίνεται να είναι 1000 φορές υψηλότερος σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό (32). Υπάρχει μια ασθενής συσχέτιση με τον απλότυπο HLA-DR8 (37, 38) και το γονίδιο HLA-DPB1 (39, 40) σε κάποιους πληθυσμούς. Παραλλαγές αλληλίων του MHC (Major Histocompatibility Complex) II - τάξης II Μείζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας (DR, DQ), που κωδικοποιούν δομικά συστατικά και πρωτεΐνες τόσο της φυσικής (αλλήλια C4*Q0 / C4B*2, πρωτεΐνη-ανταλλαγέας ανιόντων SLC11A1, MBL, VDR) όσο και της ειδικής [CTLA4 (T-Lymphocyte-Associated Protein 4) - πρωτεΐνη 4 σχετιζόμενη με το Τ-Λεμφοκύτταρο, IL-β (Interleukin-β) - ιντερλευκίνη-β, TNF alpha (Tumor Necrosis Factor α) - Παράγοντας νέκρωσης των όγκων α, IL-10 (Interleukin-10) - ιντερλευκίνη-10] ανοσιακής απάντησης (41-46) έχουν συσχετιστεί με ευπάθεια στην ΠΧΚ.

Παρόμοια συσχέτιση έχει βρεθεί και για πολυμορφισμούς στα γονίδια TAP1 / TAP2 (47) (κωδικοποιούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες-μεταφορείς). Άλλες γενετικές θέσεις που έχουν βρεθεί περιλαμβάνουν τις εξής: SPIB (που κωδικοποιεί ένα μεταγραφικό παράγοντα που σχετίζεται με τη μετάδοση σημάτων από τον υποδοχέα των β-λεμφοκυττάρων και την επαγωγή αντιδράσεων από το Τ-λεμφοκύτταρο), IRF5 (που κωδικοποιεί τον ρυθμιστικό παράγοντα 5 της ιντερφερόνης), TNPO3 (που κωδικοποιεί την τρानσπορτίνη 3), και MMEL1 (που κωδικοποιεί μια μεταλο-ενδοπεπτιδάση) (48, 49). Αξιοσημείωτο είναι ότι οι θέσεις IRF5 και TNPO3 έχουν συσχετιστεί με την παθογένεια του Συστηματικού Ερυθηματώδους Λύκου (ΣΕΛ) και του συνδρόμου Sjogren, που σημαίνει ότι υπάρχει γενετική αλληλεπικάλυψη της ΠΧΚ με αυτά τα νοσήματα.

Ο πιθανός ρόλος αλληλίων σχετιζόμενων με τη φυσική ανοσιακή απάντηση υποδηλώνεται και από διαταραχές στην αντίσταση του ξενιστή σε μικροβιακές λοιμώξεις, σε ασθενείς με ΠΧΚ και συσχετίζει αυτά τα αλλήλια με την έναρξη και διαίωνιση της φλεγμονώδους διαδικασίας στην ΠΧΚ. Παρόμοια συσχέτιση με την ΠΧΚ έχει γίνει και με ποικιλίες αλληλίων στο μονοπάτι της IL12, (ανεπάρκειες της IL12, του υποδοχέα IL12R και της INF-γ / ιντερφερόνης-γ) (42). Αλλαγές σε τέτοιου είδους αλλήλια οδηγούν σε αυξημένη ευπάθεια στις λοιμώξεις από μυκοβακτηρίδια (50).

Το μόριο CTLA₄ συνδέεται με έναν υποδοχέα την ανοσιακής απάντησης με ανασταλτική ικανότητα, που κατέχει ρόλο - κλειδί στην ανάπτυξη ανοσιακής ανοχής έναντι 'ιδίων' αντιγόνων

του οργανισμού (εικόνα 3). Το μόριο αυτό έχει συσχετιστεί με πολλά αυτοάνοσα νοσήματα. Επιπλέον έχει συσχετιστεί με την ΠΧΚ στις περισσότερες, αλλά όχι σε όλες, τις γενετικές μελέτες που αφορούν το νόσημα αυτό (42, 43, 51-54). Παρόμοια συσχέτιση έχει γίνει με πολυμορφισμούς στα γονίδια του υποδοχέα της βιταμίνης D (55), με τη βιταμίνη D να κατέχει γνωστό ρόλο τόσο στην ειδική ανοσιακή απάντηση όσο και στη ρύθμιση της φυσικής ανοσιακής απάντησης, στο χοληφόρο δένδρο (56).

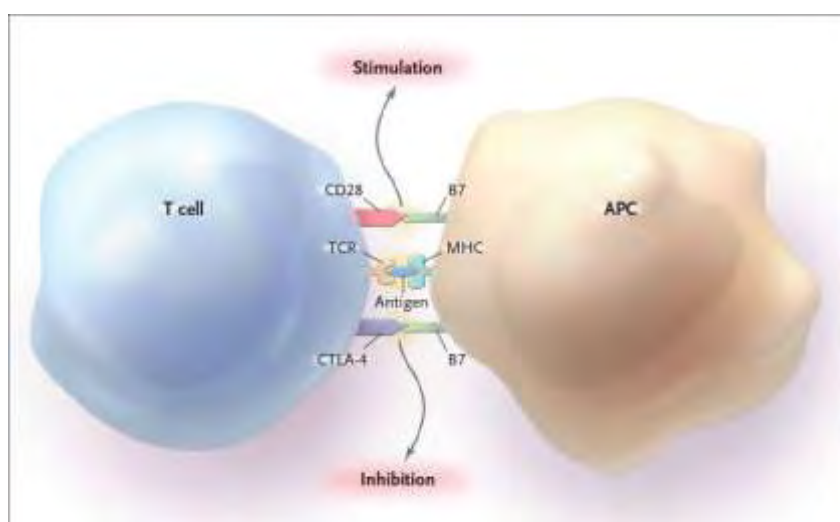


ΕΙΚΟΝΑ 2. (57)

Η ΠΧΚ ΩΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΗΠΑΡ (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

Αναφορικά με τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, έχει βρεθεί συσχέτιση με λοιμώξεις βλεννογόνων, ειδικά του ουροποιητικού συστήματος και με το κάπνισμα (58-60). Η συνεισφορά άλλων παραγόντων κινδύνου, όπως η χρήση καλλυντικών, η συχνότητα και ο αριθμός των κυήσεων, η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης δεν είναι ξεκάθαρη (58, 59). Ιδιαίτερη αναφορά έχει γίνει για τους αλογονομένους υδρογονάνθρακες. Η επαφή με αυτούς επάγει παραγωγή αντισωμάτων με ιδιαίτερη συγγένεια για το σύμπλεγμα της Πυρουβικής Δεϋδρογονάσης (ΣΠΔ) (61, 62). Παρόμοια συμπεράσματα εξάγονται και από μελέτες σε μοντέλα ζώων (63, 64), ενώ η κατοίκηση κοντά σε περιοχές με τοξικά απόβλητα σε μια επιδημιολογική μελέτη συνδέθηκε με ΠΧΚ (30). Η σημασία του ρόλου των περιβαλλοντικών παραγόντων στην παθογένεια της ΠΧΚ είναι υπό εξέταση τα τελευταία χρόνια (65).

Αναφορικά με τον ρόλο των ξενοβιοτικών στην ΠΧΚ, τα περισσότερα από αυτά μεταβολίζονται στο ήπαρ, και κάποια από αυτά επάγουν αυτοανοσία και ηπατίτιδα. Ένα από τα πιο καλά παραδείγματα είναι η ηπατίτιδα από αλοθάνιο. Παρουσιάζεται σε γενετικά ευάλωτους ασθενείς που επάγουν ανοσιακή απάντηση στα 3-φθόρο-ακετυλιωμένα πρωτεϊνικά παράγωγα της αδρανοποίησης του αλοθάνιου από το κυτόχρωμα P450 στο ήπαρ (66). Ένα υποθετικό σενάριο περιέχει τη μετατροπή του ξενοβιοτικού σε ένα ενεργό ενδιάμεσο παράγωγο που συνδέεται με πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα το σχηματισμό νεοαντιγόνων και την έναρξη ανοσολογικής απάντησης του τύπου της ΠΧΚ. Ένα ακόμα παράδειγμα είναι η χρήση φλουκλοξακιλλίνης, μιας συνθετικής πενικιλίνης, ανθεκτικής στην πενικιλινάση, που είναι γνωστό ότι επάγει χολόσταση και βλάβη χολαγγειοκυττάρων.



ΕΙΚΟΝΑ 3. (67)

ΑΛΛΗΛΕΠΗΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΕΝΟΣ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΟΥ ΚΑΙ ΕΝΟΣ ΑΝΤΙΓΟΝΟΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ - Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΜΟΡΙΟΥ CTLA-4

Η ΣΥΝΔΕΣΗ ΤΟΥ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΗ B7 ΣΤΗΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΤΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟ-ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΤΙΚΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ, ΕΧΕΙ ΩΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΙΑΚΗΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

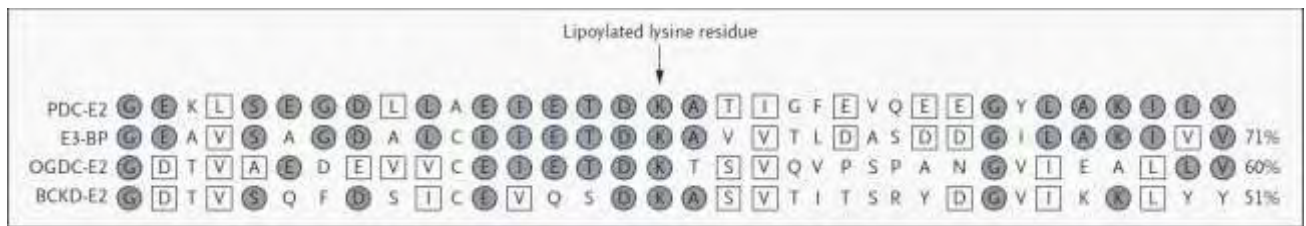
Βρέθηκε ότι η δράση αυτή μεσολαβείται από ένα ενεργό ενδιάμεσο παράγωγο της φλουκλοξακιλλίνης που μεταβολίζεται από τα ηπατοκύτταρα στη χολή και προκαλεί το θάνατο των χολαγγειοκυττάρων και ενδεχομένως περαιτέρω φλεγμονή-αυτοανοσία (68). Εν τούτοις η φλουκλοξακιλλίνη ουδέποτε δε συσχετίστηκε με εκδήλωση ΠΧΚ.

Το ΣΠΔ, έναντι του οποίου στρέφεται η ανοσολογική απάντηση στην ΠΧΚ, ευρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων (εικόνα 1) και παρουσιάζει περιοχές που έχουν την

ικανότητα να συνδέονται με λιπαρά οξέα (εικόνα 4). Οι περιοχές αυτές αποτελούν το κέντρο των επιτόπων – στόχων για τα αυτοαντισώματα της ΠΧΚ. Διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ λιπαρών οξέων και ξενοβιοτικών με δομικά όμοιες προς τα λιπαρά οξέα περιοχές, αναπαριστά έναν πιθανό μηχανισμό που μπορεί να οδηγήσει σε σπάσιμο της ανοσολογικής ανοχής έναντι αυτοαντιγόνων που περιέχουν λιπαρά οξέα στην ΠΧΚ. Οι περιοχές που αντιδρούν με τα λιπαρά οξέα βρίσκονται στο εξωτερικό τμήμα του συμπλέγματος της πυρουβικής δεϋδρογονάσης, δηλαδή σε θέσεις ιδανικές για αλληλεπίδραση και τροποποιήσεις επαγόμενες από τα ξενοβιοτικά. Ο ρόλος των ξενοβιοτικών υποστηρίζεται από σειρές πειραματικών δεδομένων. Αλογονομένα παράγωγα, όπως το 6-βρωμο-καπροϊκό οξύ μπορεί να ενσωματωθούν στο σύμπλεγμα της περουβικής δεϋδρογονάσης, στις θέσεις σύνδεσης των λιπαρών οξέων (69). Ευαισθητοποίηση με αλβουμίνη από βοδινό ορό τροποποιημένη με 6-βρωμο-καπροϊκό οξύ μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση AMA και φλεγμονής στα πυλαία διαστήματα (64). Οργανικά μόρια, που προσδένονται στα μιτοχονδριακά αντιγόνα, αναγνωρίζονται από ορό ασθενών με ΠΧΚ με υψηλότερη συγγένεια σύνδεσης σε σχέση με τη φυσική μορφή αυτών των μορίων (61). Το 6-νονυνοϊκό οξύ, ένα παράγωγο χρησιμοποιούμενο σε πολλά καλλυντικά, αντιδρά με ορό ασθενών με ΠΧΚ, με υψηλή συγγένεια σύνδεσης (70). Τέλος, επαγόμενη από ξενοβιοτικά ΠΧΚ έχει αναφερθεί σε γενετικά τροποποιημένους αρουραίους, μετά από ανοσοποίηση με 2-οκτυνοϊκό οξύ (71, 72).

Η μοριακή μίμηση είναι ένας μηχανισμός κατά τον οποίο αντιγόνα επάγουν ανοσολογική απάντηση, έχοντας ομοιότητα με ενδογενείς πρωτεΐνες, με αποτέλεσμα την πρόκληση αυτοανοσίας. Αυτός ο μηχανισμός έχει ενοχοποιηθεί για την έναρξη ανοσολογικής απάντησης στην ΠΧΚ, με διάφορους ιούς, βακτήρια και χημικά να έχουν ενοχοποιηθεί κατά καιρούς, χωρίς ως τώρα επαρκείς αποδείξεις (73).

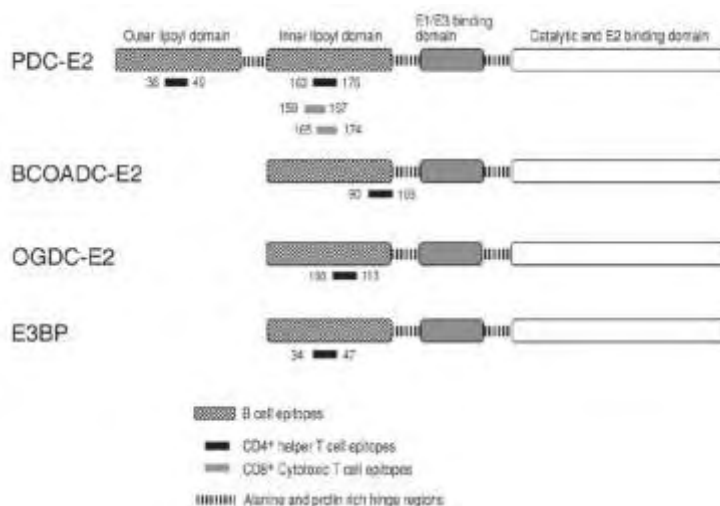
Τα AMA από ορό ασθενών με ΠΧΚ παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση με μια σειρά από βακτήρια και αυτό αποτέλεσε τη βάση της θεωρίας για τη βακτηριακή αιτιολογία της ΠΧΚ. Η υπόθεση αυτή αντιμετωπίζεται πλέον με μεγάλη επιφυλακτικότητα, διότι τα δεδομένα από τις διάφορες μελέτες είναι αντιφατικά, ενώ δεν υπάρχει απόδειξη για την έκφραση T-λεμφοκυτταρικής απάντησης σε πρωτεΐνες βακτηρίων, στην ΠΧΚ. Η παρατηρούμενη διασταυρούμενη αντίδραση μεταξύ ορών με AMA και βακτηρίων, αποδίδεται στην φυλογενετικά καλά διατηρημένη αλληλουχία αμινοξέων που παρουσιάζει το ΣΠΑ. Εν τούτοις η ομάδα του Gerswhin σε πρόσφατες μελέτες παρέθεσε πειστικά δεδομένα για ένα gram αρνητικό βακτηρίδιο, το *Novosphingobium Aromaticivorans* (NA), ότι μπορεί να επάγει την ΠΧΚ (74). Πράγματι το NA παρουσιάζει σε πολύ σημαντικό βαθμό ομολογία στην αλληλουχία αμινοξέων με τον ανθρώπινο αυτοεπίτοπο PDC-E2. Το NA είναι ικανό να επάγει αυτοδραστικά AMA και χρόνια, διαμεσολαβούμενη από T-Λεμφοκύτταρα, αυτοάνοση αντίδραση έναντι μικρών χοληφόρων πόρων, σε μοντέλα αρουραίων με ΠΧΚ (75).



ΕΙΚΟΝΑ 4. (1)

ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΛΙΠΟΕΙΔΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΧΩΝ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΠΧΚ. ΥΠΑΡΧΟΥΝ 4 ΑΥΤΟΔΡΑΣΤΙΚΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΓΟΝΑ, ΤΑ PDC-E2, E3-BP, OGDC-E2 ΚΑΙ BCKD-E2. Ο ΕΠΙΤΟΠΟΣ ΚΑΘΕ ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ ΠΕΡΙΟΧΗ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ ΜΕ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, Η ΟΠΟΙΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΟΜΟΛΟΓΙΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΤΕΣΣΑΡΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ, ΟΠΩΣ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΙΣ ΣΚΙΑΣΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΚΑΙ ΤΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΟΜΟΙΟΤΗΤΑΣ (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

Υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν το ρόλο ιών στην παθογένεια της ΠΧΚ. Χολαγγειοκύτταρα που απομονώθηκαν από φυσιολογικά άτομα και επώαστηκαν με ομογενοποιημένο λεμφαδενικό ιστό από ασθενείς με ΠΧΚ αναπτύσσουν κυτταροπλασματικό φθορισμό με πρότυπο χαρακτηριστικό της ΠΧΚ (76, 77). Κλωνοποίηση αλληλουχιών ρετροϊών από λεμφαδένες υπέδειξαν το ρόλο ενός ρετροϊού που μοιάζει με ογκογόνο ιό θηλαστικών-αρουραίων (mouse mammalian tumour virus - MMTV). Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι στο επιθήλιο των χοληφόρων διαγονιδιακών NOD.c3c4 αρουραίων με ΠΧΚ εκφράζονται πρωτεΐνες του MMTV (78). Στους αρουραίους αυτούς όταν θεραπεύτηκαν με αγωγή κατά του MMTV, οι πρωτεΐνες του ιού δεν μπορούσαν πλέον να ανιχνευτούν, γεγονός που σημαίνει ότι ο ιός πυροδοτεί ιογενή χολαγγειίτιδα σε αυτό το πειραματικό μοντέλο. Πάντως τα ευρήματα αυτά δεν ήταν αναπαραγώγιμα σε άλλες μελέτες (73, 79), ενώ και τα δεδομένα από μια διπλή-τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη με χρήση ζιδοβουδίνης και λαμβουδίνης σε ασθενείς με ΠΧΚ δεν υποστηρίζουν τον ρόλο των ρετροϊών στην ΠΧΚ (80).



ΕΙΚΟΝΑ 5. (81)

ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΠΥΡΟΥΒΙΚΗΣ ΔΕΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ, ΠΟΥ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΚΑΙ ΑΥΤΟΔΡΑΣΤΙΚΑ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ, ΣΤΗΝ ΠΧΚ. ΑΛΛΗΛΟΕΠΙΚΑΛΥΠΤΟΜΕΝΟΙ ΕΠΙΤΟΠΟΙ, ΤΟΣΟ ΓΙΑ ΤΗ ΧΥΜΙΚΗ ΟΞΟ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΟΞΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ, ΕΠΙΣΗΜΑΙΝΟΝΤΑΙ (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

Ο πιθανός ρόλος του *Propionibacterium acnes* (P. acnes) έχει προταθεί από μια μελέτη κατά την οποία με PCR έχουν ανιχνευτεί αλληλουχίες γενετικού υλικού του μικροοργανισμού σε κοκκιώματα ασθενών με ΠΧΚ (82).

Γενετικό υλικό του μικροοργανισμού *Chlamydia pneumoniae* ανιχνεύτηκε με μεγαλύτερη συχνότητα στο ήπαρ ασθενών με ΠΧΚ, σε σχέση με το ήπαρ ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα (83). Το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες (84), ενώ δεν υπήρχε όφελος από τη θεραπεία με τετρακυκλίνη (85).

Αντισώματα έναντι του ανθρώπινου ΣΠΔ παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση με το ΣΠΔ της *E. Coli*, εμπλέκοντας τις λοιμώξεις από το συγκεκριμένο μικρόβιο (ειδικά του ουροποιητικού συστήματος) με την παθογένεια της νόσου (86-90). Τα προβλήματα με αυτή τη θεωρία είναι ότι οι τίτλοι των αντισωμάτων έναντι του ΣΠΔ του μικροβίου είναι σημαντικά χαμηλότεροι σε σχέση με τα αντισώματα για το ανθρώπινο ΣΠΔ και τι ότι τα αντισώματα έναντι του μικροβίου παρουσιάζονται σε ασθενείς με προχωρημένο στάδιο της νόσου, αντίθετα με ότι θα περιμέναμε αν η λοίμωξη εμπλεκόταν σαν πυροδοτικός μηχανισμός στην παθογένεια της νόσου. Τέλος υπάρχει μια βιβλιογραφική αναφορά για έναν ασθενή που ανέπτυξε ΠΧΚ μετά από ενδομυϊκή ανοσοποίηση με εμβόλιο που περιείχε πολλαπλά στελέχη *Lactobacillus*. Ο ασθενής ανέπτυξε AMA που αντιδρούσαν με ειδικούς για την ΠΧΚ αυτοεπιτόπους του ΣΠΔ (91).

Συμπερασματικά, οποιοσδήποτε λοιμώδης παράγοντας, στο ήπαρ ή στα χοληφόρα, ασθενούς με γενετική προδιάθεση μπορεί να πυροδοτήσει παροδική ή χρόνια ανοσολογική απάντηση που να έχει διασταυρούμενη αντίδραση με αντιγόνο του ΣΠΔ. Ένα δεύτερο 'χτύπημα' (από ορμόνη, ιό ή ξενοβιοτικά) στα χολαγγειοκύτταρα έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση και αυξημένη παρουσίαση ανοσοδραστικών αντιγόνων του ΣΠΔ στα δένδριτικά κύτταρα, που μπορεί να είναι επαρκής για τη μετατροπή μιας παροδικής αυτοάνοσης αντίδρασης σε αυτοάνοσο νόσημα. Η αποτελεσματικότητα του συστήματος της φυσικής ανοσιακής απάντησης στηρίζεται στην ικανότητά του να ανιχνεύει μοριακά πρότυπα παθογόνων μικροοργανισμών, που αποτελούν δυνητικά κίνδυνο για τον οργανισμό, με τη βοήθεια πρωτεϊνικών υποδοχέων τύπου toll (toll-like receptors) και πρωτεϊνικών υποδοχέων τύπου nod (nod-like receptors). Η πολυπλοκότητα του συστήματος αυτού μας είναι ελάχιστα κατανοητή, και η καλύτερη γνώση του μπορεί να είναι κρίσιμη για την κατανόηση αυτοάνοσων νοσημάτων όπως η ΠΧΚ (57).

Πολλά αυτόματα αλλά και επαγόμενα, πειραματικά μοντέλα σε ζώα, με ΠΧΚ έχουν περιγραφεί τα τελευταία χρόνια (78, 92, 93). Από τη μελέτη τους προκύπτουν ενδείξεις για διαταραχή στην ρύθμιση της ανοσιακής απάντησης, με ή χωρίς υποκείμενο εκλυτικό ερέθισμα, που σχετίζεται με κατάλυση της ανοχής έναντι του αντιγόνου PDC-E2 και πρόκληση χολαγγειίτιδας. Ένα μοντέλο αρουραίων που χαρακτηρίζεται από μια επικρατούσα μη λειτουργική μορφή του υποδοχέα του

μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα (transforming growth factor receptor), με έκφραση μόνο στα Τ-Λεμφοκύτταρα (dnTGFRII), εκδηλώνει φλεγμονή στους χοληφόρους πόρους και αυξημένα επίπεδα της κυτταροκίνης IL12p40. Είναι αξιοσημείωτο ότι διαγονιδιακοί knockout (KO) αρουραίοι που έχουν τη μετάλλαξη dnTGFRII αλλά δεν παράγουν IL12p40 έχουν δραματικά λιγότερη ιστολογικά χολαγγειίτιδα και σημαντικά μειωμένα επίπεδα ενδοηπατικών προφλεγμονωδών κυτταροκινών αλλά παρόμοια επίπεδα AMA, σε σύγκριση με αρουραίους της ομάδας ελέγχου (με τη μετάλλαξη dnTGFRII και φυσιολογική παραγωγή IL12p40) (94).

Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε σύμπνοια με πρόσφατα δεδομένα που εμπλέκουν το μονοπάτι της IL-12 στην προδιάθεση για ΠΧΚ (52, 95). Επιπλέον, KO αρουραίοι που δεν παράγουν ισομερείς μορφές της πρωτεΐνης AE2 αναπτύσσουν χαρακτηριστικά ΠΧΚ και μειωμένο αριθμό Τ-ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (93). Γενετικά δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους συσχετίζουν μια ποικιλία του γονιδίου της πρωτεΐνης-ανταλλαγή ανιόντων SLCA2/AE2 με την πρόοδο της νόσου υπό τη θεραπεία με Αρκτοδεοξυχολικό Οξύ (ΑΔΧΟ) (43). Αν η δυσλειτουργία της πρωτεΐνης AE2 οδηγεί σε διαταραχή της ομοιόστασης των χολαγγειοκυττάρων, αυξημένο βαθμό απόπτωσης και επακόλουθη ενισχυμένη παρουσίαση αντιγονικών επιτόπων ή απλά σε δυσλειτουργία των λεμφοκυττάρων, παραμένει ζήτημα προς διευκρίνιση (46).

Η αναλογία γυναικών προς άνδρες στην ΠΧΚ είναι 9:1. Η κυριαρχία των γυναικών στην ΠΧΚ μπορεί να μας παρέχει πληροφορίες για την αιτιολογία της ΠΧΚ. Πιθανοί μηχανισμοί είναι ο αυξημένος κίνδυνος έκθεσης σε παράγοντες που επάγουν τη νόσο (λοιμώξεις ουροποιητικού ή 2-οκτυνοϊκό οξύ) ή αλλαγμένη απάντηση στις γυναίκες, σε κοινό εκλυτικό ερέθισμα. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι ο εμβρυϊκός μικροχμαιορισμός (παρουσία εμβρυϊκών κυττάρων στο ήπαρ και το περιφερικό αίμα γυναικών, χρόνια μετά από το πέρας των κύσεων) συνεισφέρει στην παθογένεια της νόσου (58, 96-99). Μολονότι καμιά από τις γενετικές θέσεις που έχουν συσχετιστεί με την ΠΧΚ δεν εδράζονται στο Χ ή Υ χρωμόσωμα, πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι ελλείψεις στο Χ χρωμόσωμα ανιχνεύονται στους ασθενείς με ΠΧΚ. Υπάρχει στατιστικά σημαντικά υψηλότερη συχνότητα μονοσωμίας στο Χ χρωμόσωμα στα περιφερικά λεμφοκύτταρα ασθενών με ΠΧΚ, συγκριτικά με γυναίκες ομάδας ελέγχου (100). Η συστηματική σκλήρυνση και η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα παρουσιάζουν το ίδιο εύρημα (101). Η απώλεια του Χ χρωμοσώματος στους ασθενείς με ΠΧΚ δεν ήταν τυχαία, και αφορούσε πιο συχνά το αδρανές ομόλογο που κληροδοτήθηκε από τον ένα γονέα (102), γεγονός που πιθανά υποδεικνύει το ρόλο προϊόντων του Χ χρωμοσώματος στην αυξημένη προδιάθεση των γυναικών για ΠΧΚ.

3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Τα AMA αποτελούν το ορολογικό ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της ΠΧΚ. Υπάρχουν 5 ειδικά αυτοαντιγόνα-στόχοι των AMA, που όλα μαζί αναφέρονται ως ο M2 υπότυπος των μιτοχονδριακών αυτοαντιγόνων και αποτελούν ενζυμικές υπομονάδες του πολυενζυμικού συμπλέγματος της 2-κετοξικής δεϋδρογονάσης, της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων: το σύμπλεγμα της πυροσταφυλικής δεϋδρογονάσης (PDC-E2 / ΣΠΔ-E2), το σύμπλεγμα της 2-κετο-οξικής δεϋδρογονάσης με διακλαδισμένη άλυσσο (BCKD-E2), το σύμπλεγμα της κετογλουταρικής δεϋδρογονάσης (OGDC-E2), η διϋδρολιποαμιδική δεϋδρογονάση της E3- συνδεόμενης πρωτεΐνης (E3-BP) και η E1α-υπομονάδα του συμπλέγματος της πυροσταφυλικής δεϋδρογονάσης (PDC-E1α / ΣΠΔ-E1α)(1) (πίνακας 2). Τα αυτοαντιγόνα αυτά μετέχουν στην οξειδωτική φωσφορυλίωση (αντίδραση που λαμβάνει χώρα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και από την οποία σχηματίζεται το ATP) (εικόνα 6). Παρουσιάζουν μεγάλο βαθμό ομολογίας μεταξύ τους και περιοχές που συνδέονται με λιπαρά οξέα (εικόνες 4 και 5). Μεγάλη εξέλιξη για την κατανόηση της νόσου, αποτέλεσε η ταυτοποίηση και κλωνοποίηση αυτών των αντιγόνων (103).

Συνηθέστερα τα AMA αντιδρούν με το ΣΠΔ-E2. Σε λίγους ασθενείς αντιδρούν μόνο με αυτό αλλά στους περισσότερους παρουσιάζουν επιπλέον αντιδραστικότητα έναντι του BCKD-E2, του OGDC-E2 ή και των δυο (104-108). Άλλα αυτοαντισώματα εκτός από αυτά που στρέφονται έναντι του M2 αντιγόνου, δεν έχουν ταυτοποιηθεί. Αυτά που στο παρελθόν είχαν βρεθεί, όπως τα αντι-M4, αντι-M8 και αντι-M9, ήταν αποτέλεσμα τεχνικών σφαλμάτων (artifact) των μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευσή τους (109).

Mitochondrial autoantigens
E2 subunits of 2-OADC
PDC-E2
OGDC-E2
BCOADC-E2
Pyruvate dehydrogenase complex
E3BP
PDC E1α

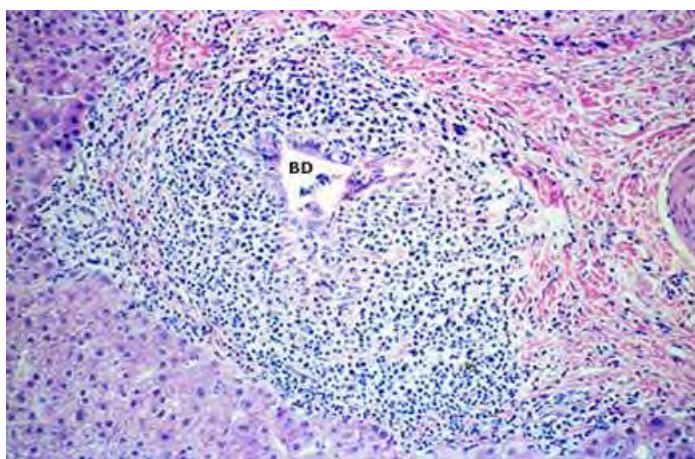
ΠΙΝΑΚΑΣ 2.
ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΑ (110)
(ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

Κάθε ένα από τα ένζυμα του ΣΠΔ καταλύει την αναγωγική μεταφορά μιας ακετυλομάδας από το υπόστρωμά του. Η αντίδραση αυτή in vitro διακόπτεται από την παρουσία ανθρώπινων AMA . Τα E2 ένζυμα έχουν κοινή δομή αποτελούμενη από ένα αμινοτελικό άκρο που περιέχει τη λιποειδική

αυτή, όπως δείχνουν όλες οι ως τώρα παρατηρήσεις, είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανοσολογική αντίδραση στην ΠΧΚ.

Όταν ανασυνδυασμένα αυτοαντιγόνα που δημιουργήθηκαν με βάση τους επιτόπους της ΠΧΚ χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικό τεστ, το θετικό για AMA αποτέλεσμα έχει υψηλή διαγνωστική αξία, υποδεικνύοντας ότι το άτομο έχει ΠΧΚ, ή τουλάχιστο βρίσκεται σε αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξει ΠΧΚ μέσα στα επόμενα 5 με 10 έτη (114). Παρά ταύτα, ο ρόλος των AMA στην παθογένεια της νόσου είναι ασαφής, όπως φαίνεται από τις ακόλουθες παρατηρήσεις:

- οι τίτλοι των AMA παρουσιάζουν μεγάλη διακύμανση ανάμεσα στους ασθενείς (ως και x20), τείνουν όμως να είναι σταθεροί σε έναν ασθενή, σε μια δεδομένη χρονική στιγμή. Εν τούτοις δε σχετίζονται ούτε με βαρύτητα, ούτε με την πρόοδο της νόσου (1, 115).
- Δεν υπάρχει διαφορά στην πορεία της νόσου μεταξύ των AMA-θετικών και AMA-αρνητικών ασθενών (116).
- Τα AMA που αναπτύσσονται σε ζώα μετά ανοσοποίηση με ανθρώπινο ανασυνδυασμένο ΣΠΔ, δεν προκαλούν βλάβη στους χοληφόρους πόρους ούτε κλινική εκδήλωση νόσου (117).
- AMA-θετικοί και AMA-αρνητικοί ασθενείς παρουσιάζουν την ίδια ανταπόκριση στη θεραπεία με ΑΔΧΟ και στη μεταμόσχευση ήπατος (118).



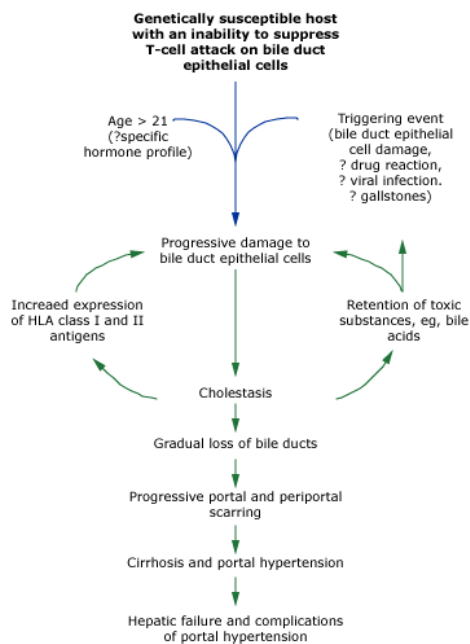
ΕΙΚΟΝΑ 7. (57)

ΧΑΜΗΛΗ ΜΕΓΕΘΥΝΣΗ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΒΙΟΨΙΑΣ ΠΧΚ.

ΕΝΑΣ ΧΟΛΗΦΟΡΟΣ ΠΟΡΟΣ (BILE DUCT-BD) ΜΕ ΒΛΑΒΗ, ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΝΤΟΝΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ, ΣΕ ΜΙΑ ΔΙΕΥΡΥΜΕΝΗ ΠΥΛΑΙΑ ΤΡΙΑΔΑ. Ο ΧΟΛΗΦΟΡΟΣ ΠΟΡΟΣ ΦΑΙΝΕΤΑΙ ΝΑ ΕΙΝΑΙ Ο ΣΤΟΧΟΣ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ. (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

Η ΠΧΚ είναι η μόνη ασθένεια κατά την οποία υπάρχουν αυτοδραστικά Β- και Τ-λεμφοκύτταρα ειδικά έναντι του ΣΠΔ-Ε2 (119). Μολονότι ο μηχανισμός της καταστροφής των χοληφόρων παραμένει ασαφής, οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις των πόρων, η παρουσία λεμφικών διηθήσεων στα πυλαία διαστήματα και η παρουσίαση τάξης II αντιγόνων του Μειζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας στο επιθήλιο των χοληφόρων υποδεικνύουν ότι η αυτοάνοση ανοσολογική απάντηση κατευθύνεται εναντίον των χολαγγειοκυττάρων, στο επιθήλιο των χοληφόρων (εικόνα 7). Η καταστροφή των χολαγγειοκυττάρων διαμεσολαβείται από αθροίσεις αυτοδραστικών Τ-λεμφοκυττάρων.

Ανοσοϊστοχημικά τα αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα στους ασθενείς με ΠΧΚ είναι θετικά για τους δείκτες CD4, CD45RO, και T-cell receptor α/β (υποδοχέα α/β του Τ-λεμφοκυττάρου). Μοριακές μελέτες ανέδειξαν ότι η συχνότητα πρόδρομων μορφών CD4+ Τ-λεμφοκυττάρων είναι 100 με 150 φορές μεγαλύτερη στο ήπαρ και στους περιφερικούς λεμφαδένες, σε σχέση με το περιφερικό αίμα, ασθενών με ΠΧΚ (120). Οι αθροίσεις CD8+ Τ-λεμφοκυττάρων, φυσικών φονέων (Natural Killers) Τ-λεμφοκυττάρων, και Β-λεμφοκυττάρων που είναι δραστικά έναντι του ΣΠΔ-Ε2



ΕΙΚΟΝΑ 8.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΠΧΚ-ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ.

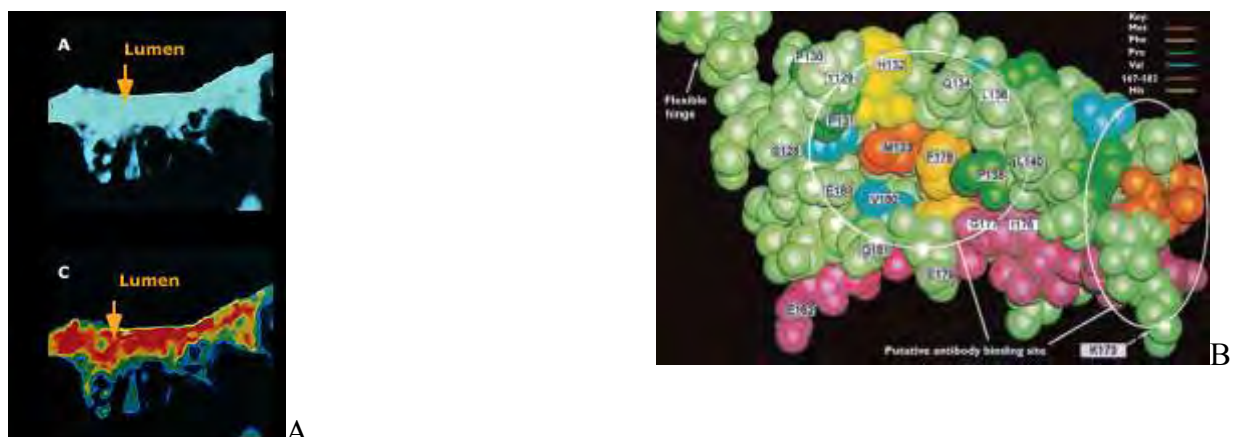
ΑΡΧΙΚΑ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ ΑΤΟΜΟ ΜΕ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ, ΠΟΥ ΔΕ ΔΥΝΑΤΑΙ ΝΑ ΚΑΤΑΣΤΕΙΛΕΙ ΤΗΝ ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΕΠΙΘΕΣΗ ΣΤΟΥΣ ΧΟΛΗΦΟΡΟΥΣ ΠΟΡΟΥΣ, ΟΤΑΝ ΑΥΤΗ ΕΧΕΙ ΞΕΚΙΝΗΣΕΙ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ ΕΝΑ ΠΥΡΟΛΟΤΙΚΟ ΕΡΕΘΙΣΜΑ, ΠΟΥ ΘΑ ΕΚΚΙΝΗΣΕΙ ΤΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ, ΟΠΟΙΟΔΗΠΟΤΕ ΕΡΕΘΙΣΜΑ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΒΛΑΒΗ ΣΤΑ ΧΟΛΗΦΟΡΑ ΚΑΙ ΕΚΘΕΣΗ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ Ή ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑ. Η ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΧΟΛΟΣΤΑΣΗ. ΞΕΚΙΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΤΡΟΠΟ ΑΥΤΟ ΕΝΑΣ ΦΑΥΛΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΟΠΟΙΟ Η ΚΑΤΑΚΡΑΤΗΣΗ ΤΟΞΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ, ΟΠΩΣ ΤΑ ΛΙΠΑΡΑ ΟΞΕΑ, ΠΡΟΚΑΛΟΥΝ ΒΛΑΒΗ ΣΤΑ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ. Η ΧΟΛΟΣΤΑΣΗ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΤΑΣΗΣ Ι ΚΑΙ ΙΙ ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΤΟΥ ΜΕΙΖΟΝΟΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ, ΜΕ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ΑΥΤΑ ΝΑ ΓΙΝΟΝΤΑΙ ΚΑΛΥΤΕΡΟΣ ΣΤΟΧΟΣ ΓΙΑ ΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ. Η ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΗ ΑΠΩΛΕΙΑ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΑ ΙΝΩΣΗ, ΚΙΡΡΩΣΗ, ΠΥΛΑΙΑ ΥΠΕΡΤΑΣΗ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΑ ΗΠΑΤΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ. (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

είναι επίσης υψηλότερες στο ήπαρ, σε σχέση με το αίμα. Μελέτη του υποδοχέα των Τ-λεμφοκυττάρων με κλωνοποιημένα Τ-κύτταρα δείχνει μια ετερογένεια στην κατανομή τους. Αυτοδραστικά Τ-κύτταρα του περιφερικού αίματος βρίσκονται μόνο σε ασθενείς στα πρώιμα στάδια της νόσου, κάτι που υποδεικνύει την προοδευτική μετανάστευση τέτοιων κυττάρων στο ήπαρ κατά την πρόοδο της νόσου (120). Με τη χρήση τετραμερών του τάξης I Μείζονος Συστήματος Ιστοσυμβατότητας, βρέθηκε ότι CD8+ Τ-κύτταρα ειδικά για το ΣΠΔ-E2 είναι 10-15 φορές πιο συχνά στο ήπαρ, σε σχέση με το περιφερικό αίμα. Αυτά τα κλωνοποιημένα κύτταρα παράγουν INF- γ , κατά την επαφή τους με το ΣΠΔ-E2.

Παρά το γεγονός ότι είναι δύσκολο να υπάρξει μια ενιαία θεωρία για την ΠΧΚ, ένα πιθανό μοντέλο φαίνεται στην εικόνα 8.

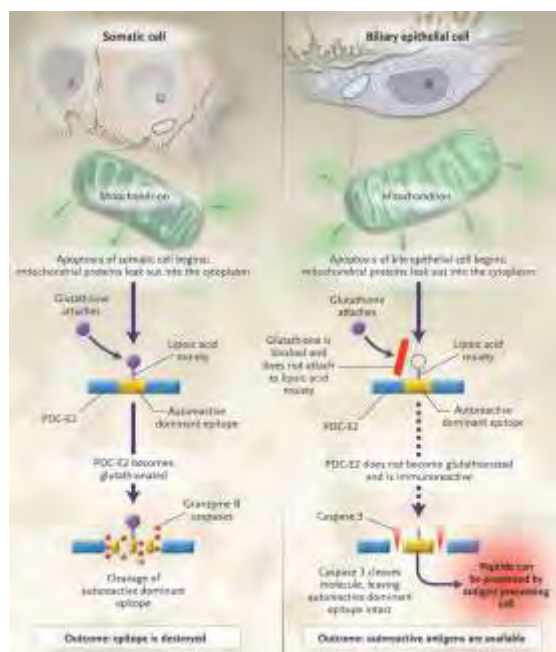
Το προκλινικό μοντέλο χαρακτηρίζεται από αυτοανοσία, με κύρια εκδήλωση την παρουσία των αντι-M2 αντισωμάτων και την αντίδρασή τους με τη λιποειδική περιοχή των E2 υπομονάδων του ΣΠΔ. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα βλάβη των χολαγγειοκυττάρων. Ακολουθεί η έκφραση αντιγόνων τάξης I και II του Μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας στο επιθήλιο των χοληφόρων και των ηπατοκυττάρων (121) και έναρξη της διαδικασίας απόπτωσης.

Κατά τη διαδικασία της απόπτωσης τα χολαγγειοκύτταρα, σε αντίθεση με άλλα κύτταρα του οργανισμού, δεν μπορούν να συνδέσουν γλουταθειόνη στις λιποειδικές περιοχές του ΣΠΔ και επομένως αποτυγχάνουν να απαλλαγούν από τον αυτοδραστικό τους επίτοπο (122). Τα γειτονικά χολαγγειοκύτταρα καταστρέφουν τα αποπτωτικά κύτταρα με φαγοκυττάρωση και εκφράζουν στην επιφάνειά τους τον επίτοπο M2 (123, 124). Ένα μόριο που παρουσιάζει αντιγονικές ομοιότητες με την E2 υπομονάδα του ΣΠΔ, αλλά είναι διαφορετικό από αυτή, έχει ταυτοποιηθεί στη βλεννογονική



ΕΙΚΟΝΑ 9.

Α) ΜΙΚΡΟΓΡΑΦΙΑ ΑΠΟ ΟΜΟΕΣΤΙΑΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΜΕ ΠΧΚ. ΟΙ ΤΟΜΕΣ ΕΠΩΑΣΤΗΚΑΝ ΜΕ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟ ΑΝΤΙΣΩΜΑ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ Ε2 ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ ΤΟΥ ΣΠΔ. ΤΑ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΕΝΤΟΝΟ ΟΜΟΙΟΓΕΝΗ ΦΘΟΡΙΣΜΟ. ΑΠΟ ΤΑ 8 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΜΟΝΟ ΤΟ ΕΝΑ ΑΝΤΕΔΡΑΣΕ, ΓΕΓΟΝΟΣ ΠΟΥ ΣΗΜΑΙΝΕΙ ΟΤΙ Η ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΕΛΑΒΕ ΧΩΡΑ ΜΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΠΑΡΟΜΟΙΑ, ΟΧΙ ΟΜΩΣ ΤΑΥΤΟΣΗΜΗ ΜΕ ΤΟ ΣΠΔ. (125) Β) ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΗΣ ΕΞΩΤΕΡΙΚΗΣ ΛΙΠΟΕΙΔΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΤΟΥ ΣΠΔ-E2.(126)



ΕΙΚΟΝΑ 10. (1)

ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΣΤΙΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΣΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΧΟΛΑΓΓΕΙΟΚΥΤΤΑΡΩΝ. ΣΤΑ ΧΟΛΑΓΓΕΙΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟ Ε2-ΣΠΔ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ Ο ΚΥΡΙΑΡΧΟΣ ΑΥΤΟΕΠΙΤΟΠΟΣ, ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΑΝΕΠΑΦΟ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ. ΑΥΤΗ Η ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΗ ΒΑΣΗ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΤΥΠΩΣΗ ΥΠΟΘΕΣΕΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΙΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΣΤΟ ΕΠΙΘΗΛΙΟ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ. (ΟΙ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΑΝΑΛΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ)

επιφάνεια του χοληφόρου επιθηλίου, σε πρώιμο στάδιο της νόσου (121, 125, 127) (εικόνες 9Α και 9Β). Η έκφραση αυτού του αντιγόνου προκαλεί ανοσολογική επίθεση στα χολαγγειοκύτταρα επαγόμενη από IgA αντισώματα, δηλαδή από τα αντισώματα που είναι παρόντα στη χολή (125). Η παρουσία αυτού του αντιγόνου, που ανιχνεύεται μόνο στο επιθήλιο των χοληφόρων ασθενών με ΠΧΚ, μπορεί να προσφέρει μια εξήγηση για την εκλεκτική προσβολή των κυττάρων των χοληφόρων πόρων.

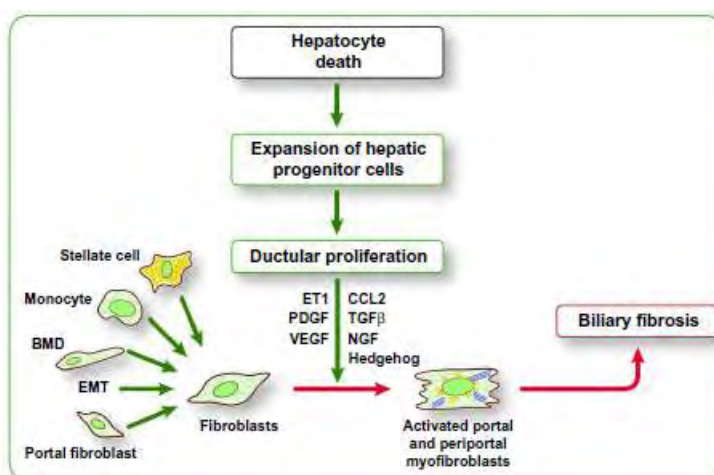
Η επιλεκτική αδυναμία σύνδεσης γλουταθειόνης και καταστροφής των αυτοδραστικών επιτόπων από τα κύτταρα των χοληφόρων πόρων προσφέρει μια ακόμα εξήγηση στο μεγάλο ερώτημα, γιατί ενώ τα μιτοχονδριακά αυτοαντιγόνα-στόχος είναι παρόντα σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, η αυτοάνοση επίθεση περιορίζεται στο επιθήλιο των χοληφόρων (εικόνα 10).

Τα IgAM2 αντισώματα μπορούν να επάγουν την παραγωγή κασπασών και τη βλάβη χολαγγειοκυττάρων *in vitro* (111), γεγονός που υποδεικνύει ότι η απόπτωση των χολαγγειοκυττάρων λαμβάνει χώρα νωρίς στη φυσική ιστορία της νόσου και μετέχει στην έναρξη και ενίσχυση της αυτοάνοσης διαδικασίας. Τα φυσιολογικά χολαγγειοκύτταρα που επενδύουν τους μικρούς χοληφόρους πόρους εκφράζουν το Bcl2 και είναι πιο ανθεκτικά στην απόπτωση σε σχέση αυτά που είναι στους μεγάλους πόρους (128). Εντούτοις επαγόμενη από stress ελάττωση της γλουταθειόνης, μείωσε σημαντικά την έκφραση Bcl2 και κατέβασε το κατώφλι για την έναρξη απόπτωσης (129, 130). Στην ΠΧΚ η έκφραση Bcl2 στους μικρούς χοληφόρους πόρους είναι ελαττωμένη ως

αποτέλεσμα του οξειδωτικού stress, της μεγάλης ηλικίας των κυττάρων και της επαγόμενης απόπτωσης (131). Επομένως ένα απλό παθογενετικό μοντέλο για την ΠΧΚ στηρίζεται στην παρουσία αντισωμάτων IgAM2, με μια επαγόμενη, επίκτητη δυσλειτουργία, ή ελάττωση των επιπέδων γλουταθειόνης στα χολαγγειοκύτταρα των ενδοηπατικών χοληφόρων πόρων. Το μοντέλο αυτό εν μέρει εξηγεί το ευνοϊκό αποτέλεσμα της χρήσης ΑΔΧΟ, ενός χολικού οξέος που μειώνει τα επίπεδα των AMA και αυξάνει τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των χολαγγειοκυττάρων, στα πρώιμα στάδια της φυσικής ιστορίας της νόσου (132-134).

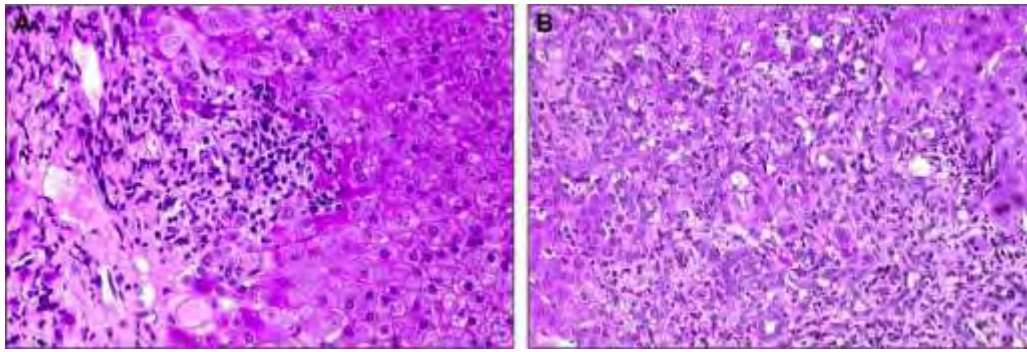
Φλεγμονή και χολόσταση είναι πρώιμα γεγονότα στην κλινική πρόοδο της νόσου. Η καταστροφή των χολαγγειοκυττάρων μεσολαβείται από TNF, CD-40 και Fas υποδοχείς (135). Υπό την πίεση του περιβάλλοντος τα χολαγγειοκύτταρα πολλαπλασιάζονται, για να εξισορροπήσουν την καταστροφή. Μεσολαβητές που σχετίζονται με αυτή τη διαδικασία περιλαμβάνουν το χολινεργικό σύστημα, το σύστημα IGF1 και τα οιστρογόνα μέσω δράσης στους α υποδοχείς τους (133, 136, 137).

Μια σχηματική απεικόνιση των θεωρητικών συμβάντων που σχετίζονται με την πρόοδο της ίνωσης στην ΠΧΚ, παρουσιάζεται στην εικόνα 11. Ο θάνατος ηπατοκυττάρων διεγείρει τον πολλαπλασιασμό προγονικών κυττάρων, που εκδηλώνεται με την εμφάνιση αντιδραστικών πόρων. Τα κύτταρα αυτά που έχουν τη δυνατότητα να παράγουν διαμεσολαβητές που προσελκύουν και ενεργοποιούν ινοβλάστες διαφόρων τύπων, μονοκύτταρα, κύτταρα προερχόμενα από τον μυελό των οστών, κύτταρα που μεταπίπτουν σε επιθηλιακά ή μεσεγχυματικά, αστροκύτταρα και περιτορικούς πυλαίους ινοβλάστες (138-146).



ΕΙΚΟΝΑ 11. (57)

ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΩΝ ΘΕΩΡΗΤΙΚΩΝ ΣΥΜΒΑΝΤΩΝ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΟΟΔΟ ΤΗΣ ΙΝΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΧΚ. ET1: ENDOTHELIN 1 (ΕΝΔΟΘΗΛΙΝΗ 1), PDGF: PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR (ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ), VEGF: VASCULAR EPITHELIAL GROWTH FACTOR (ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΣ ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ), CCL2: CHEMOKINE LIGAND 2 (ΣΥΝΔΕΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΚΙΝΩΝ 2), TGFβ: TRANSFORMING GROWTH FACTOR β (ΜΕΤΑΤΡΕΠΤΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ β), NGF: NERVE GROWTH FACTOR (ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ), BMD: BONE MARROW DERIVED-CELLS (ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΡΟΕΡΧΟΜΕΝΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΜΥΕΛΟ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ), EMT: EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION (ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗ-ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΠΤΩΣΗ)



ΕΙΚΟΝΑ 12. (57)

12Α. ΤΥΠΙΚΗ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΠΕΡΙΠΥΛΑΙΑ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ.

12Β. ΧΟΛΙΚΗ ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΝΕΚΡΩΣΗ, ΜΕ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ ΤΩΝ ‘ΠΡΟΤΥΠΩΝ’ ΠΟΡΩΝ, ΣΥΝΟΔΕΥΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΟΙΔΗΜΑ, ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΙΝΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ.

Η χολόσταση είναι κεντρικό χαρακτηριστικό της ΠΧΚ. Σε πρώιμα στάδια της νόσου δεν μπορεί να αποδοθεί στην απώλεια χοληφόρων πόρων, καθώς ορολογικοί δείκτες χολόστασης και κνησμός παρουσιάζονται πριν ‘χαθεί’ σημαντικός αριθμός πόρων, γεγονός που υποδεικνύει την συμμετοχή ενός ‘λειτουργικού’ παράγοντα. Στην πρώιμη ΠΧΚ το λειτουργικό εμπόδιο στη ροή της χολής εντοπίζεται κυρίως σε μεγαλύτερους πόρους και όχι στα χοληφόρα μικροσωληνάρια. Τα κύρια χαρακτηριστικά των σηματοδοτικών καναλιών που ρυθμίζουν τη διακίνηση της χολής στους πόρους αφορούν την αλκαλοποίηση και διαλυτοποίηση της, και λαμβάνουν χώρα μετά από διέγερση από σεκρετίνη και άλλα νευροπεπτίδια (147-150). Οι διαδικασίες αυτές επηρεάζονται στην ΠΧΚ, λόγω δυσλειτουργίας στη ρύθμιση και έκφραση των πρωτεϊνών-ανταλλαγέων ανιόντων SLCA2 και SLC9A3 (151, 152) και της απώλειας έκφρασης των υποδοχέων της 1,4,5-τριφωσφορικής ινοσιτόλης, που εμπλέκεται στην επαγόμενη από Ca^{+2} έκκριση διττανθρακικών (153). Φλεγμονώδεις κυτταροκίνες αναστέλλουν την εξαρτώμενη από c-AMP (Cyclic adenosine monophosphate – κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη) έκκριση υγρών στα χολαγγειοκύτταρα και διαταράσσουν τη λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού στα χοληφόρα (154, 155), διαδικασία που ενδεχομένως διαμεσολαβείται από μονοξείδιο του αζώτου (156). Η θεραπεία με ΑΔΧΟ εν μέρει αποκαθιστά τις ανωτέρω δυσλειτουργίες (157). Η αλκαλοποίηση και διαλυτοποίηση της χολής έχουν κριτική σημασία για την άμυνα του επιθηλίου απέναντι στα μικρόβια. Η διαταραγμένη παραγωγή αλκαλοποιημένης από διττανθρακικά χολής παρεμποδίζει τη λειτουργία των αντιμικροβιακών πεπτιδίων, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων χολικών αλάτων (158). Το όξινο pH της χολής αλλάζει τη λειτουργικότητα της αλκαλικής φωσφατάσης της χολής, εμποδίζοντας την ικανότητα της να αποφωσφορυλιώνει τις ενδοτοξίνες και να αποτρέπει την επαγόμενη από τον λιποπολυσακχαρίτη (Lipopolysaccharide -LPS) των μικροβίων φλεγμονή (159). Δεδομένα που υποστηρίζουν αυτή την υπόθεση περιλαμβάνουν την επίδραση της θεραπείας με ΑΔΧΟ στη διαλυτότητα και αλκαλοποίηση της χολής, στη συγκέντρωση ενδοτοξινών στα χολαγγειοκύτταρα

(160), στους δείκτες χολόστασης και στην ανοσολογική αντίδραση έναντι των ενδοτοξινών (161).

Αλλαγές στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με πρωτεΐνες-μεταφορείς της χολής και των χολικών αλάτων παρατηρούνται στην ΠΧΚ, ανάλογα με το στάδιο της νόσου. Στο πρώιμο ανικτερικό στάδιο δεν υπάρχουν τέτοιες αλλαγές (162-164), όμως με την πρόοδο της νόσου η έκφραση των OATP2 και NTCP ρυθμίζεται προς χαμηλότερα επίπεδα ενώ η έκφραση των BSEP, MDR3 και MRP2 ρυθμίζεται προς υψηλότερα επίπεδα ή διατηρείται σταθερή. Αποτελούν προσαρμοστικούς μηχανισμούς, για να μειωθεί το φορτίο των χολικών αλάτων που προκαλεί η χρόνια χολόσταση. Καθώς ελάχιστα επιδρούν στη βλάβη που προκαλεί η χολόσταση, η θεραπευτική στρατηγική θα πρέπει να στοχεύσει στις διαδικασίες μείωσης της τοξικότητας των χολικών οξέων.

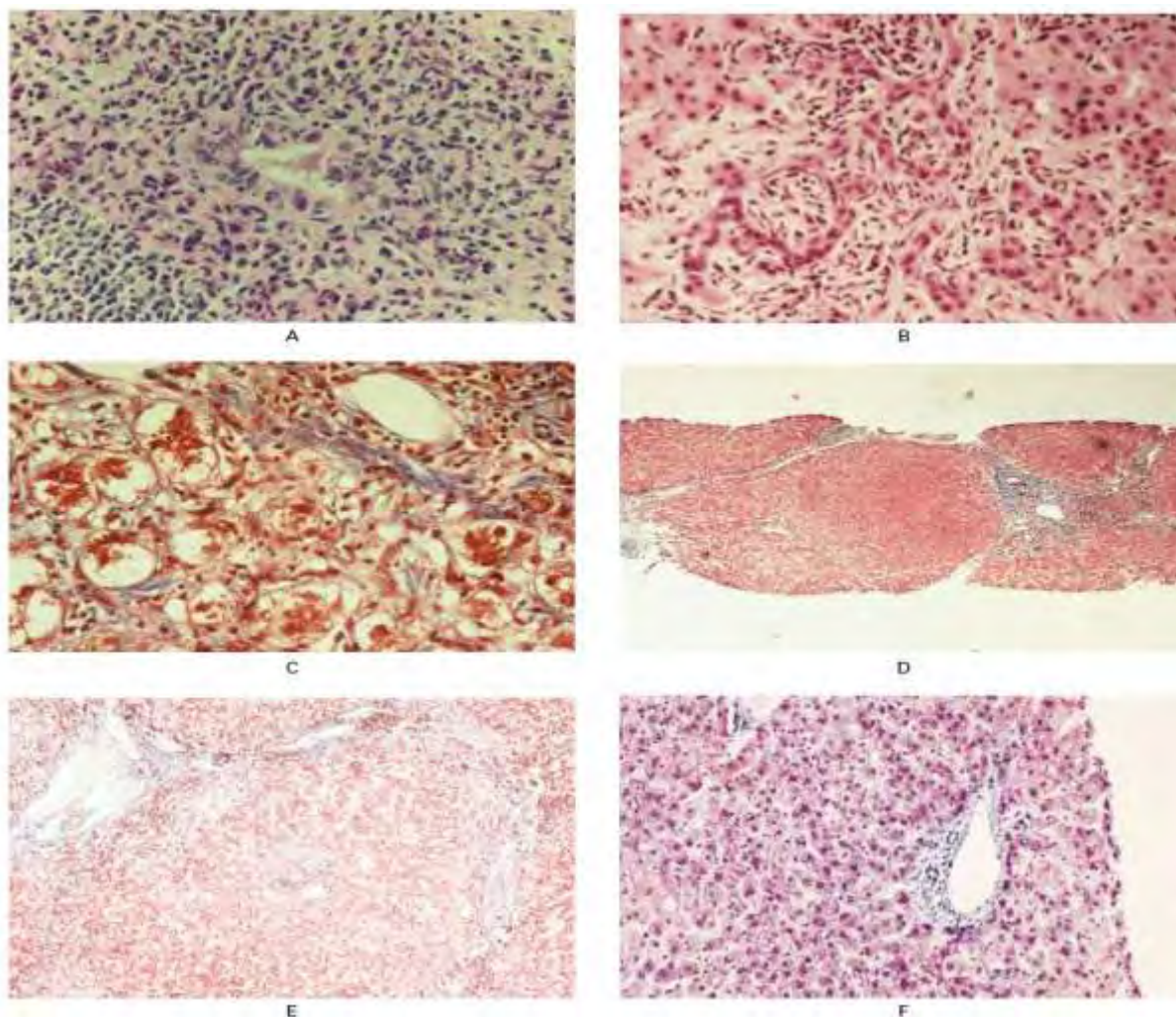
4. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Ως προς την πορεία της φλεγμονώδους διεργασίας στην ΠΧΚ, αναφέρονται 2 τρόποι εξάπλωσής της μέσα στο λόβιο: μέσω λεμφοκυτταρικής περιπυλαίας νέκρωσης και μέσω χολικής τμηματικής νέκρωσης (133, 165-167). Η λεμφοκυτταρική περιπυλαία νέκρωση στην ΠΧΚ είναι μια φλεγμονώδης καταστροφή ομάδας ηπατοκυττάρων που είναι σε επαφή με λεμφοκυτταρα, παρόμοια με αυτή που παρατηρείται στην Αυτοάνοση Ηπατίτιδα (Autoimmune Hepatitis - AIH) (εικόνα 12Α). Τα λεμφοκύτταρα εισβάλλουν, ή είναι σε στενή επαφή με τα ηπατοκύτταρα. Τα ηπατοκύτταρα παρουσιάζουν χαρακτηριστικά εκφύλισης: διόγκωση, συρρίκνωση ή απόπτωση. Ως αποτέλεσμα, το αφοριστικό πέταλο των ηπατικών λοβίων αντικαθίσταται από νεοσχηματισμένο συνδετικό ιστό, που μερικές φορές περιέχει και μικρα πορίδια. Η χολική τμηματική νέκρωση χαρακτηρίζεται από μια εντυπωσιακή αύξηση του αριθμού των μικρών ποριδίων, που επεκτείνονται στην περιπυλαία περιοχή και συνοδεύονται από οίδημα, διήθηση πολυμορφοπυρήνων, περιπορική ίνωση και χαρακτηριστικά θανάτου ηπατοκυττάρων που συνδέονται με χολόσταση (εικόνα 12Β). Το πρότυπο αυτό συνήθως συνοδεύεται από βαριά ποροπενία. Η περιπυλαία παρεγχυματική βλάβη είναι το σημείο καμπής στη φυσική ιστορία της νόσου, καθώς η βαρύτητά της σηματοδοτεί την έναρξη της ίνωσης και τελικά της κίρρωσης (167, 168).

Η ιστολογική εξέλιξη της ΠΧΚ έχει χωριστεί σε 4 στάδια (169, 170), με προοδευτική εξέλιξη από το στάδιο I ως το IV, την κίρρωση. Παρά ταύτα προβλήματα υπάρχουν στη σταδιοποίηση, καθώς περισσότερα από ένα, ακόμα και τα 4 ιστολογικά στάδια μπορούν να συνυπάρχουν στην ίδια βιοψία. Στην περίπτωση αυτή το στάδιο αποφασίζεται από το πιο προχωρημένο που ανευρίσκεται.

Το ήπαρ δεν προσβάλλεται από το νόσημα ομοιόμορφα [μη διάχυτος παρεγχυματική νόσος (108)], και προχωρημένες βλάβες μπορεί να χαθούν, αν το κομμάτι της βιοψίας είναι μικρό.

Η αρχική βλάβη που παρατηρείται συνιστάται σε βλάβη στα επιθηλιακά κύτταρα των χοληφόρων πόρων, πιθανότατα επαγόμενη από λεμφοκύτταρα, τα οποία περιβάλλουν και συχνά διηθούν τον πόρο.



ΕΙΚΟΝΑ 13. (171)

ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ. VERSUS ΒΙΟΨΙΑ ΑΠΟ ΥΓΙΕΣ ΗΠΑΡ

ΕΙΚΟΝΑ 13Α. ΣΤΑΔΙΟ Ι. Ο ΧΟΛΗΦΟΡΟΣ ΠΟΡΟΣ ΕΚΦΥΛΙΣΜΕΝΟΣ, ΔΙΗΘΗΜΕΝΟΣ ΚΥΡΙΩΣ ΑΠΟ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ, ΑΛΛΑ ΚΑΙ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΑ, ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ (ΑΙΜΑΤΟΞΥΛΙΝΗ-ΗΩΣΙΝΗ, x 310).

ΕΙΚΟΝΑ 13Β. ΣΤΑΔΙΟ ΙΙ. ΠΛΑΤΥΠΗ ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΑ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ. ΟΙ ΠΟΡΟΙ ΕΙΝΑΙ ΕΛΙΚΟΕΙΔΕΙΣ, ΜΕ ΕΛΑΧΙΣΤΕΣ ΔΙΑΤΟΜΕΣ ΣΕ ΕΓΚΑΡΣΙΑ ΔΙΑΜΕΤΡΟ, ΤΑ ΔΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΤΟΥΣ ΔΙΗΘΟΥΝ ΕΙΝΑΙ ΚΥΡΙΩΣ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ (ΑΙΜΑΤΟΞΥΛΙΝΗ-ΗΩΣΙΝΗ, x 310).

ΕΙΚΟΝΑ 13C. ΚΕΝΟΤΟΠΙΩΔΗΣ ΕΚΦΥΛΙΣΗ ΤΩΝ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΠΛΗΣΙΟΝ ΤΟΥ ΠΥΛΛΙΟΥ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΟΣ. ΣΕ ΠΟΛΛΑ ΑΠΟ ΤΑ ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΑΥΤΑ ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΑΘΡΟΙΣΕΙΣ ΥΑΛΙΝΗΣ, ΠΑΡΟΜΟΙΕΣ ΜΕ ΑΥΤΕΣ ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΤΡΙΧΡΩΜΗ MASSON, x 496).

ΕΙΚΟΝΑ 13D. ΣΤΑΔΙΟ ΙΙΙ. ΓΕΙΤΟΝΙΚΕΣ ΠΥΛΛΙΕΣ ΤΡΙΑΔΕΣ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑΤΙΑ ΑΠΟΤΕΛΟΥΜΕΝΑ ΑΠΟ ΠΥΚΝΑ ΔΙΗΘΗΜΑΤΑ ΜΟΝΟΠΥΡΗΝΩΝ ΚΑΙ ΛΩΡΙΔΕΣ ΙΝΩΔΗ ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ (ΤΡΙΧΡΩΜΗ MASSON, x 54).

ΕΙΚΟΝΑ 13E. ΣΤΑΔΙΟ ΙV. ΚΙΡΡΩΣΗ. ΜΗ ΤΥΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΚΟΚΚΙΩΜΑ ΣΤΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΟΥ ΟΖΟΥ. ΟΙ ΠΥΛΛΙΕΣ ΤΡΙΑΔΕΣ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΔΙΑΦΡΑΓΜΑΤΙΑ ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ, ΜΕ ΔΙΗΘΗΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ (ΤΡΙΧΡΩΜΗ MASSON, x 90).

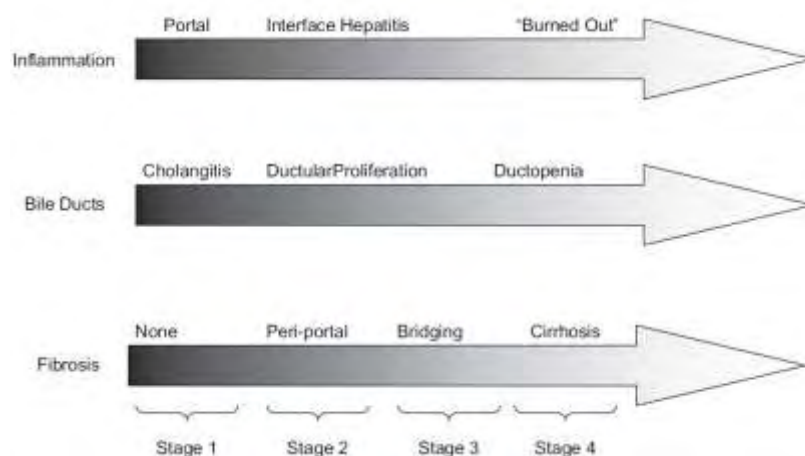
ΕΙΚΟΝΑ 13F. ΠΥΛΛΙΟ ΔΙΑΣΤΗΜΑ ΧΩΡΙΣ ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ (ΤΡΙΧΡΩΜΗ MASSON, x 250).

Τα κύτταρα γίνονται κενοτοπιώδη, πυκνωτικά και συρρικνώνονται (169, 170). Οι έχοντες νέκρωση χοληφόροι πόροι, συχνά εντοπίζονται στο κέντρο μεγάλων κοκκιωματωδών αλλοιώσεων, που αποτελούνται από επιθηλιοειδή ιστιοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, ηωσινόφιλα και περιστασιακά εμφανιζόμενα γιγαντοκύτταρα (170) (εικόνα 13Α). Αυτή είναι η πρώτη αλλοίωση του χοληφόρου πόρου στην ΠΧΚ. Στο στάδιο αυτό η φλεγμονή περιορίζεται στο πυλαίο διάστημα. Τα κοκκιώματα ανευρίσκονται συχνότερα στο στάδιο Ι της ΠΧΚ.

Καθώς η νόσος προχωρά στο στάδιο ΙΙ, πολλές πυλαίες τριάδες αποκτούν ουλές, φλεγμονώδη κύτταρα ξεχύνονται στο περιπυλαίο παρέγχυμα, φυσιολογικοί χοληφόροι πόροι σε εγκάρσια διατομή εξαφανίζονται και εμφανίζονται 'άτυποι', ελικοειδείς, χωρίς ξεκάθαρο σχηματισμό αυλού (εικόνα 13Β). Τα περιπυλαία ηπατοκύτταρα γίνονται κενοτοπιώδη, και περιβάλλονται από αφρώδη μακροφάγα, μια διαδικασία που καλείται χολική τμηματική νέκρωση (167) (εικόνες 12Β και 13Γ).

Στο στάδιο ΙΙΙ η διαδικασία δημιουργίας ουλώδους ιστού φτάνει στο σχηματισμό διαφραγματίων από ινώδη συνδετικό ιστό που συνδέει γειτονικές πυλαίες τριάδες (εικόνα 13Δ). Το στάδιο ΙV είναι εγκατεστημένη κίρρωση (εικόνα 13Ε). Άλλα ιστολογικά ευρήματα στην ΠΧΚ είναι ενδοκυττάρειες εναποθέσεις υαλίνης σε περιπυλαίες περιοχές, παρόμοιες με αυτές που παρατηρούνται στην αλκοολική ηπατοπάθεια (172), και αυξημένη εναπόθεση χαλκού (173). Η συγκέντρωση χαλκού συσχετίζεται με τα επίπεδα χολερυθρίνης ορού και με το στάδιο της νόσου (174).

Η πρόοδος των ιστολογικών αλλοιώσεων στην ΠΧΚ φαίνεται στην εικόνα 14.



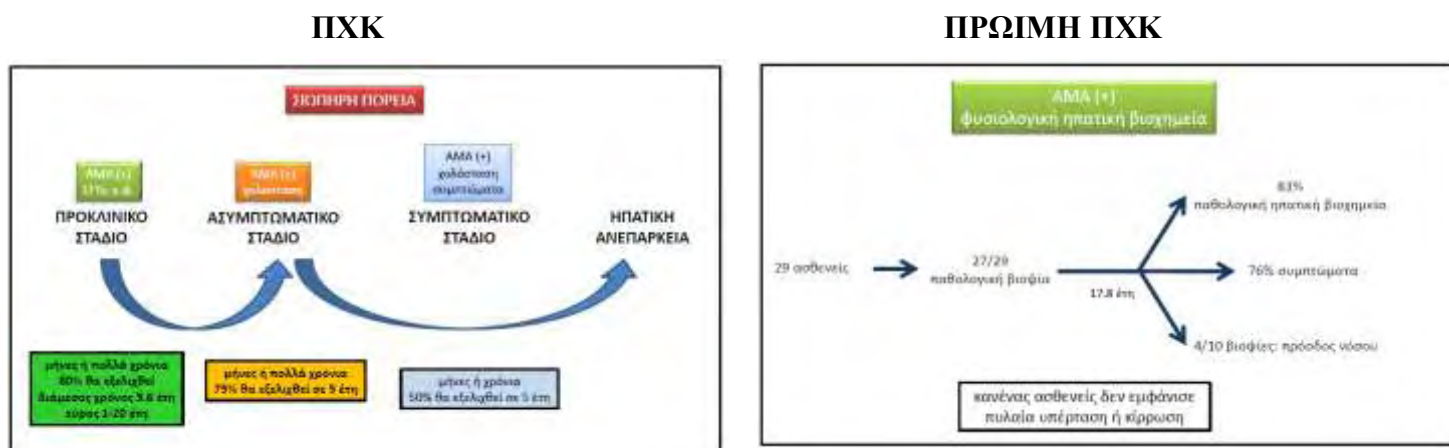
ΕΙΚΟΝΑ 14. (175)

ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

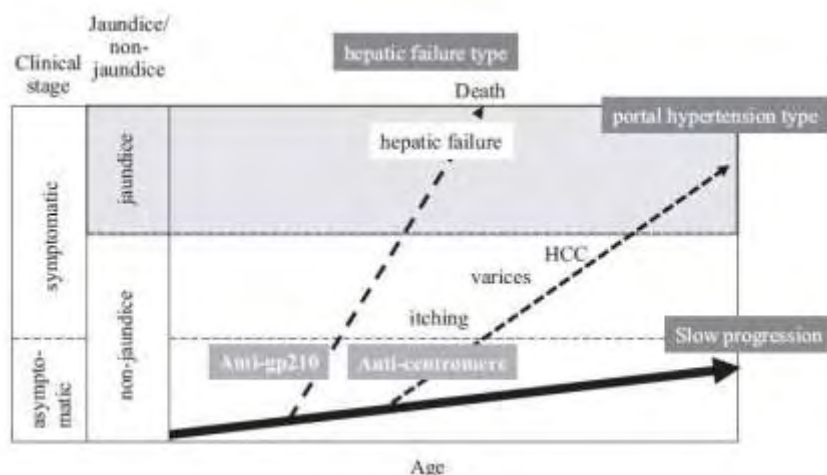
5. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΠΧΚ

Η έναρξη της συμπτωματολογίας συμβαίνει συνήθως μεταξύ των ηλικιών 30 και 65 (176, 177). Κόπωση και κνησμός είναι τα συνηθέστερα κυρίαρχα συμπτώματα, με την κόπωση να παρατηρείται σε ποσοστό ως και 78% των ασθενών (178). Οι ασθενείς σε ποσοστό 48 ως 60% μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί [(178, 179) και πίνακας 3].

Η φυσική ιστορία της νόσου συνοψίζεται στην εικόνα 15, αποτελούμενη από 4 αλληλοεπικαλυπτόμενα στάδια (προκλινικό, ασυμπτωματικό, συμπτωματικό, ηπατική ανεπάρκεια), ενώ 3 πρότυπα προόδου της νόσου (αργή εξέλιξη, εξέλιξη σε πυλαία υπέρταση, ταχεία εξέλιξη σε ηπατική ανεπάρκεια) έχουν περιγραφεί (εικόνα 16). Φαίνεται επίσης ότι οι ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ, οριζόμενη από επανηλλειμένη μέτρηση θετικών AMA σε τίτλο $> 1:40$, χωρίς βιοχημική δραστηριότητα ή συμπτώματα, πάσχουν όντως από ΠΧΚ, εντούτοις έχουν μια βραδέως εξελισσόμενη νόσο, με σπάνια εξέλιξη σε πυλαία υπέρταση ή κίρρωση (εικόνα 15).

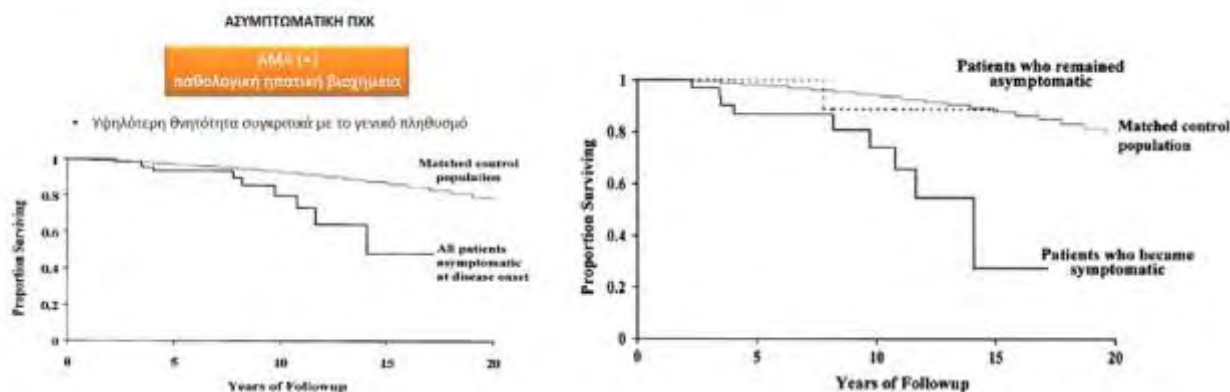


ΕΙΚΟΝΑ 15. (180, 181)
ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΠΧΚ

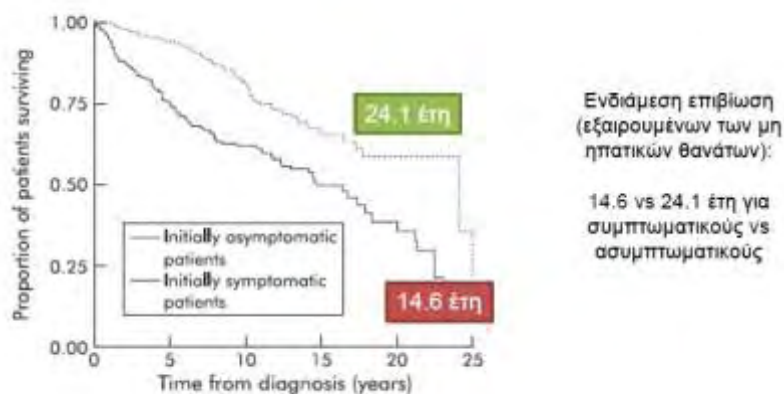


ΕΙΚΟΝΑ 16. (182)
ΠΡΟΤΥΠΑ ΠΡΟΟΔΟΥ ΤΗΣ ΠΧΚ

Η θνησιμότητα της ασυμπτωματικής ΠΧΚ με βιοχημική δραστηριότητα, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό και η συσχέτιση ασυμπτωματικής / συμπτωματικής νόσου με την επιβίωση παρουσιάζονται στην εικόνα 17.



A.



B.

ΕΙΚΟΝΑ 17.

17Α. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΘΝΗΤΟΤΗΤΑΣ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΗΣ ΠΧΚ ΜΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ, ΜΕ ΤΟΝ ΓΕΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ (183) ΚΑΙ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΑΝΑΠΤΥΣΣΟΥΝ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (184)

17Β. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ / ΜΗ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ (ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ) ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΧΚ (185)

Φαίνεται ότι ακόμα και οι ασυμπτωματικοί κατά τη διάγνωση ασθενείς έχουν υψηλότερη θνητότητα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό κατά την παρακολούθηση σε βάθος χρόνου, ενώ τόσο οι συμπτωματικοί κατά τη διάγνωση, όσο και αυτοί που αναπτύσσουν συμπτώματα στην πορεία της νόσου, έχουν μικρότερη επιβίωση σε σχέση με τους μη συμπτωματικούς (αν εξαιρεθούν οι μη ηπατικοί θάνατοι), μετά από παρακολούθηση σε βάθος χρόνου. Μόνο αυτών που παραμένουν ασυμπτωματικοί στην πορεία της νόσου, δεν επηρεάζεται τελικά η επιβίωση.

Ο κνησμός μπορεί να εκδηλωθεί για πρώτη φορά κατά την εγκυμοσύνη και μπορεί να εκληφθεί ως κνησμός της κύησης. Ωστόσο ο κνησμός της κύησης αποδράμει μετά τον τοκετό, ενώ στην περίπτωση της ΠΧΚ επιμένει και μετά τον τοκετό. Ο κνησμός στην ΠΧΚ, όπως και ο ίκτερος, σπάνια αποδράμει αυτόματα. Χειροτερεύει κατά τη διάρκεια της νύχτας, κατά την ένδυση με σφιχτά και τραχιά ρούχα, όταν το δέρμα είναι ξηρό και όταν ο καιρός είναι ζεστός και η ατμόσφαιρα με αυξημένη υγρασία. Πολλοί ασθενείς απευθύνονται σε δερματολόγους για τον κνησμό, μην αναγνωρίζοντάς τον ως επακόλουθο της χολόστασης. Η αιτιολογία του κνησμού είναι άγνωστη. Δεν οφείλεται στην κατακράτηση χολικών οξέων στο δέρμα (186), αλλά απαντά στη θεραπεία με παράγοντες που δεσμεύουν τα χολικά οξέα, όπως η χολεστυραμίνη. Αυξημένη συγκέντρωση των ενδογενών οπιοειδών καθώς και ρύθμιση προς τα πάνω του αριθμού των υποδοχέων των ενδογενών οπιοειδών έχουν προταθεί ως πιθανοί μηχανισμοί (187).

Οι δερματολογικές εκδηλώσεις αποτελούν σημαντικό και συχνά υποδιαγνωσμένο κομμάτι της νόσου, καθώς στο 1 / 3 των ασθενών αποτελούν το αίτιο προσέλευσης – αναζήτησης ιατρικής βοήθειας (188). Περιπτώσεις ασθενών με οζώδες ερύθημα και πορφύρα Henoch – Schonlein έχουν περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία (189, 190).

Ανεξήγητη δυσφορία δεξιού υποχονδρίου, στο 8% των ασθενών, έχει αναφερθεί σε μια μελέτη (191). Σε σπάνιες περιπτώσεις οι ασθενείς παρουσιάζονται με ευρήματα προχωρημένης νόσου, όπως αιμορραγία από κιρσούς οισοφάγου, ασκίτη ή ηπατική εγκεφαλοπάθεια (176, 192).

Τα ευρήματα κατά την κλινική εξέταση ποικίλουν, και εξαρτώνται από το στάδιο της νόσου. Έτσι σε ασυμπτωματικούς ασθενείς δεν έχουμε ευρήματα και το δέρμα είναι φυσιολογικό. Καθώς η νόσος προχωρά, δρυφάδες και εκδορές είναι συχνά ευρήματα. Τα ξανθώματα είναι εκδηλώσεις προχωρημένης νόσου (εικόνα 18). Εντυπωσιακή αύξηση του μεγέθους του ήπατος είναι συχνή, ακόμα και στους ασυμπτωματικούς ασθενείς, και αποτελεί πολύ συχνό εύρημα με την πρόοδο της νόσου, ευρισκόμενη τελικά περίπου στο 70% των ασθενών (177). Η σπληνομεγαλία απαντάται στο 35% των ασθενών κατά τη διάγνωση της νόσου, αλλά είναι πιο συχνή στα προχωρημένα στάδια. Ο ίκτερος είναι εκδήλωση προχωρημένης νόσου. Αραχνοειδείς τηλεαγγειεκτασίες, απώλεια μυϊκής μάζας, ασκίτης και οίδημα είναι επίσης εκδηλώσεις προχωρημένης νόσου / κίρρωσης του ήπατος. Ο δακτύλιος Kayser-Fleischer στους οφθαλμούς είναι πολύ όψιμη εκδήλωση, απότοκη της κατακράτησης χαλκού (193).

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ, ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΙ
-ΓΥΝΑΙΚΑ ΜΕΣΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΜΕ ΚΝΗΣΜΟ ΚΑΙ ΠΡΟΟΔΕΥΤΙΚΑ ΕΠΙΔΕΙΝΟΥΜΕΝΟ ΙΚΤΕΡΟ
-ΨΗΛΑΦΗΤΟ ΗΠΑΡ
-ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ ΟΡΟΥ x 2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ, ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ x 4 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ, ΑΜΙΝΟΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΕΣ x 2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ, ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΕΝΤΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
-ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΗΠΑΤΟΣ ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΓΙΑ ΕΣΤΙΑΚΗ ΒΛΑΒΗ / ΔΙΑΤΑΣΕΙΣ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ
-ΑΜΑ ΟΡΟΥ 1:40
-ΣΥΜΒΑΤΗ ΒΙΟΨΙΑ ΗΠΑΤΟΣ
-ΕΝΔΟΣΚΟΠΙΚΗ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΟΣ ΧΟΛΑΓΓΕΙΟΠΑΓΚΡΕΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (ΕΠΙ ΑΜΦΙΒΟΛΙΩΝ): ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΕΝΔΟΗΠΑΤΙΚΑ ΧΟΛΗΦΟΡΑ
ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΙ
-ΤΥΧΑΙΟ ΕΥΡΗΜΑ ΣΕ ΕΛΕΓΧΟ ΡΟΥΤΙΝΑΣ
-ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ ΟΡΟΥ
-ΘΕΤΙΚΑ ΑΜΑ
-ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΓΙΑ ΑΛΛΟ ΝΟΣΗΜΑ, ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ, Ή ΤΟΥ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΥΣ
-ΗΠΑΤΟΜΕΓΑΛΙΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. (194)

ΠΩΣ ΕΜΦΑΝΙΖΟΝΤΑΙ ΟΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ



ΕΙΚΟΝΑ 18.

ΞΑΝΘΕΛΑΣΜΑΤΑ ΒΛΕΦΑΡΩΝ ΚΑΙ ΞΑΝΘΩΜΑΤΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕ ΠΧΚ

6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ-ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑ-ΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

6.1 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

Η συγκέντρωση του ηπατικού κλάσματος της αλκαλικής φωσφατάσης είναι σταθερά αυξημένη, σε ασθενείς με ΠΧΚ, συχνά σε εντυπωσιακά επίπεδα. Το ένζυμο φτάνει σε τιμή plateau νωρίς κατά τη νόσο και ακολούθως αυξομειώνεται κατά 20% αυτής της τιμής (192). Τα επίπεδα της γ-γλουταμυλ-τρανσφεράσης είναι παράλληλα με αυτά της αλκαλικής φωσφατάσης. Τα επίπεδα των αμινοτρανσφερασών μπορεί να είναι φυσιολογικά ή ελαφρώς αυξημένα, σπάνια περισσότερο από 5 φορές της ανώτερης φυσιολογικής τιμής. Οι διακυμάνσεις τους είναι μικρές και δεν έχουν προγνωστική σημασία (195). Τα επίπεδα της χολερυθρίνης είναι συνήθως φυσιολογικά στα αρχικά στάδια της νόσου, αλλά αυξάνονται, τόσο το άμεσο, όσο και το έμμεσο κλάσμα της, στο 60% των ασθενών, η δε αύξησή τους αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο (196). Τα λιπίδια του ορού μπορεί να είναι εντυπωσιακά αυξημένα στην ΠΧΚ. Τα επίπεδα της χοληστερόλης είναι αυξημένα τουλάχιστο στο ήμισυ των ασθενών (176), και μπορεί να ξεπερνούν 1000 μιλιγραμμάρια ανά δεκατόλιτρο (mg/dl) σε ασθενείς με ξανθώματα (4, 197) (εικόνα 18). Ασθενείς σε πρώιμο στάδιο ΠΧΚ έχουν ήπιες αυξήσεις της χοληστερόλης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL-C) και της χοληστερόλης πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (VLDL-C) και σημαντικές αυξήσεις της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (HDL-C) (198) και αυτό δίνει εξήγηση για το μη αυξημένο κίνδυνο θανάτου από αθηροσκλήρωση παρά τις εντυπωσιακά αυξημένες τιμές χοληστερόλης (199). Άλλος προστατευτικός παράγοντας αποτελεί τα χαμηλά επίπεδα της λιποπρωτεΐνης (α) (Lp(a)), που αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο (200).

Οι ασθενείς με προχωρημένη νόσο έχουν εντυπωσιακά αυξημένα επίπεδα LDL-C, μειωμένα επίπεδα HDL-C και ανίχνευση λιποπρωτεΐνης X, μιας μη φυσιολογικής λιποπρωτεΐνης που παρατηρείται σε ασθενείς με χρόνια χολόσταση (201). Άλλες βιοχημικές ανωμαλίες περιλαμβάνουν τα αυξημένα επίπεδα σερουλοπλασμίνης ορού, εντυπωσιακή αύξηση των χολικών οξέων στον ορό (202) και αυξήσεις των επιπέδων υαλουρονικού οξέος (203). Τα αυξημένα επίπεδα υαλουρονικού οξέος συσχετίζονται με τα επίπεδα χολερυθρίνης ορού και με δυσμενέστερα ιστολογικά χαρακτηριστικά (203).

Περιφερική ηωσινοφιλία είναι ένα επιπλέον εργαστηριακό εύρημα της ΠΧΚ, που έχει ανευρεθεί σε ασυμπτωματικές γυναίκες, με ή χωρίς βιοχημική δραστηριότητα (204).

Τα κριτήρια διάγνωσης της ΠΧΚ περιλαμβάνουν: ανίχνευση AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αύξηση των χολοστατικών ενζύμων για την οποία έχει διερευνηθεί και αποκλειστεί άλλο αίτιο και συμβατή βιοψία ήπατος (205).

1)ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ
-ΥΨΗΛΗ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕΣΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ
-Η ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΕ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΠΟΥ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΑΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ ΕΙΝΑΙ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΗ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΣΤΗ ΧΩΡΑ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ
2)ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ
-ΚΟΚΚΙΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΩΝ ΣΤΑ ΔΙΗΘΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ
3)ΘΕΡΑΠΕΙΑ
-ΤΟ ΑΔΧΟ ΕΙΝΑΙ ΑΝΩΤΕΡΟ ΑΠΟ ΤΑ ΣΥΜΒΑΤΙΚΑ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ
4)ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ
-ΥΨΗΛΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ IgM ΚΑΙ IgG3
-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΤΑΞΗΣ IgG, IgM ΚΑΙ IgA ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ
-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΧΩΡΙΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ, ΕΝΑΝΤΙ 4 ΔΟΜΙΚΑ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΗΣ 2-ΚΕΤΟΞΙΚΗΣ ΔΕΪΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ
-ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΧΩΡΙΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ, ΕΝΑΝΤΙ ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ DNA
-ΑΥΤΟΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟ ΥΛΙΚΟ ΟΜΟΙΑΖΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΠΔ-E2, ΕΝΤΟΠΙΖΟΜΕΝΟ ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΩΝ ΧΟΛΗΦΟΡΩΝ ΠΟΡΩΝ, ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΧΚ

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. (206)
ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

6.2 ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ

Αναφορικά με τις ανοσολογικές διαταραχές στην ΠΧΚ, παρατηρούνται διαταραχές τόσο της χυμικής, όσο και της κυτταρικής ανοσίας (207, 208): αυξημένα επίπεδα ανοσοσφαιρινών ορού, ιδιαίτερα της IgM τάξης (209, 210), αδυναμία μετατροπής των IgM σε IgG αντισώματα μετά από εμβολιασμό (211), παρουσία πληθώρας κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων, αυξημένη ενεργοποίηση του συμπληρώματος (212), παρουσία ενεργοποιημένων B- και T-λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα (213), διαταραχή στη ρύθμιση των T-λεμφοκυττάρων (214), αρνητικές δερματικές δοκιμασίες επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας, κοκκιώματα στο ήπαρ, ή τους λεμφαδένες πέριξ του ήπατος και ιστολογικές αλλοιώσεις του ήπατος που μοιάζουν με αυτές που συμβαίνουν στα ηπατικά μοσχεύματα κατά τη διαδικασία της απόρριψης.

Η ανοσολογική απάντηση στην ΠΧΚ παρουσιάζει μια σειρά από ιδιαιτερότητες (πίνακας 4).

Συνύπαρξη της ΠΧΚ με άλλες ασθένειες αυτοανόσου αιτιοπαθογένειας είναι ιδιαίτερα συχνή

(πίνακας 5). Τα πιο συχνά αναφερόμενα συνυπάρχοντα νοσήματα είναι η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, η Δερματομυοσίτιδα, η Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού και ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (215).

6.3 ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Ανοσοφθορισμός (Immunoflorescence - IFL) είναι η κύρια τεχνική για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων για τα σχετιζόμενα με το ήπαρ νοσήματα. Η τεχνική είναι χωρίς ιδιαίτερες αλλαγές από την εισαγωγή της από τους Weller και Coons, το 1954 (216). Χρησιμοποιεί μη μονιμοποιημένες, αποξηραμένες στον αέρα, τομές ιστού που επωάζονται με τον υπό δοκιμή, πιθανά περιέχοντα κάποιο αυτοαντίσωμα, ορό. Αφού απομακρυνθεί ο μη συνδεδεμένος ορός, με ξέπλυμα, ένα σεσημασμένο με φθόριο, προερχόμενο από ζώα, και στρεφόμενο έναντι των ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών, δεύτερο αντίσωμα τίθεται, προκειμένου να ανιχνευτεί το πρώτο, συνδεδεμένο στους ιστούς, αντίσωμα (217). Συγκεκριμένα πρότυπα ανοσοφθορισμού προκύπτουν μετά από μελέτη με μικροσκόπιο που χρησιμοποιεί υπεριώδη ακτινοβολία.

Οι θέσεις κοινής αποδοχής, της επιτροπής για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων, της διεθνούς ομάδας για την Αυτοάνοση Ηπατίτιδα - International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG), το 2004, περιλαμβάνουν οδηγίες για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων σχετιζόμενων με την Αυτοάνοση Ηπατίτιδα. Συμπερασματικά αναφέρουν ότι έμμεσος ανοσοφθορισμός, σε τομές πολλών οργάνων (νεφρού, στομάχου, ήπατος) τρωκτικών (συνήθως αρουραίου), αποτελεί τη μέθοδο πρώτης γραμμής για τον ορολογικό έλεγχο των νοσημάτων του ήπατος. Επιπλέον, με την χρήση και των τριών υποστρωμάτων, είναι εφικτή η ταυτόχρονη ανίχνευση σχεδόν όλων των αυτοαντισωμάτων, για τα σχετιζόμενα με το ήπαρ νοσήματα (συγκεκριμένα των αντισωμάτων έναντι λείων μυϊκών ινών – smooth muscle antibodies SMA, των αντιπυρηνικών αντισωμάτων – anti-nuclear antibodies ANA, των μικροσωμιακών αντισωμάτων ήπατος / νεφρού τύπου 1 - liver / kidney microsomal antibodies type 1 anti-LKM1, των αντισωμάτων έναντι κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 – liver cytosol antibodies type 1 anti-LC1, και των AMA) (217).

6.3.1 ANTIMITOXONΔΡΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Όσων αφορά τα AMA στην ΠΧΚ, η πιθανή συσχέτιση τους με την αιτιοπαθογένεια της νόσου έχει συζητηθεί στις παραγράφους 1.2 και 1.3, με επιχειρήματα στη διεθνή βιβλιογραφία τόσο υπέρ όσο και εναντίον. Γεγονός είναι ότι τα αντισώματα αυτά θεωρούνται παθογνωμονικά για τη νόσο, ενώ υποδεικνύουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου στο άτομο στο οποίο ανιχνεύονται, ακόμα και αν είναι ασυμπτωματικός (218). Ανευρίσκονται στον ορό ασθενών με ΠΧΚ πολλά χρόνια πριν την έναρξη των συμπτωμάτων (219-221). Παρά ταύτα, ανιχνεύονται και σε ασθενείς με

άλλα νοσήματα, όπως το πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren, το σκληρόδερμα, η Αυτοάνοση Ηπατίτιδα (222-224) καθώς και σε λοιμώδη νοσήματα όπως η φυματίωση και η ιογενής ηπατίτιδα (225-227). Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι η επίπτωση των AMA σε συγγενείς α-βαθμού ασθενών με ΠΧΚ φτάνει το 18,8% (228), ή το 13,1% κατά άλλες μελέτες (229), συγκριτικά με μόλις 1% σε καλά σταθμισμένο δείγμα γενικού πληθυσμού, υπονοώντας αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στην παθογένεια της ΠΧΚ. Παλαιότερες μελέτες, από την παρακολούθηση 7-28 ετών, ορών ασθενών με ΠΧΚ, υποστήριζαν μη συσχέτιση του τίτλου των αντισωμάτων με τη βαρύτητα και την πρόοδο της νόσου, ενώ νεώτερες μελέτες συσχετίζουν την ανίχνευσή τους με τη βαρύτητα της νόσου (230). Επιπλέον όλες, πλην μίας (132), μελέτες δεν ανέδειξαν επίδραση στα επίπεδα των AMA από τις διάφορες θεραπείες (231, 232). Αντίθετα, χαμηλοί τίτλοι AMA ανιχνεύονται στο αίμα ασθενών ακόμα και 11 χρόνια μετά από μεταμόσχευση ήπατος (231).

Τα AMA είναι μη οργανοειδικά (non-organ specific, NOSA) αντισώματα και περιλαμβάνουν αντισώματα των IgA, IgG και IgM υποτάξεων. Δεδομένα από ασθενείς με ΠΧΚ υποδεικνύουν ότι η παρουσία AMA IgA στον ορό, ή στο σάλιο ασθενών με ΠΧΚ, μπορεί να συσχετίζεται με την πρόοδο της νόσου (233), και κάποιες μελέτες έδειξαν ότι οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις AMA IgA στις βλεννογονικές εκκρίσεις και στις εκκρίσεις των χοληφόρων και η συνεχής διακυτταρική μεταφορά αυτών, θα καθιστούσε τα εκτεθειμένα κύτταρα πιο ευάλωτα στην απόπτωση, με επακόλουθη βλάβη στους χοληφόρους πόρους (127). Άλλες υποθέσεις μιλούν για πιθανή μεταφορά AMA IgA στην αγγειακή πλευρά του κυττάρου του χοληφόρου πόρου, όπου μπορεί να επάγει απόπτωση επιδρώντας με μόρια που ομοιάζουν με το αντιγόνο PDC-E2, ευρισκόμενα στην εσωτερική κυτταρική μεμβράνη (234). Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι διαφορετικές υποτάξεις AMA IgG έχουν διαφορετική κλινική σημασία. Ασθενείς στους οποίους ανιχνεύονται AMA IgG3, έχουν ιστολογικά πιο προχωρημένη νόσο και είναι συχνότερα κιρρωτικοί από τους ασθενείς που είναι αρνητικοί για AMA IgG3, ενώ υπάρχει θετική συσχέτιση ανάμεσα στους τίτλους των AMA IgG3 και στη βαθμολογία κινδύνου της Mayo (Mayo risk score): αυτή η υποτάξη συσχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση, γεγονός που ερμηνεύεται από την ικανότητα της να επάγει διαμεσολαβητές που συσχετίζονται με ανοσολογική βλάβη (235).

Περαιτέρω μελέτες για τα AMA στην ΠΧΚ, έχουν ταυτοποιήσει την ομάδα της AMA-αρνητικής ΠΧΚ. Δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί αν αυτή η υποομάδα όντως υπάρχει, με ασθενείς που έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, ή αν πρόκειται για artifact, λόγω τεχνικών περιορισμών των μεθόδων που χρησιμοποιούμε για την ανίχνευση των AMA, που οδηγούν σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα σε ασθενείς με ΠΧΚ (236). Σύμφωνα πάντως με τα τρέχοντα δεδομένα, δεν ανευρίσκεται διαφορά ανάμεσα στους AMA αρνητικούς και AMA θετικούς ασθενείς, όσων αφορά τις κλινικές

εκδηλώσεις, το βιοχημικό προφίλ, τα ιστοπαθολογικά ευρήματα, την πορεία της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία (237-239). Με τη χρήση πιο ευαίσθητων και ειδικών ορολογικών δοκιμασιών, πολλοί ασθενείς, αρχικά θεωρούμενοι ως ‘AMA αρνητικοί’, τελικά ταυτοποιήθηκαν ως ‘AMA θετικοί’ (240-242), θέτοντας σε αμφισβήτηση την ύπαρξη της υποομάδας των ‘AMA αρνητικών’ ασθενών.

Η ευαισθησία των AMA στην ανίχνευση της PBC κυμαίνεται από 71,6 ως 85%, η ειδικότητα από 93,3 ως 97,8% και θετική προγνωστική αξία τους από 83,5 ως 94,7, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται στην ανίχνευσή τους (243). Κάποιες άλλες μελέτες ανεβάζουν την ευαισθησία στο 90-95%, ανάλογα και με τη μέθοδο ανίχνευσης που χρησιμοποιείται (244).

Prevalence of other autoimmune conditions in the PBC patient population: frequencies of presence of a suggestive history and probable/definite disease

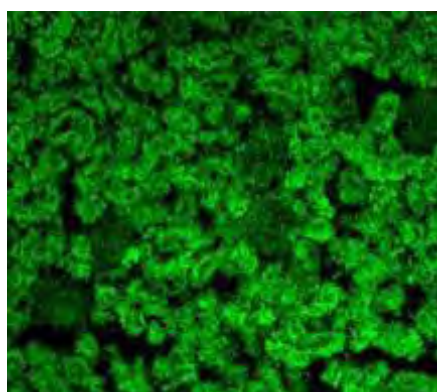
Condition	Definite cases	Probable cases	Total cases
Sjögren's syndrome	6 (4)	34 (21)	40 (25)
Autoimmune thyroid disease	31 (19)	6 (4)	37 (23)
Rheumatoid arthritis	21 (13)	6 (4)	27 (17)
Scleroderma	5 (3)	7 (5)	12 (8)
Raynaud's phenomenon	38 (24)	0	38 (24)
SLE	2 (1)	0	2 (1)
IDDM	0	0	0
Polymyositis	0	0	0
Myasthenia gravis	0	0	0
AITP	2 (1)	0	2 (1)
Pericious anaemia	6 (4)	0	6 (4)
Addison's disease	0	0	0
Celiac disease	0	0	0
All conditions	62 (39)	48 (30)	84 (53)

Multiple autoimmune diseases in PBC

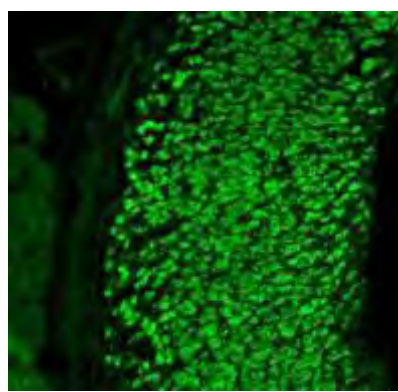
Diseases associated with PBC	Prevalence
RA + Sjögren's	8%
Thyroid + Sjögren's	6%
Scleroderma + Sjögren's	5%
Thyroid + scleroderma	3%
Scleroderma + RA	3%
Thyroid + PA	0.5%
RA + polymyositis	0%
Thyroid + polymyositis	0%
SLE + Sjögren's	0%
Thyroid + myasthenia gravis	0%

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. (245)

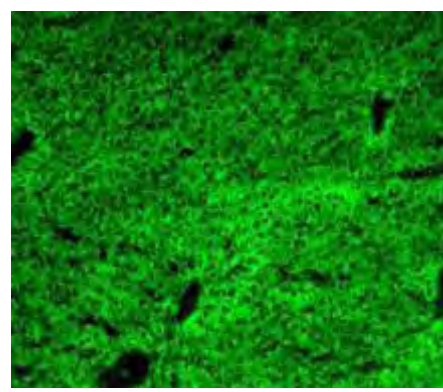
ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΑΛΛΩΝ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ ΔΕΛΟΜΕΝΑ ΣΕ ΑΡΙΘΜΟΥΣ (%). SLE: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟΣ ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΗΣ ΛΥΚΟΣ. IDDM: ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΕΞΑΡΤΩΜΕΝΟΣ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ. ΑΙΤΡ: ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΕΝΙΚΗ ΠΟΡΦΥΡΑ. RA: ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ



A.



B.



C.

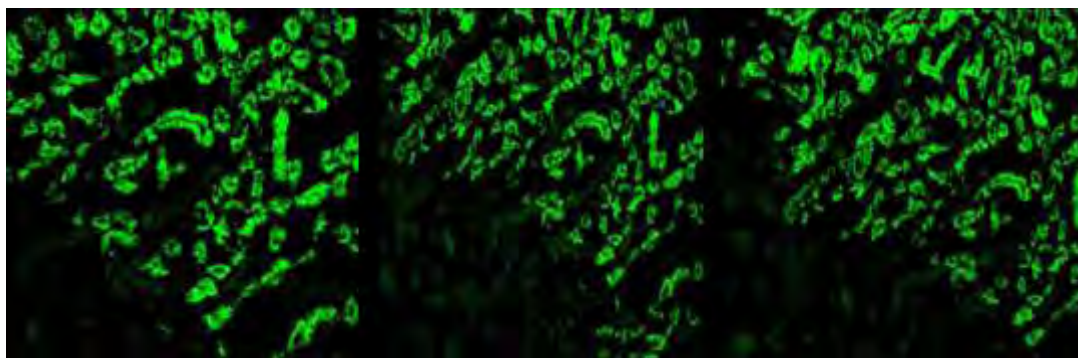
ΕΙΚΟΝΑ 19.

ΕΙΚΟΝΑ AMA ΜΕ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟ, ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

A. ΝΕΦΡΟΥ, ΟΠΟΥ ΤΑ ΣΩΛΗΝΑΡΙΑ ΠΡΟΣΛΑΜΒΑΝΟΥΝ, ΕΝΩ ΤΑ ΣΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΕΙΝΑΙ ΑΡΝΗΤΙΚΑ

B. ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΣΤΟΜΑΧΟΥ, ΠΟΥ ΕΠΙΣΗΣ ΠΡΟΣΛΑΜΒΑΝΟΥΝ

C. ΗΠΑΤΟΚΥΤΤΑΡΑ, ΜΕ ΟΜΟΙΟΓΕΝΗ ΦΘΟΡΙΣΜΟ

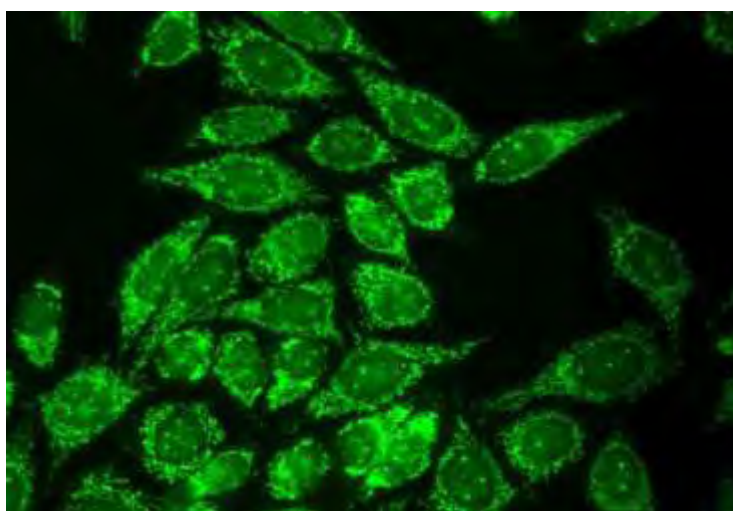


ΕΙΚΟΝΑ 20.
ΕΙΚΟΝΑ LKM1 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ, ΜΕ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟ, ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ ΝΕΦΡΟΥ

Ο IFL αποτελεί την κλασική μέθοδο αναφοράς για την ανίχνευση των AMA. Η διάχυτη κατανομή των μιτοχονδριακών αντιγόνων καθορίζει το τυπικό κοκκιώδη / τραχύ κυτταροπλασματικό φθορισμό στα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα, στα τοιχωματικά κύτταρα του στομάχου και στα ηπατοκύτταρα (εικόνα 19).

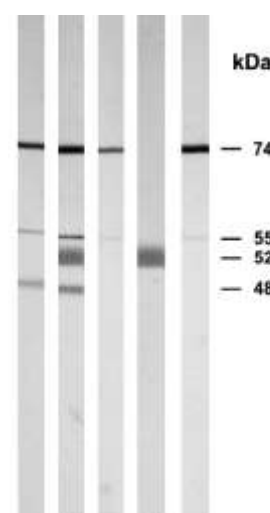
Υπάρχει ένα άλλο πρότυπο ανοσοφθορισμού, που συχνά συγχέεται με τα AMA, αυτό του LKM1 (εικόνα 20).

Η παρανόηση στην αναγνώριση των LKM1, μπορεί να έχει ιδιαίτερα σοβαρές διαγνωστικές και θεραπευτικές συνέπειες, καθώς αυτά αποτελούν ορολογικούς δείκτες της Αυτοάνοσου Ηπατίτιδας τύπου 2 (246), μιας ιδιαίτερα επιθετικής νόσου, που συχνά απαιτεί εντατική ανοσοκαταστολή (247, 248).



A

ΕΙΚΟΝΑ 21. (243)
Α.Ο ΤΡΑΧΥΣ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ, ΤΟ ΤΥΠΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΤΩΝ AMA ΣΤΑ HEP2 ΚΥΤΤΑΡΑ
Β.Η ΜΕΘΟΔΟΣ W-IB ΕΠΙΤΡΕΠΕΙ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟ ΤΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ AMA, ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΗΣ ΠΥΡΟΥΒΙΚΗΣ ΔΕΫΔΡΟΓΟΝΑΣΗΣ

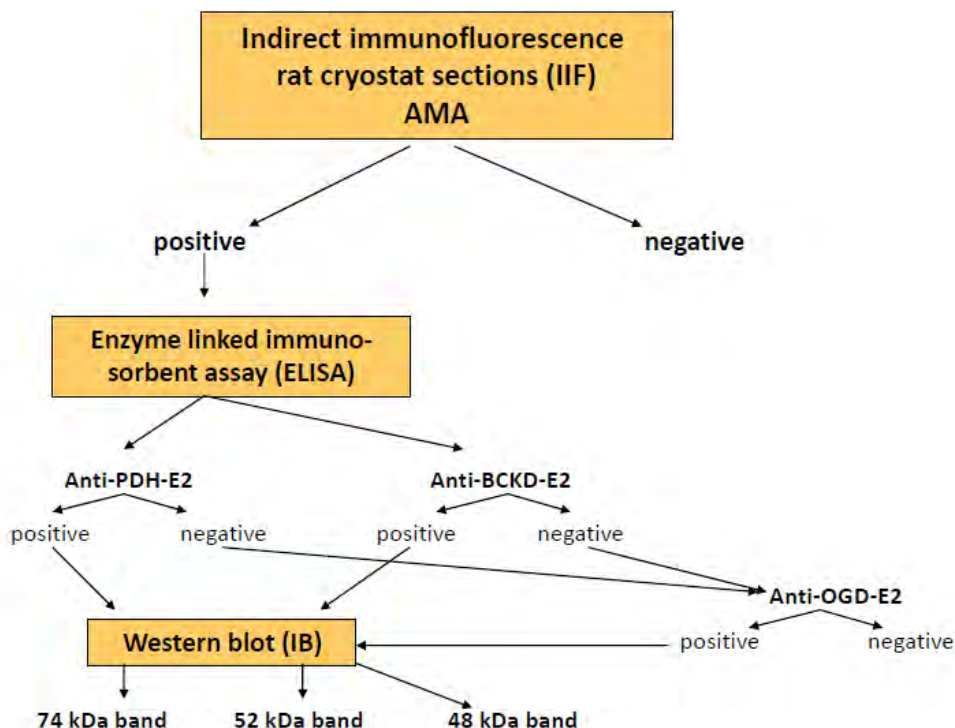


B

Οι κυτταρικές σειρές Hep2 (ανθρώπινων επιθηλιακών) κυττάρων, αποτελούν ένα επιπλέον υπόστρωμα για ανίχνευση AMA με IFL, με τους θετικούς για AMA ορούς να δίνουν έναν τραχύ κυτταροπλασματικό φθορισμό (εικόνα 21 Α). Επιπλέον ο IFL σε Hep2 κύτταρα επιτρέπει τη μορφολογική διάκριση των αντιπυρηνικών αντισωμάτων, τα οποία συχνά παρατηρούνται σε ασθενείς με ΠΧΚ (249, 250).

Ανοσοαποτύπωση κατά Western (Western Immunoblotting, W-IB), θεωρείται δεύτερης γραμμής μέθοδος, που μπορεί να επιβεβαιώσει την παρουσία AMA που ανιχνεύτηκαν με IFL, ή να αποκαλύψει τα AMA σε AMA-αρνητικούς με IFL ασθενείς, με δεδομένη τη μεγαλύτερη ευαισθησία W-IB έναντι IFL (236). Ομογενοποίημα βόειας καρδιάς ή καρδιάς χοίρου διαχωρίζεται με ηλεκτροφόρηση σε γέλη (gel) SDS-πολυακρυλαμίδης, και ακολούθως μεταφέρεται σε φίλτρα νιτροκυτταρίνης, όπου εξετάζεται με ορούς ασθενών με ΠΧΚ και ατόμων που ανήκουν στην ομάδα ελέγχου (εικόνα 21 Β) (251).

Για την ανίχνευση των AMA, στη διερεύνηση ασθενών με ηπατοπάθεια, έχουν προταθεί διαγνωστικοί αλγόριθμοι (εικόνα 22).



ΕΙΚΟΝΑ 22. (252)

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΑΛΓΟΡΙΘΜΟΣ ΣΤΗΝ ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ AMA, ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΠΧΚ

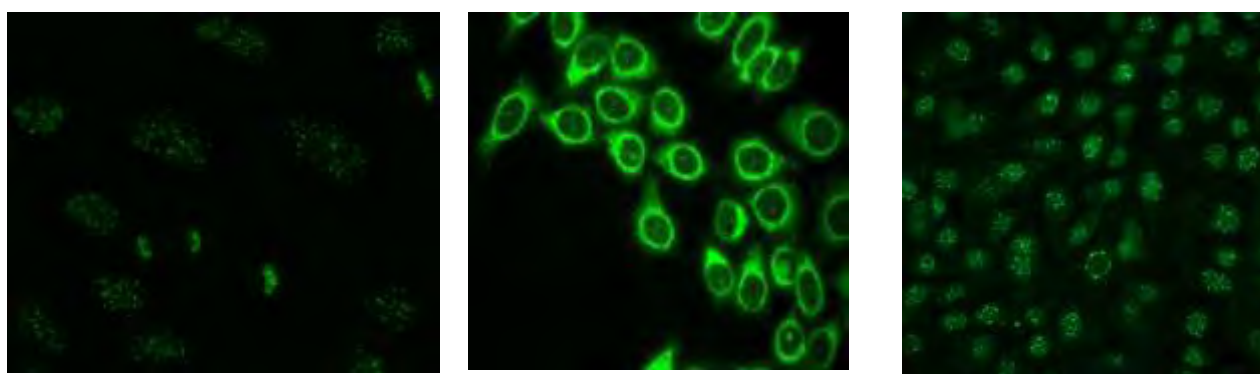
Ο προσδιορισμός και η κλωνοποίηση διαφορετικών μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, που ανιχνεύονται σε ορούς AMA-θετικών ασθενών, επέτρεψε την ανάπτυξη διαφόρων υποστρωμάτων με χρήση τεχνικών ELISA. Η τυποποίηση της μεθόδου στρέφεται στην χρήση κεκαθαρμένων (253) ή ανασυνδυασμένων (253, 254) μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Η πιο πρόσφατη εξέλιξη στην ανοσοδιάγνωση των AMA είναι η χρήση μιας Elisa, με ένα τριπλό MIT3 υβριδικό αντιγονικό συνδυασμό, από το εργαστήριο του Gershwin. Αυτός ο συνδυασμός περιέχει και τους τρεις κυρίαρχους αντιγονικούς επιτόπους PDC-E2, BCOADC-E2 και OGDC-E2 (196). Μολονότι αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι η χρήση διαγνωστικών μεθόδων, που χρησιμοποιούν το συνδυασμό αυτό, δίνει θετικά αποτελέσματα για ορούς ασθενών με ΠΧΚ που χαρακτηρίστηκαν αρνητικοί με τη συνηθισμένη τεχνική με IFL (220, 242), έλεγχος με IFL πρέπει να παραμείνει η πρώτη δοκιμασία διαλογής για τα AMA (255).

6.3.2 ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ (ANTI-NUCLEAR ANTIBODIES-ANA)

ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Στους ασθενείς με ΠΧΚ ανευρίσκονται ANA, εκ των οποίων κάποια δεν είναι ειδικά για τη νόσο (πίνακας 6).

Μια δεύτερη κατηγορία ANA στην ΠΧΚ είναι αυτά τα οποία είναι ειδικά για τη νόσο, με ειδικότητα > 95% (247). ANA ανευρίσκονται σχεδόν στο 50% των ασθενών με ΠΧΚ, ανεξάρτητα της παρουσίας AMA, και κοντά στο 85% των AMA αρνητικών ασθενών, καθιστώντας τα σημαντικό δείκτη, ιδιαίτερα γι' αυτή την κατηγορία ασθενών (256). Τα αντισώματα αυτά παρουσιάζουν 3 βασικά πρότυπα ανοσοφθορισμού σε υπόστρωμα Hep2 κυττάρων: το πρότυπο των



A.

B.

C.

ΕΙΚΟΝΑ 23. (243)

ΠΡΟΤΥΠΑ ANA, ΜΕ IFL, ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ HEP2 ΚΥΤΤΑΡΩΝ

A. ΤΑ ACA ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΕΥΔΙΑΚΡΙΤΑ ΚΟΚΚΙΑ, ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΟΥ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΜΕΤΑΦΑΣΗ, ΚΑΙ ΤΥΠΙΚΑ ΣΤΑ ΜΙΤΩΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. Ο ΣΤΙΚΤΟΣ ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΗ ΜΙΤΩΣΗ, ΞΕΧΩΡΙΖΕΙ ΕΥΔΙΑΚΡΙΤΑ ΤΑ ACA ΑΠΟ ΤΑ anti-MND

B. ΦΘΟΡΙΣΜΟΣ ΓΥΡΩ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ – RLM, ΠΟΥ ΕΜΦΑΝΙΖΕΤΑΙ ΩΣ ΕΝΑ ΛΕΠΤΟ ΔΑΚΤΥΛΙΑΙ ΓΥΡΩ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΙΚΟ ΦΑΚΕΛΟ.

C. ΤΑ anti-MND ΑΝΤΙΑΡΟΥΝ ΜΕ 5-20 ΠΥΡΗΝΙΚΕΣ ΚΗΛΙΔΕΣ, ΔΙΑΚΡΙΤΕΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΠΥΡΗΝΙΚΟ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΣΤΟΧΟΥΣ ΤΩΝ ACA

αντικεντρομεριδιακών αντισωμάτων - anticentromere antibodies (ACA), το πρότυπο των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων - anti-multiple nuclear dots (anti-MND) και το πρότυπο του περιπυρηνικού φθορισμού - rim like membrane (RLM), χαρακτηριστικό της ανοσοσήμενσης του πυρηνικού φακέλου - anti-nuclear envelope (εικόνα 23). Τα τρία αυτά πρότυπα συχνά συνυπάρχουν στον ίδιο ορό. Η ανίχνευσή τους έχει συσχετιστεί με τη βαρύτητα της νόσου (230).

6.3.2.1 ANTΙΚΕΝΤΡΟΜΕΡΙΔΙΑΚΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ - ANTICENTROMERE ANTIBODIES (ACA)

Η δραστηριότητα στα ACA κατευθύνεται έναντι ευδιάκριτων κοκκίων στα κύτταρα στη φάση της μετάφασης, και γι' αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανής στα κύτταρα που είναι σε μίτωση (257) (εικόνα 23 Α). Το αντιγόνο-στόχος των ACA στους ασθενείς με ΠΧΚ είναι η κεντρομεριδιακή πρωτεΐνη B (CENP-B) (258), μια πολυπρωτεΐνη 80-kd που αλληλεπιδρά με την κεντρομεριδιακή ετεροχρωματίνη των ανθρώπινων χρωμοσωμάτων. Τα ACA ανιχνεύονται σε ποσοστό περί του 30% των ασθενών με ΠΧΚ (258), αλλά και σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (Συστηματική Σκλήρυνση (259), εντοπισμένο σκληρόδερμα, πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren (π.Σ.Sjogren), συστηματικό ερυθματώδη λύκο (260-263)) με δραστηριότητα έναντι διαφορετικών, απ' ό,τι στην ΠΧΚ, υποτύπων κεντρομεριδιακών πρωτεϊνών (CENP-A, CENP-B, CENP-O) (264). Πρόσφατα αναδείχθηκε ότι η θετικότητα για ACA στην ΠΧΚ είναι σημαντικής προγνωστικής αξίας για πρόοδο της νόσου σε πυλαία υπέρταση (265, 266).

No.	Autoantibody	Autoantigen properties	Prevalence in PBC (%)	Clinical associations
ANA				
1.	Anti-chromatin	Chromatin	5.9-25.0	Anti-chromatin antibodies are reported to be associated with disease activity in APL, but their roles in PBC remains to be investigated.
2.	Anti-dsDNA	Double-stranded deoxyribonucleic acid	17.0-32.0	Anti-dsDNA antibodies are one of important criteria for the diagnosis of SLE. Co-existence of AMA and anti-dsDNA autoantibodies can be considered the serological profile of APL/PBC overlap syndrome.
3.	Anti-ssDNA	Single-stranded deoxyribonucleic acid	59.0-71.0	Anti-ssDNA antibodies can be detected in many diseases.
4.	Anti-histone	Histone	43.6	Anti-histone antibodies are generally considered to be related to drug-induced lupus, though it can be detected in many autoimmune diseases including PBC.
5.	Anti-ccp-70	Topoisomerase-1	3.0-24.0	Anti-ccp-70 antibody serves as a specific marker for diffuse SSC and presents in 30%-60% of subjects with diffuse SSC.
6.	Anti-Sm	Proteins of 28, 29, 16, 14.5, 18, and 12, 11, 6 kDa which participate in pre-messenger RNA processing into spliced mature mRNA	7.0-34.0	Anti-Sm autoantibodies are highly specific for SLE.
7.	Anti-SSA	Intracellular ribonucleoproteins of 60 and 52 kDa that are associated with small RNAs	5.0-30.0	Anti-Ro(SS-A) and anti-La(SS-B) antibodies are more frequently seen in SS and SLE. Their presence in PBC suggests that PBC often overlaps with SS.
8.	Anti-SSB	An intracellular ribonucleoprotein of 47 kDa that are associated with small RNAs	2.0-21.0	
9.	Anti-RNP	Ribonucleoprotein	3.0	More frequently seen in SLE.
10.	Anti-Jo-1	Histidyl tRNA synthetase	26.0	Anti-Jo-1 antibodies are predominantly detected in patients with myositis.
11.	Anti-U1RNP	U1snRNPs that contain specific proteins of 70, 39 and 20 kDa	3.1-5.0	Anti-U1snRNP antibodies predominantly present in SLE, and can be detected in PBC patients. The clinical significance of anti-U1snRNP antibodies in PBC is unknown.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. (244)

ΜΗ ΕΙΔΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΧΚ ΑΝΑ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΑΝΕΥΡΕΣΗΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ, ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ

6.3.2.2 ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΕΝΑΝΤΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ ΤΩΝ

ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ, *anti* – NUCLEAR PORE COMPLEX ANTIBODIES (gp210, p62)

Εκτός των AMA, αντιγόνα στον πυρήνα του κυττάρου έχουν αναγνωριστεί ως στόχοι αντιπυρηνικών αντισωμάτων, σε ασθενείς με ΠΧΚ, περιλαμβανομένων συστατικών του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων (nuclear pore complex - NPC), όπως οι πρωτεΐνες gp210 και p62. Τα αντισώματα αυτής της κατηγορίας έχουν περιφερικό πυρηνικό πρότυπο στις μελέτες ανοσοφθορισμού - (εικόνα 23 Β), όπως πρωτοαναφέρθηκε από τους Ruffatti et al (267), το 1985. Η συχνότητα των σχετιζόμενων με την ΠΧΚ αντισωμάτων έναντι του συμπλέγματος των πυρηνικών πόρων αναφέρεται από 16 ως 30% στις διάφορες μελέτες (256, 268), και έχει αυξηθεί σημαντικά με τη χρήση ειδικού, σεσημασμένου με ανοσοφθορισμό, αντιορού της υποτάξης IgG (269, 270). Στα 1990, μια μελέτη από τους Lassoued et al (271) έδειξε ότι αυτοαντισώματα από ασθενείς με ΠΧΚ, με ένα περιπυρηνικό πρότυπο στον ανοσοφθορισμό, αντιδρούν με μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος περί τα 200 kDa, που ταυτοποιήθηκε ως η μεμβρανική πρωτεΐνη του NPC gp210 (272). Η πρωτεΐνη gp210 είναι μια εσωτερική γλυκοπρωτεΐνη του NPC, που αποτελείται από 3 κύριες περιοχές: μια μεγάλη γλυκοζυλιωμένη επιφανειακή περιοχή, ένα μοναδικό υδρόφοβο διαμεμβρανικό τμήμα και ένα βραχύ κυτταροπλασματικό τμήμα. Τα αντισώματα αυτά αναγνωρίζονται περίπου στο 25% των ασθενών με ΠΧΚ (273). Ο επίτοπος στην πρωτεΐνη gp210 είναι μια αλυσίδα από 15 αμινοξέα, στην κυτταροπλασματική, καρβόξυ-τελική περιοχή της πρωτεΐνης. Η σημασία των αντισωμάτων αυτών, της κατηγορίας των ANA, είναι ότι πρόκειται για αντισώματα πολύ ειδικά για την ΠΧΚ (274, 275). Επιπλέον πολλές μελέτες συνδέουν την παρουσία αυτών των αντισωμάτων με κακή πρόγνωση. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την παρακολούθηση της θεραπείας με ΑΔΧΟ, και για την πρόιμη αναγνώριση ασθενών υψηλού κινδύνου για ηπατική ανεπάρκεια, επομένως ως προγνωστικός δείκτης στην ΠΧΚ (276, 277). Φαίνεται ότι τα αντισώματα αυτά έχουν την καλύτερη προγνωστική αξία για εξέλιξη σε τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια. Ο πιθανός μηχανισμός που εξηγεί αυτή την προγνωστική αξία συνιστάται στην υπόθεση ότι η κατάλυση της ανοσολογικής ανοχής έναντι μιτοχονδριακών αντιγόνων όπως το ΣΠΔ-E2 δεν είναι αρκετή για την εξέλιξη σε ηπατική ανεπάρκεια, ενώ η κατάλυση της ανοχής, μέσω μηχανισμών μοριακής μίμησης, έναντι πυρηνικών αντιγόνων, όπως το gp210 το οποίο έχει αυξημένη και διαταραγμένη έκφραση στους μικρούς χοληφόρους πόρους, μπορεί να παίζει κριτικό ρόλο (278).

Μερικά χρόνια μετά την ανακάλυψη των αντι-gp210 αντισωμάτων, διαπιστώθηκε, από κάποιες μελέτες, δραστικότητα ορού ασθενών με ΠΧΚ έναντι ενός συστατικού του NPC, μοριακού βάρους 60 kDa. Τα αντι-p62 αντισώματα δημιουργούν όπως και τα αντι-gp210 ένα περι-πυρηνικό πρότυπο φθορισμού στις μελέτες ανοσοφθορισμού - (εικόνα 23 Β). Πρωτοπεριγράφηκαν στα 1987 (250, 279, 280).

Η συχνότητά τους είναι παρόμοια με αυτή των αντι-grp210 (281), περί το 30-55%, και η ειδικότητά τους για την ΠΧΚ αγγίζει το 97%. Η παρουσία τους δε συσχετίζεται με την παρουσία AMA, συνδέεται όμως με την πρόοδο της νόσου. Δεδομένα από μια πολυκεντρική μελέτη υποδεικνύουν ότι τα αντισώματα αυτά μπορεί να συσχετίζονται με προχωρημένο στάδιο της νόσου (282, 283), και η επίπτωσή τους είναι πιο υψηλή σε συμπτωματικούς ασθενείς, με πιο σοβαρή νόσο (κίρρωση και επιπλοκές αυτής). Σε άλλες μελέτες, οι αντι-p62 θετικοί ασθενείς έχουν πιο υψηλά επίπεδα χολερυθρίνης και πιο εκτεταμένες φλεγμονώδεις διηθήσεις στη βιοψία ήπατος (268).

6.3.2.3 ANTISΩΜΑΤΑ ENANTI ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΦΑΚΕΛΟΥ, anti-NUCLEAR ENVELOPE ANTIBODIES (Lamin B receptor)

Ο πυρηνικός φάκελος είναι μια διπλής στιβάδας, μεμβρανική δομή, που μπορεί να διακριθεί σε 5 διακριτά συστατικά: την εσωτερική πυρηνική μεμβράνη, την εξωτερική πυρηνική μεμβράνη, το περιπυρηνικό διάστημα, τις περιοχές των πόρων και την υποκείμενη πυρηνική στιβάδα, που περιέχει τις λαμινίνες (lamins) του πυρήνα (284). Ένα απαλό μεμβρανικό πρότυπο ανοσοφθορισμού είναι χαρακτηριστικό της παρουσίας αντισωμάτων έναντι των πυρηνικών λαμινών, στους ασθενείς με ΠΧΚ. Τρεις υπότυποι των αντισωμάτων αυτών έχουν περιγραφεί: τα αντι-lamin A, B και C (283, 285-287). Τα αντισώματα αυτά δεν είναι ειδικά για την ΠΧΚ, καθώς ανευρίσκονται σε ασθενείς με διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως ο Συστ.Ερυθρηματώδης Λύκος και το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης (288-291), ανιχνεύονται δε σε ποσοστό 6 – 8% των ασθενών με ΠΧΚ. Συνήθως ανευρίσκονται και τα τρία ταυτόχρονα, και λιγότερο συχνά τα αντι-lamin B μόνα τους σε έναν ασθενή (292).

Ο υποδοχέας της λαμινίνης-B / Lamin B receptor (LBR) είναι μια δομική πρωτεΐνη της εσωτερικής πυρηνικής μεμβράνης, με μια κυτταροπλασματική αμινο-τελική περιοχή 208 αμινοξέων, και μια καρβοξυ-τελική περιοχή 8 διαμεμβρανικών τμημάτων. Τα αντισώματα έναντι του υποδοχέα αυτού (αντι- LBR αντισώματα) στην ΠΧΚ αναγνωρίζουν το κυτταροπλασματικό, αμινο-τελικό αλλά όχι την καρβοξυ-τελική περιοχή. Τα αντισώματα αυτά είναι απόλυτα ειδικά για την ΠΧΚ, αλλά η κλινική τους σημασία παραμένει αδιευκρίνιστη. Η επίπτωσή τους στην ΠΧΚ κυμαίνεται μεταξύ 2 – 6% (283, 293-295).

6.3.2.4 ANTISΩΜΑΤΑ ENANTI ΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΚΗΛΙΔΩΝ (SP100, PML, NDP52 ΚΑΙ SP140)

6.3.2.4.1 ANTI- SP100, NDP52 , SP140

Τα κυριότερα αντιγόνα που σχετίζονται με το πρότυπο των πυρηνικών κηλίδων (Nuclear dots – ND- (εικόνα 23 C) είναι: οι πρωτεΐνες sp100, οι οποίες ενεργοποιούν τη μεταγραφή και είναι

αυτοαντιγονικές κυρίως στους ασθενείς με ΠΧΚ και περιστασιακά σε ασθενείς με άλλα ρευματικά νοσήματα (296, 297), η πρωτεΐνη NDP52, της οικογένειας των πρωτεϊνών που συνδέονται με τη μυοσίνη VI, με συμμετοχή στη φυσική ανοσιακή απάντηση (298-300), οι πρωτεΐνες sp140, που πρόσφατα ταυτοποιήθηκαν ως αυτοαντιγονικές στους ασθενείς με ΠΧΚ (301), και η πρωτεΐνη της προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (PML) (εικόνα 24).

Οι πρωτεΐνες sp 100 και PML ανακαλύφθηκαν στα πλαίσια λευχαιμικής μετατροπής και ως αυτοαντιγόνα στην ΠΧΚ (302). Συχνά συνυπάρχουν στους ασθενείς με ΠΧΚ (296). Το αντιγόνο sp 100 περιγράφηκε από τους Szosteck et al (303) ως ένα πεπτίδιο με 480 αμινοξέα, με μια ανώμαλη ηλεκτροφορητική κινητικότητα στα 100 kDa και ένα υπολογιζόμενο μοριακό βάρος στα 53 kDa. Ακολούθως μελετήθηκε με συμπληρωματικές αλληλουχίες DNA, και η επακόλουθη αλληλουχία αμινοξέων είχε ομοιότητες με έκτοπες πρωτεΐνες του ιού HIV-1 (304, 305). Η επίπτωση των αντισωμάτων αυτών στην ΠΧΚ είναι στο 25% και είναι απόλυτα ειδικά για τη διάγνωση της ΠΧΚ, αλλά μόνο όταν άλλες ασθένειες έχουν αποκλειστεί και υπάρχει συμβατό κλινικό ιστορικό (249, 256). Η παρουσία τους θεωρείται ένας πολύ ειδικός ορολογικός δείκτης για τη διάγνωση της ΠΧΚ, ιδιαίτερα στους AMA αρνητικούς ασθενείς (306, 307). Τα πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι καθώς οι AMA αρνητικές ΠΧΚ μειώνονται σε ποσοστό λόγω της ανάπτυξης πιο ευαίσθητων και ειδικών ορολογικών δεικτών για τα AMA, τα sp 100 αντισώματα ανευρίσκονται πιο συχνά σε AMA θετικούς απ' ό,τι σε AMA αρνητικούς ασθενείς (307). Επιπλέον τα αντισώματα αυτά ανευρίσκονται σε μεγάλο αριθμό άλλων καταστάσεων, όπως ο ΣΕΛ και το π.Σ.Sjogren. Είναι αξιοσημείωτο ότι μεταξύ γυναικών με λοιμώξεις ουροποιητικού και χωρίς εγκατεστημένη ηπατική νόσο, 80% των AMA θετικών αλλά καμία από τις AMA αρνητικές γυναίκες ήταν επίσης θετικές για αντι – sp 100. Είναι επίσης καλά τεκμηριωμένο ότι μεταξύ ασθενών με ΠΧΚ, περί το 74% αυτών με λοιμώξεις ουροποιητικού ήταν θετικοί για αντι – sp 100, ενώ οι θετικοί για αντι – sp 100 μεταξύ αυτών που δεν είχαν ιστορικό λοιμώξεων ουροποιητικού ήταν μόλις 4,8% (308). Δεδομένης της υψηλής ειδικότητας των αντι – sp 100 αντισωμάτων για την ΠΧΚ, αυτά τα δεδομένα ενισχύουν την εμπλοκή λοιμώξεων από μικρόβια, όπως η E.Coli, στην παθογένεια της νόσου. Μείωση του τίτλου τους συσχετίστηκε με καλύτερη απάντηση στο ΑΔΧΟ και καλύτερη πρόγνωση (230).

Τα αντι – sp 140 αντισώματα ταυτοποιήθηκαν πρόσφατα στους ασθενείς με ΠΧΚ, από τους Granito et al (300). Είναι παρόντα στο 15% των ασθενών με ΠΧΚ και είναι πολύ ειδικά για την ΠΧΚ. Συχνά συνυπάρχουν με τα αντι – sp 140 και τα αντι – PML. Δεν έχει βρεθεί συσχέτιση αυτών των αντισωμάτων με κάποιο κλινικό χαρακτηριστικό της ΠΧΚ.



A.ΤΡΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΔΟΜΗ ΤΗΣ PML

6.3.2.4.2 ANTI- PML

ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΩΝ PML-NOYΚΛΕΟΣΩΜΑΤΙΩΝ (PML-NBs)

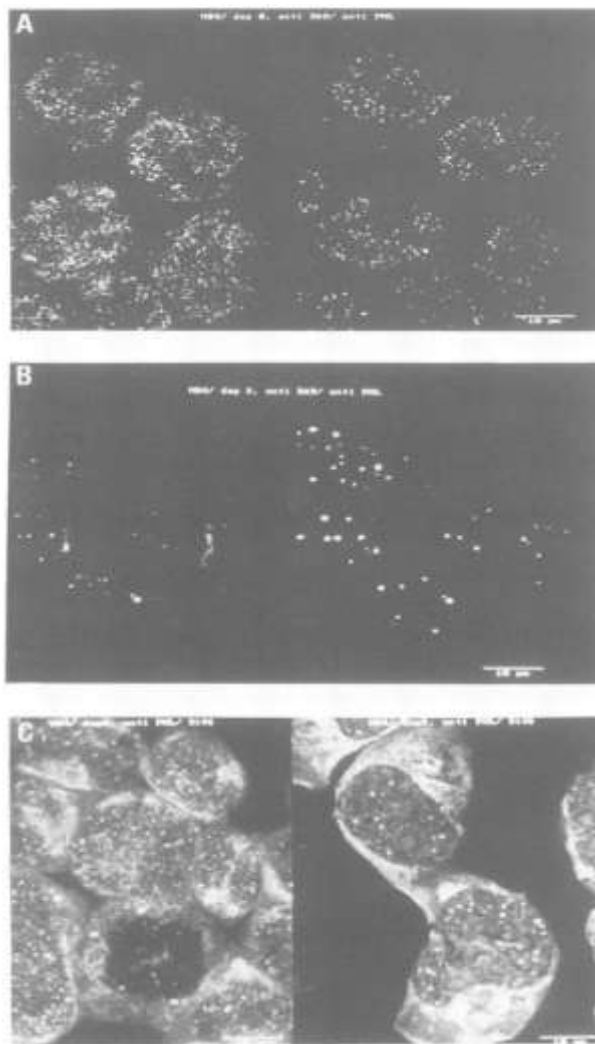
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
12/10/2023 12:16:28 EEST - 167.114.118.212

Μολονότι η μοριακή λειτουργία των PML-NBs δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμα, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα PML-NBs είναι ρυθμιστικές περιοχές που εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες, που περιλαμβάνουν την αποδόμηση πρωτεϊνών (313), τη ρύθμιση μεταγραφικών παραγόντων (318, 319), την κυτταρική αύξηση (320, 321), την απάντηση σε ιούς (322, 323), την κυτταρική γήρανση (324-327), την καταστολή της ογκογένεσης (328), την επιδιόρθωση του DNA (329, 330) και την απόπτωση (331-335). Είναι δύσκολο να εξηγήσει κανείς τις τόσες πολλές και διαφορετικές λειτουργίες αυτών των πυρηνικών δομών. Καθώς τα PML-NBs περιέχουν αρκετές δεκάδες λειτουργικά διαφορετικών πρωτεϊνών (εικόνα 25), σύμφωνα με τις τρέχουσες θεωρίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση αυτών των διαδικασιών, με το να ελέγχουν τη λειτουργία των πρωτεϊνών που περιέχουν, επιδρώντας στη μετα-μεταφραστική τροποποίησή τους και ρυθμίζοντας την ενδοκυττάρια κατανομή τους.

Μια από τις πιο σημαντικές πρωτεΐνες που εδράζονται στα PML-NBs είναι η πρωτεΐνη της Προμυελοκυτταρικής Λευχαιμίας (PML). Η πρωτεΐνη αυτή εμπλέκεται σε σημαντικές κυτταρικές διεργασίες όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η απάντηση σε βλάβες του DNA, οι λοιμώξεις από ιούς, η ρύθμιση μεταγραφικών παραγόντων και η απόπτωση. Η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη PML ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών που περιέχουν περιοχές RING (336, 337), και εκφράζεται σε τουλάχιστο 11 ισομερείς μορφές, που διαφέρουν ως προς τη λειτουργία και την ενδοκυττάρια εντόπιση (338). Έχει τη μορφή τριμερούς πρωτεΐνης (302, 339) - tripartite motif (TRIM). Το τριμερές αυτό πρότυπο περιλαμβάνει τρεις περιοχές δέσμευσης ψευδαργύρου, τις περιοχές RING, B-box τύπου 1, B-box τύπου 2, και μια περιοχή σπειροειδούς έλικας (coiled-coil) (317) (εικόνα 24). Η έκφρασή της εξαρτάται από τη φάση του κυτταρικού κύκλου, και ρυθμίζει την απάντηση της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53 σε ογκογόνα ερεθίσματα (317, 332) (εικόνα 26). Ανακαλύφθηκε στα κύτταρα ασθενών με Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία (ΟΠΜΛ), σαν πρωτεΐνη που συνδέεται με τον υποδοχέα α του ρετινοϊκού οξέος (Retinoic Acid Receptor α, RARα) (340). Πιο συγκεκριμένα, το γονίδιο της PML υφίσταται διαμετάθεση, μαζί με το γονίδιο του RARα.



ΕΙΚΟΝΑ 26. (317) ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ PML-NBs, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ PML, ΚΑΙ ΤΟΥ ΡΟΛΟΥ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ p53.



1

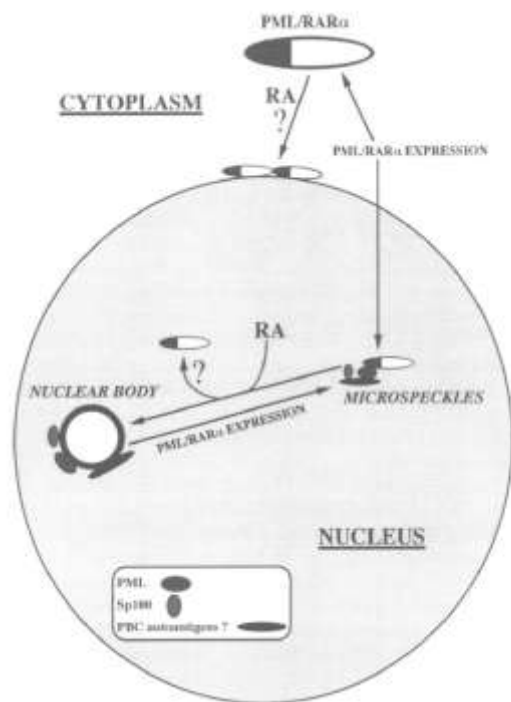
ΕΙΚΟΝΑ 27. (341)

1.ΟΜΟΕΣΤΙΑΚΗ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ NB4 ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΠΑΓΩΓΜΕΝΗ ΑΠΟ ΡΕΤΙΝΟΪΚΟ ΟΞΥ (RA) ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ
 1Α.ΚΥΤΤΑΡΑ ΧΩΡΙΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑ. ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ ΚΑΙ ΚΟΙΝΗ ΕΝΤΟΠΙΣΗ PML ΚΑΙ RARα, ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΟΚΚΙΩΔΗ ΜΟΡΦΗ ΣΗΜΑΝΣΗΣ
 1Β.ΜΕΤΑ ΤΡΕΙΣ ΜΕΡΕΣ ΑΓΩΓΗΣ ΜΕ RA. Η PML ΑΝΑΚΑΤΑΝΕΜΕΤΑΙ ΣΕ ΜΙΚΡΟ ΑΡΙΘΜΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΩΝ ΚΟΚΚΙΩΝ, ΕΝΩ Η ΣΗΜΑΝΣΗ ΤΟΥ RARα ΜΕΙΩΝΕΤΑΙ ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΣΕ ΕΝΤΑΣΗ, ΠΑΡΑΜΕΝΕΙ ΟΜΩΣ ΚΑΙ ΣΥΝΥΠΑΡΧΕΙ ΜΕ ΤΗΝ PML ΣΤΑ ΠΙΟ ΕΝΤΟΝΑ PML-ΚΟΚΚΙΑ
 1C.ΚΥΤΤΑΡΑ ΧΩΡΙΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΑ) ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ (ΔΕΞΙΑ) ΜΕ RA, ΜΕ ΧΡΩΣΗ anti-PML ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΧΡΩΣΗ DIO6. ΑΡΙΣΤΕΡΑ: ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΚΟΚΚΙΑ ΕΝΤΟΠΙΖΟΜΕΝΑ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ. ΔΕΞΙΑ: ΔΙΕΥΡΥΝΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΑ ΣΕ ΜΕΓΕΘΟΣ ΠΥΡΗΝΙΚΑ ΚΟΚΚΙΑ

2.ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΟ ΣΧΗΜΑ ΤΗΣ ΔΙΑΚΙΝΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΤΑ NBs ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ, ΣΤΗΝ ΟΠΜΑ

Η ΕΝΤΟΠΙΖΟΜΕΝΗ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ PML-RARα ΔΙΑΣΠΕΙΡΕΙ ΤΑ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ NBs ΑΝΤΙΓΟΝΑ, ΣΕ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΚΟΚΚΙΑ, ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΑΝΤΙΣΤΡΕΠΤΗ ΑΠΟ ΤΟ RA. ΕΝΤΟΥΤΟΙΣ ΤΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΗΣ PML-RARα ΕΙΝΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟ, ΚΑΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ ΤΟΥ ΠΥΡΗΝΑ ΥΠΟ ΤΗΝ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ RA. ΕΠΙΠΛΕΟΝ Η ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΕΝΤΟΠΙΣΗ PML, sp 100 ΚΑΙ ΑΥΤΟ-ΑΝΤΙΓΟΝΩΝ ΠΧΚ ΕΙΝΑΙ ΚΑΘΟΛΙΚΗ ΓΙΑ ΟΛΟ ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ, ΕΝΩ ΣΥΝΥΠΑΡΞΗ ΑΥΤΩΝ ΜΕ ΤΗΝ PML-RARα ΑΝΕΥΡΙΣΚΕΤΑΙ ΜΟΝΟ ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΜΕ ΤΗ ΜΟΡΦΗ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΩΝ ΚΟΚΚΙΩΝ.

2



Το αποτέλεσμα είναι η έκφραση των ανώμαλων πρωτεϊνών PML-RARα και RARα-PML (317, 342). Η έκφραση αυτών των πρωτεϊνών αποτελεί την υποκείμενη δύναμη που οδηγεί στην εκδήλωση της ΟΠΜΛ. Οι δυο καλύτερες θεραπείες της ΟΠΜΛ είναι ο φυσικός συνδέτης του RARα, ολο-trans ρετινοϊκό οξύ, all-trans retinoic acid (ATRA) και το τριοξείδιο του αρσενικού - arsenic trioxide (As_2O_3) (314, 340, 342). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στους ασθενείς με ΟΠΜΛ, η φυσιολογική εντόπιση της PML πρωτεΐνης εντός των PML-NBs διαταράσσεται (316),

και αποκαθίσταται μετά από τη χρήση των ανωτέρω θεραπευτικών αγωγών (309) (εικόνες 27.1 και 27.2). Επιπλέον, είναι χαρακτηριστικό ότι τα PML-NBs είναι απόντα σε κύτταρα πρωτευόντων PML - / - , αλλά ανασυστήνονται μετά την έκφραση εξωγενούς PML (8;14), γεγονός που υποδεικνύει ότι η PML είναι απαραίτητη για το σχηματισμό και τη διατήρηση της ακεραιότητας των PML-NBs (343-346).

Η συγκέντρωση της PML ρυθμίζεται ως απάντηση σε διάφορα κυτταρικά ερεθίσματα, που μπορούν να διακριθούν σε στάδια, όπως το μεταγραφικό, το μετα-μεταγραφικό και το μετα-μεταφραστικό. Τα στάδια αυτά δεν ελέγχουν μόνο τα επίπεδα της πρωτεΐνης, αλλά επιπλέον τροποποιήσεις της PML που είναι σημαντικές τόσο για τη δομή των PML-NBs, όσο και για την αλληλεπίδρασή τους με άλλες πρωτεΐνες.

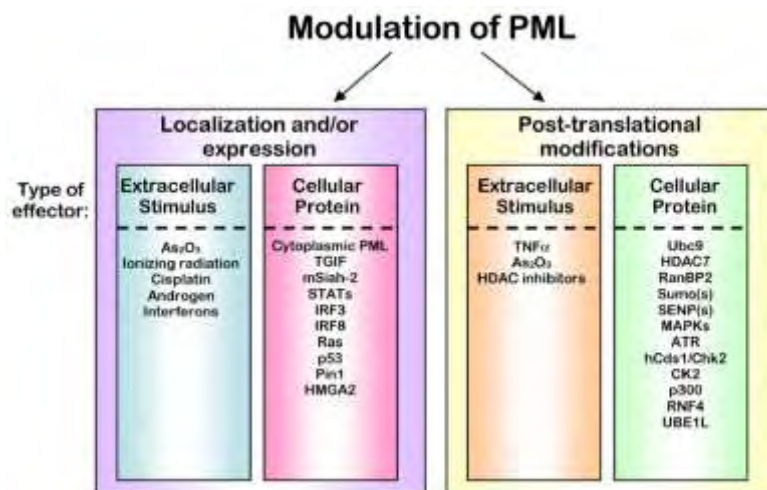
Μεταγραφικός έλεγχος της PML: Η μεταγραφική επαγωγή της PML είναι ένας σημαντικός μηχανισμός μέσω του οποίου εξωκυτάρια ερεθίσματα ενεργοποιούν απαντήσεις που αφορούν τα PML-NBs. Οι ιντερφερόνες (INFs) έχει δείχτει ότι ενεργοποιούν τη μεταγραφή PML, αυξάνοντας τα επίπεδα της πρωτεΐνης, το μέγεθος και τον αριθμό των PML-NBs (347). Αυτό ισχύει τόσο για την INF τύπου I όσο και για τις INF τύπου II (α , β , γ). Επιπλέον έχει δείχτει ότι μπορούν να επάγουν την έκφραση της ανώμαλης ογκογόνου πρωτεΐνης PML-RAR α (20;21). Κάποιοι ενδογενείς παράγοντες, από την άλλη μεριά, μπορούν επίσης να επάγουν την προς τα πάνω μεταγραφική ρύθμιση της PML, όπως η πρωτεΐνη p53 (326) και το ογκογονίδιο Ras (348-350), με ταυτόχρονη αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των PML-NBs.

Έλεγχος της PML μέσω εναλλακτικής συνένωσης των εξονίων: Η έκφραση της PML ρυθμίζεται από τον τύπο του κυττάρου ή του ιστού και από το στάδιο διαφοροποίησης του κυττάρου (338). Αυτό γίνεται μέσω διαφορετικών τρόπων συνένωσης των εξονίων, που οδηγεί σε τουλάχιστο 11 διαφορετικά ισομερή της πρωτεΐνης (316, 317). Το γονίδιο της PML αποτελείται από 53.000 βάσεις στη χρωμοσωμική θέση 15q22, που συνθέτουν 9 εξόνια. Διαφορετική συνένωση των καρβοξυ-τελικών άκρων, οδηγεί σε διαφορετικά ισομερή (338) (εικόνα 24 B). Όλα τα ισομερή διατηρούν το πρότυπο RBCC, στο αμινο-τελικό μισό της πρωτεΐνης, που περιλαμβάνει τις περιοχές RING, τις δυο περιοχές B-Boxes και την περιοχή coiled-coil (351). Η διαδικασία αυτή είναι πολύ σημαντική για τον πολυμερισμό των ισομερών της PML, και για την αλληλεπίδραση με τις άλλες πρωτεΐνες. Υπάρχουν διαφορετικά πυρηνικά και κυτταροπλασματικά ισομερή, με τα πυρηνικά να έχουν την αλληλουχία NLS στο εξόνιο 6 (εικόνα 24 B).

Έλεγχος της PML μέσω της ενδοκυττάριας εντόπισης της πρωτεΐνης: Η εντοπιση της πρωτεΐνης, είτε στον πυρήνα, είτε στο κυτταρόπλασμα, παίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στον καθορισμό της λειτουργίας της (εικόνα 28). Τα κυτταροπλασματικά ισομερή ρυθμίζουν τόσο τις συγκεντρώσεις της PML στον πυρήνα, όσο και τις λειτουργίες της πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα.

Αυτό γίνεται μέσω διαφόρων οδών, όπως η πρωτεΐνη p53, και το σηματοδοτικό μονοπάτι TGFβ, μέσω των ρυθμιστικών του σημάτων Smad2/3 και SARA (352-354). Η μελέτη αυτού του μηχανισμού ρύθμισης μπορεί να αποδώσει νέες θεραπευτικές παρεμβάσεις στο χειρισμό της PML.

Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της PML: Οι τροποποιήσεις αυτές περιλαμβάνουν τη μετατροπή από τις πρωτεΐνες Sumo (Small Ubiquitin-like MOdifier), τη φωσφορυλίωση, την αποκοπή, την ακετυλίωση και την πρόσδεση με το πεπτίδιο ISG15, και επιδρούν στα επίπεδα και τη δραστηριότητα της πρωτεΐνης (εικόνα 28). Η PML μπορεί να υποστεί αλλαγές από τη δράση πρωτεϊνών γνωστών ως Sumo-1 και Sumo-2/3, στη λησίνη των θέσεων 65, 160 και 490 (355). Αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να έχουν διάφορες συνέπειες για την πρωτεΐνη, όπως τοποθέτηση στον πυρήνα, από τη Sumo-3 (356), ή αυξημένη σύνθεση PML-NBs, από τη Sumo-1 (357-359). Η αποκοπή από την άλλη μεριά είναι διαφορετική μετα-μεταφραστική τροποποίηση, που επάγεται από άλλα πεπτίδια (ubiquitin E3 ligase, RNF4) και είναι απαραίτητη για την επαγόμενη από το As₂O₃ διάσπαση της PML (360) (εικόνα 27). Η φωσφορυλίωση είναι μια ακόμα πολύ σημαντική μετα-μεταφραστική τροποποίηση της PML, η οποία φωσφορυλιώνεται κατά την απάντηση του κυττάρου σε τοξικούς παράγοντες όπως η δοξορουμπικίνη (λόγω της βλάβης του DNA)(361) και η γ-ακτινοβολία (για την επαγωγή της απόπτωσης) (362). Επιπλέον η ογκοκατασταλτική δράση της PML φαίνεται να είναι εξαρτημένη από τη φωσφορυλίωση (363, 364). Η πρόσδεση με το πεπτίδιο ISG15 είναι μια ακόμα τροποποίηση της PML, που σχετίζεται με την αλληλεπίδραση με άλλες πρω-



ΕΙΚΟΝΑ 28. (309)

ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ PML

Η ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ PML ΤΕΛΙΚΑ ΕΛΕΓΧΕΤΑΙ ΤΟΣΟ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΝΔΟΚΥΤΤΑΡΙΑ ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΟ ΚΑΙ ΑΠΟ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΗΣ. ΑΥΤΑ ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΚΑΘΟΡΙΖΟΝΤΑΙ ΕΙΤΕ ΑΜΕΣΑ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ Ή ΚΑΙ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΗ ΣΤΗΛΗ), ΕΙΤΕ ΕΜΜΕΣΑ, ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΠΟΥ ΟΔΗΓΟΥΝ ΣΕ ΕΠΑΚΟΛΟΥΘΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΗΣ (ΔΕΞΙΑ ΣΤΗΛΗ). ΤΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΑΥΤΕΣ ΕΙΝΑΙ ΕΙΤΕ ΕΞΟΚΥΤΤΑΡΙΑ ΕΙΤΕ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕ ΑΛΛΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ.

τεΐνες (365). Η πρόσδεση του πεπτιδίου αυτού με την PML-RARα μειώνει τη συγκέντρωση αυτής (366). Ένας τελευταίος μηχανισμός μετα-μεταφραστικής τροποποίησης, είναι η ακετυλίωση, η οποία φαίνεται να σχετίζεται με εξαρτώμενους από την PML οδούς κυτταρικού θανάτου (366).

Η PML υφίσταται τροποποίηση από πολλούς ιούς ως προς τα επίπεδα, την εντόπιση και τη λειτουργία (πίνακας 7). Χρησιμοποιούν μηχανισμούς προκειμένου να προάγουν την ιική αντιγραφή, και επιδρούν κυρίως στη μετατροπή της PML από τις πρωτεΐνες Sumo, όπως συμβαίνει με τους ιούς ερπητοϊό τύπου I (HSV-1), και κυτταρομεγαλοϊό (CMV) (367-369), τον αδενοϊό τύπου 5. Απαιτείται καταστολή της πρωτεΐνης, προκειμένου να επιτευχθεί λοίμωξη και επιβίωση των ιών αυτών. Άλλοι ιοί κάνουν ανακατανομή της πρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα, όπως ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) (370) και ο ιός της λεμφοκυτταρικής χοριομηνιγγίτιδας (LCMV). Άλλοι ιοί σταθεροποιούν ή αυξάνουν τα επίπεδα της PML, όπως ο ιός των ανθρωπινών θηλωμάτων (HPV) (371) και ο ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 6B (HHV-6B) (372). Συμπερασματικά, η επίδραση ιών στην PML είναι απαραίτητη για την επιβίωση των ιών, και επιτυγχάνεται μέσω πολλαπλών μηχανισμών.

Ρύθμιση της PML στην ογκογένεση. Η PML δρά ως ισχυρή ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη, όχι μόνο στην ΟΠΜΛ, αλλά και σε πολλές άλλες νεοπλασίες. Σε μοντέλα καρκινογένεσης, οι PML +/- αρουραίοι αναπτύσσονται ομαλά, αλλά είναι επιρρεπείς στο να αναπτύξουν όγκους (373). Η ικανότητα αυτή της PML πιθανά να οφείλεται στη δυνατότητά της να επάγει την απόπτωση, μέσω ενδογενών και εξωγενών οδών (317, 374) (εικόνα 29, πίνακας 8). Αλλαγές στη θέση, τα επίπεδα και

Viral Proteins	Effect on PML
IE1, human cytomegalovirus	Promotes de-sumoylation of PML
ICP0, herpes simplex virus, type I	Promotes PML degradation, alternative splicing, enriches cytoplasmic PML
ORF75c, murine gammaherpesvirus 68	Promotes PML degradation
E4orf3, adenovirus type 5	Disrupts PML NBs
Core protein, hepatitis C virus	Interacts with and sequesters PML
E7, human papilloma virus	Interacts with PML
7, human papilloma virus	Increases PML NB number
7, human herpes virus 6B	Increases PML expression, decreases PML NB number
Pre-integration complex, human immunodeficiency virus	Promotes redistribution of PML to the cytoplasm
Z protein, lymphocytic choriomeningitis virus	Promotes redistribution of PML to the cytoplasm
EBNA-1, Epstein-barr virus	Promotes PML degradation, disrupts PML NBs

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. (309)

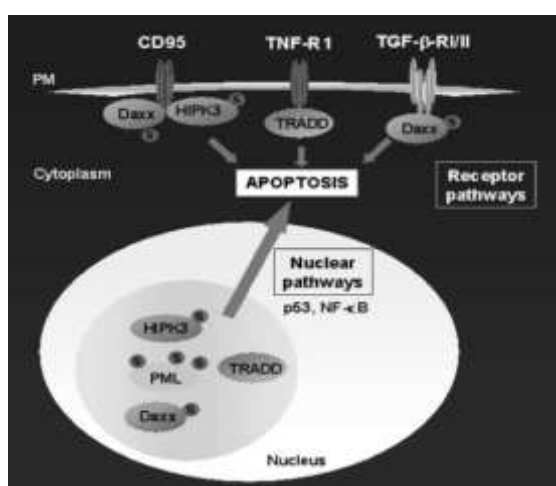
ΙΟΙ ΚΑΙ PML

ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (ΑΡΙΣΤΕΡΗ ΣΤΗΛΗ) ΚΑΙ Ο ΤΡΟΠΟΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ PML (ΔΕΞΙΑ ΣΤΗΛΗ)

τη λειτουργικότητα της PML πιθανά να είναι εξίσου σημαντικοί παράγοντες στην αντι-ογκογόνο δράση της. Η έκφρασή της είναι εξαιρετικά μειωμένη σε κυτταροκαλλιέργειες από κυτταρικές σειρές διαφόρων συμπαγών όγκων (375). Αντίθετα και με ότι συμβαίνει στην ΟΠΜΛ, στη Χρόνια Μυελογενή Λευχαιμία, μια άλλη αιματολογική κακοήθεια, η μεταγραφή και έκφραση της PML ρυθμίζεται προς τα πάνω (376). Για την αποσαφήνιση του ρόλου της στην ογκογένεση απαιτούνται περισσότερες μελέτες.

Συμπερασματικά η μελέτη του τρόπου ρύθμισης της πρωτεΐνης PML είναι πολύ σημαντική, προκειμένου να διαλευκανθεί ο ακριβής ρόλος της στη λειτουργία του κυττάρου και τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Η πρωτεΐνη ρυθμίζεται από πολλούς ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, που επιδρούν στα διάφορα στάδια σχηματισμού της πρωτεΐνης, με τελικό αποτέλεσμα την απόπτωση ή επιβίωση του κυττάρου και τη συμμετοχή του σε γεγονότα όπως η ογκογένεση (εικόνα 30).

Στους ασθενείς με ΠΧΚ ανιχνεύονται αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης PML (anti-PML), σε ποσοστό περί το 19% (339) ή 13,5% κατά άλλες μελέτες (377). Σε υπόστρωμα IFL, τα anti-PML παρουσιάζουν πρότυπο πυρηνικών κηλίδων (ND) (εικόνα 23 C). Τα αντισώματα αυτά συνυπάρχουν και εντοπίζονται από κοινού με τα anti-sp 100 τόσο στο εσωτερικό των PML-NBs (εικόνα 31) όσο και στον ορό ασθενών με ΠΧΚ (302). Συγκεκριμένα, ποσοστό περί το 58% των anti-ND θετικών ΠΧΚ ασθενών, αναπτύσσουν ταυτόχρονη αυτοάνοση απάντηση και για τις δυο πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες είναι συν-αυτοαντιγονικές (302), τροποποιούνται ομοιόμορφα από τις πρωτεΐνες PIC1/SUMO (378), επάγονται και οι δύο από τις ιντερφερόνες (295, 345, 379) και τροποποιούνται ταυτόχρονα από πρωτεΐνες διαφόρων ιών (309, 380). Τα αντισώματα αντι-PML είναι πολύ ειδικά για την ΠΧΚ, ιδιαίτερα στους AMA αρνητικούς ασθενείς (381).



ΕΙΚΟΝΑ 29. (317)

ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΔΕΙΚΝΟΝΤΑΣ ΤΟΝ ΡΟΛΟ ΤΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ PML-NBs, ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ PML ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ, ΣΤΑ ΕΠΑΓΩΜΕΝΑ ΑΠΟ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΟΥΣ ΚΑΙ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥΣ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΜΟΝΟΠΑΤΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

PML-NB-associated proteins and their function in different apoptosis pathways

Apoptosis pathway		Interaction partners	
PML	CD95, TNF-R1, ceramide, p53	p53	Daxx, CBP, hSir2
Daxx	CD95, TGF-β-R1, nuclear	CD95	TGF-β-R1, PML, CBP, HIPK2
TRADD	TNF-R1, nuclear	TNF-R1	HIPK2, TRADD, CD95
HIPK2	p53	p53	CBP, Daxx, TRADD, CD95
p53	p53	CBP	Hdm2, PML, HIPK2, hSir2
CBP	p53	p53	HIPK2, Daxx
hSir2	p53	p53	PML
Hdm2	p53	p53	
HIPK3	Unknown	CD95	

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. (317)

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΤΩΝ PML-NBs ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ, ΚΑΙ ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΜΕ ΤΙΣ ΟΠΟΙΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΟΥΝ ΕΠΙΣΗΜΑΙΝΕΤΑΙ Η ΠΡΩΤΕΪΝΗ PML

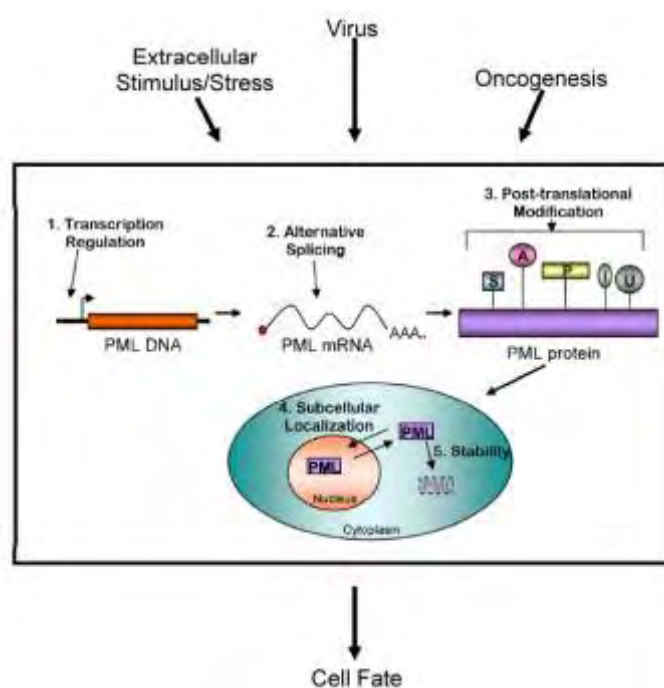
Ανοσοϊστοχημική χρώση τομών, εκτός από την ΟΠΜΛ (εικόνα 32) (382, 383), έχει γίνει και στη χρόνια νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή chronic graft-versus-host disease (GVHD) (384).

6.3.3 ΑΛΛΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Ένας μεγάλος αριθμός άλλων αυτοαντισωμάτων, έναντι πυρηνικών, κυτταροπλασματικών αντιγόνων, κυτταρικών μεμβρανών και λιπιδικών συστατικών, έχει ανιχνευθεί στην ΠΧΚ. Τα περισσότερα από αυτά σχετίζονται με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (πίνακας 9).

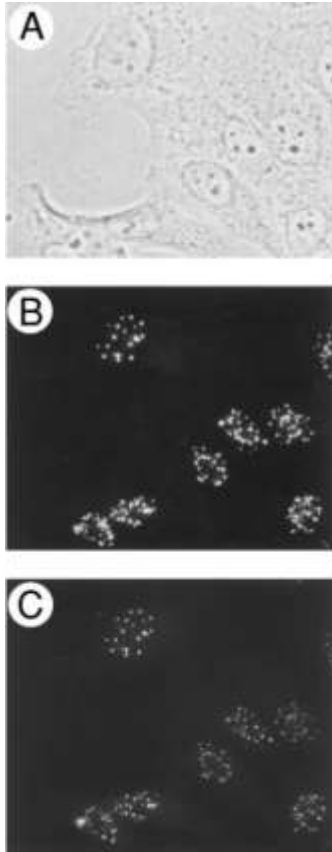
7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΠΧΚ

Το ΑΔΧΟ (13–15 mg/κilo/ημέρα) αποτελεί τη θεραπεία εκλογής για την ΠΧΚ, βάσει των αποτελεσμάτων διπλών-τυφλών τυχαιοποιημένων μελετών, ακόμα και στην ασυμπτωματική νόσο. Ως εκ τούτου η χορήγησή του συστήνεται απόλυτα (ένδειξη βαθμού I), σε μακροχρόνια βάση (με χαμηλότερο όμως, II-2, βαθμό ισχυρότητας της σύστασης) (205). Πολλά άλλα φάρμακα έχουν δοκιμαστεί (πίνακας 10), με φτωχά αποτελέσματα, εκτός από τα κορτικοστεροειδή, που σε συνδυα-



ΕΙΚΟΝΑ 30. (309)

Η ΚΑΤΑ ΣΤΑΔΙΑ, ΕΠΗΡΕΑΖΟΜΕΝΗ ΑΠΟ ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ, ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ PML, ΜΕ ΤΕΛΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΟΥ



ΕΙΚΟΝΑ 31. (339)
ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ PML ΚΑΙ sp 100
ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ ΚΥΤΤΑΤΩΝ HeLaS3
A.ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΗΣΗ ΔΙΠΛΗΣ ΑΝΤΙΘΕΣΗΣ
B.IFL ΜΕ anti-SP 100 ΑΝΤΙΟΡΟ ΚΟΝΙΚΑΛΟΥ ΚΑΙ
C.IFL ΜΕ anti-PML ΑΝΤΙΟΡΟ ΑΡΟΥΡΑΙΟΥ, ΥΠΟΔΕΙ-
ΚΝΥΕΙ ΤΗΝ ΑΠΟΛΥΤΑ ΤΑΥΤΟΣΗΜΗ ΕΝΤΟΠΙΣΗ ΤΩΝ
ΔΥΟ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΜΕ ΠΥΡΗΝΙΚΕΣ ΚΗΛΙΔΕΣ,
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ, ΣΤΟΝ ΠΥΡΗΝΑ

σμό με το ΑΔΧΟ βοηθούν στις ανθεκτικές περιπτώσεις (205). Στην προχωρημένη νόσο [όταν η χολερυθρίνη ορού ξεπεράσει τα 6 mg/dl ή υπάρχει μη αντιρροπούμενη κίρρωση με κακή ποιότητα ζωής και τις επιπλοκές αυτής (ηπατική εγκεφαλοπάθεια, αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, ανθεκτικός ασκίτης, ηπάτωμα, υποτροπιάζουσες κηρορραγίες) ο ασθενής πρέπει να οδηγείται σε μεταμόσχευση ήπατος.

8. ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ / ΜΟΝΤΕΛΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

Συγκεκριμένοι προγνωστικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται, και διάφορα προγνωστικά μοντέλα έχουν αναπτυχθεί για την ΠΧΚ (πίνακας 11).

Autoantibody	Autoantigen properties	Prevalence in PBC (%)	Clinical associations	Autoantibody	Autoantigen properties	Prevalence in PBC (%)	Clinical associations		
Other liver disease-associated autoantibodies				Others autoantibodies					
12	Anti-SMA	A variety of target antigens including F-actin, G-actin, myosin, tropomyosin, troponin, desmin, vimentin, keratin, etc.	6.0-23.6	Anti-SMAs present mostly in ASh-1, and can also be detected in chronic active hepatitis. The presence of anti-SMAs in PBC are potential indicators of ASh/PBC overlap syndrome	43	Anti-CCP	Cyclic citrullinated peptide	2.7-4.8	Anti-CCP antibodies are highly specific for RA with sensitivity of 46%-70%. Presence of anti-CCP antibodies in PBC patients suggests RA overlap
13	Anti-SLA	SLA and liver and pancreatic antigen	2.0-3.9	Anti-SLAs are autoantibodies seen in ASh-E. The presence of SLA autoantibodies in PBC indicate secondary autoimmune hepatitis	44	Anti-CpD	Microbial (antibiotic) proteins D	30-47	CpD is highly conserved among bacteria. Anti-CpD in PBC suggests infectious factors and molecular mimicry involved in the pathogenesis. These autoantibodies in PBC suggest bacterial trigger of PBC
14	Anti-LKM	Liver kidney microsomal antigen	8.7	Anti-LKM antibodies occur preferentially in ASh-8. Anti-LKM autoantibodies can be seen in 21.4% of HCV-infected PBC patients, which suggests a close association between LKM and HCV-infected PBC	45	Anti-β-viridid	β-viridid of bacterial DNA polymerase	32.8	
15	Anti-ASGP-E	Antigliycoprotein receptor	22.0-33.0	Anti-ASGP-E antibodies mainly present in ASh and PBC. The autoimmune responses against ASGP-E have been implicated in the development of ASh and PBC	46	Anti-EPO	Erythropoietin	32.3	PBC patients with positive anti-EPO antibodies have less peripheral eosinophilia
16	Anti-LKM	Liver cell membrane specific antigen	42.6	Anti-LKM antibodies are detected predominantly in patients with HBsAg negative chronic active hepatitis, but are also found in other liver diseases such as PBC	47	Anti-p53	Nuclear protein of 53 kDa that regulates cell proliferation and apoptosis	8.8	Anti-p53 autoantibodies are commonly seen in malignancies and organ-specific autoimmune diseases such as type 1 diabetes, thyroid disease, PBC and ASh
17	Anti-LSP	Liver specific proteins	48.3	Anti-LSP antibodies present in viral hepatitis and autoimmune liver disease, and are found to correlate with severity of periportal inflammation and perivascular necrosis in PBC	48	Anti-acetylcholine receptor	Nicotinic acetylcholine receptor	36.5-74.0	Anti-acetylcholine receptor antibodies are primarily associated with myasthenia gravis, though PBC patients with positive anti-acetylcholine receptor antibodies do not have clinical symptoms of myasthenia
18	Anti-α-fetoprotein	α-fetoprotein	28.0	Anti-α-fetoprotein antibodies present in autoimmune liver diseases and IBD. They are not specific for PBC	49	Anti-CA-3	Carbonic anhydrase 3	15-31	Anti-CA-3 antibody is likely a nonspecific marker of autoimmunity. It has been detected in a variety of autoimmune diseases, including Graves' disease, type 1 diabetes, SS, SLE, ASh and PBC. In cases of PBC, no significant correlation has been found between anti-CA-3 antibody and AMA
19	Anti-FH	Fumarate hydratase	19.4	Anti-FH antibodies are found to be present predominantly in ASh. It can also be detected in PBC and other liver diseases. The prevalence and their significance of anti-FH in PBC need further study	50	Anti-α-erythrocyte	α-erythrocyte	23.6	Anti-α-erythrocyte antibodies present in a variety of inflammatory and autoimmune diseases, such as SLE, IBD, RA, and ASh, and are not likely to be specific markers for any disease. They might be involved in destruction of biliary epithelium and are associated with hepatic failure
20	Anti-IGAM-8	Phagolysosome membrane enzyme 8	16.7	Anti-IGAM-8 antibodies are found to be present in 70.0% of ASh and 16.7% of PBC. It is also present in about 10% of viral hepatitis and 5.7% of healthy control. The clinical significance of anti-FH needs further study	51	Anti-HSP	Heat shock proteins	49.7	Enhanced biliary expression of heat shock protein is found in PBC. Anti-HSPs are common in PBC, and are related to titers of AMA. They might cross-react with the viral mitochondrial antigens in PBC
				52	Anti-FHBP12	FHBP12 having protein 12	44.4	The significance of anti-FHBP12 antibodies in PBC is unclear	
21	Anti-pH/VCP	pH/ collagen containing protein	33.5	Anti-pH/VCP antibodies predominantly present in PBC, and can be detected in about 9.7% of ASh. The presence of anti-pH/VCP antibodies in PBC suggests less progressive disease course and better prognosis					
22	Anti-GSTA1-1	Glutathione S-transferase	16.6	Anti-GST autoantibodies are detected in 16.0% of ASh and 18.0% of PBC. Patients of ASh with positive anti-GST have severe disease and poor prognosis					
23	Anti-AIL	Argininosuccinate lyase	23.0	Anti-argininosuccinate lyase is a newly identified autoantibody in liver diseases and its clinical relevance remains unknown					
24	Anti-calmodulin	Calmodulin	IgM 38.0 IgA 62.3	Anti-calmodulin autoantibodies neither associate with anti-SMA, ANA and AMA, nor with hypergammaglobulinemia. The class significant of anti-calmodulin is unclear					
Gastroenteropathy-associated autoantibodies									
25	ASCA	Baker's yeast saccharomyces cerevisiae	24.2	ASCA serves as a serological marker of Crohn's disease, and has also been detected in other autoimmune disorders and in 3% of blood donors. The prevalence of ASCA in ASh is 30%-50%, or AMA-negative PBC 48%. ASCA is common in PBC patients and correlates with higher level of circulating IgA. The prevalence of ASCA in PBC may be an indirect sign of enhanced mucosal immunity, but does not necessarily indicate concurrent inflammatory bowel disease					
26	Anti-Galactin-3	Galactin-3, a member of galactin-like-binding lectin	38.0	Anti-Galactin-3 autoantibodies are primarily associated with Crohn's disease, and correlate negatively with disease activity. The significance of anti-Galactin-3 (IgI) autoantibodies in patients with PBC is unknown					
27	Anti-ITG	Tissue transglutaminase	11.0-28.7	Anti-ITG autoantibody is mainly found in celiac disease. The prevalence of anti-ITG in PBC varies due to different types of substrate utilized in detection					
28	AGA	Gluten	14.0-51.6	Anti-gluten antibodies are considered as the most reliable serological markers for celiac disease. They are also frequently seen in PBC, and IgA subclass of anti-gluten antibodies are more pronounced in patients with Schüssler's stage B-5 disease					
Vasculitis-associated autoantibodies									
29	ANCA	Antigen including proteinase 3, myeloperoxidase, bacterial/parasitoidy-increasing protein, leucine-aminopeptidase, collagenase, lysozyme, antinuclear, etc.	2-28	ANCA are primarily associated with systemic vasculitides such as Wegener's granulomatosis, microscopic polyangiitis and Churg-Strauss syndrome					
30	Anti-MPO	Myeloperoxidase	4.0	Predominantly in microscopic polyangiitis, necrotizing and crescentic glomerulonephritis, Churg-Strauss syndrome					
31	Anti-PR3	Proteinase 3	3.0	Predominantly in Wegener's granulomatosis, and also detectable in microscopic polyangiitis, necrotizing and crescentic glomerulonephritis					
32	Anti-LP	Lactoferrin	25.0-33.7	Are detected in several autoimmune disorders, such as Crohn's disease, SLE, systemic vasculitides. They are not specific markers for PBC					
Thrombophilia-associated autoantibodies									
33	Anti-α2GP1	α2-glycoprotein 1	IgG 5-23	Represent specific features of patients with antiphospholipid syndrome. Their presence in PBC often indicates severe disease and worse prognosis					
34	Anti-PS	Cardiolipin	IgG 27.3	Diabetes mellitus-associated autoantibodies					
35	Anti-PS	Phosphatidylcholine	IgM 7.8						
36	Anti-PT	Prothrombin	IgG 7						
37	Anti-PE	Phosphatidylethanolamine	IgG 3						
38	Anti-GAD	Glutamic acid decarboxylase	5.5	Anti-GAD occurs preferentially in the patients with type 1 diabetes. Clinical significance of Anti-GAD in PBC is unclear					
39	Anti-SOX13	Transcriptional factor SOX13	31.0	SOX13 was initially identified in type 1 diabetes. The presence of anti-SOX13 in PBC may merely indicate an immune response to products of damage to pancreatical tissue					
Autoimmune thyroid disease-associated autoantibodies									
40	Anti-TG	Thyroglobulin	94.5	Anti-TG, anti-TPO and anti-TB are markers of autoimmune thyroid diseases. Their significance in PBC are unknown					
41	Anti-TPO	Thyroid peroxidase	45.5						
42	Anti-TB	TSH receptor	9.1						

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. (244)
ΔΙΑΦΟΡΑ, ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΧΚ, ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ. Η ΣΧΕΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

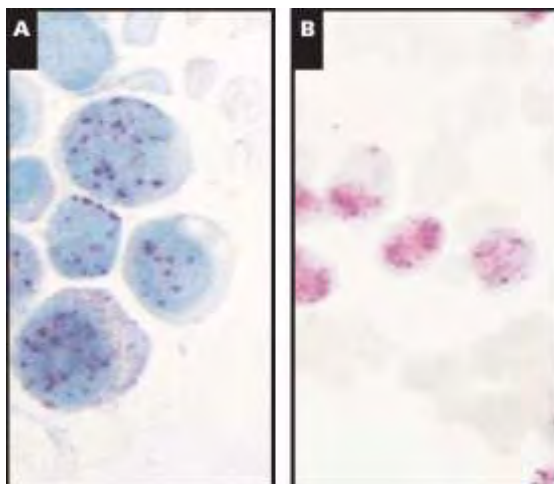
Efficacy and toxicity of the principal drugs investigated for the medical treatment of primary biliary cirrhosis		
	Efficacy	Toxicity
D-penicillamine	-	+
Chlorambucil	+/-	+
Cyclosporine	+/-	+
Azathioprine	+/-	+
Methotrexate	+/-	+
Colchicine	+/-	-
Glucocorticoids	+/-	+/-
UDCA	+	-

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. (385)

ΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΧΚ, ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ, ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Δυστυχώς, δεν έχουν αναγνωριστεί χαρακτηριστικά που να μας βοηθούν να διακρίνουμε τους ασθενείς που από ασυμπτωματικοί θα γίνουν συμπτωματικοί και των οποίων η νόσος θα εξελιχθεί. Όπως αναμένεται, οι ασυμπτωματικοί έχουν μεγαλύτερη επιβίωση. Πολλοί προγνωστικοί παράγοντες έχουν συσχετιστεί με επίδραση στην επιβίωση, πιο ισχυρός αυτών έχει αποδειχτεί η χολερυθρίνη ορού. Από τα προγνωστικά μοντέλα, πιο δημοφιλές και πιο εύχρηστο / ευρέως χρησιμοποιούμενο είναι αυτό της Mayo (385).

Υποδηλωτικό καλής ανταπόκρισης στο ΑΔΧΟ και ευνοϊκής πρόγνωσης στην ΠΧΚ, βρέθηκε το Pares score. Αναφέρεται σε μείωση της αλκαλικής φωσφατάσης ορού, σε επίπεδα φυσιολογικά, ή > 40% από της αρχική τιμή της, μετά από 1 χρόνο θεραπείας με ΑΔΧΟ (386).



ΕΙΚΟΝΑ 32. (382)

ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΟΠΜΑ

Α.ΜΑΚΡΟΚΟΚΚΙΩΔΕΣ ΠΡΟΤΥΠΟ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ, ΜΗ ΟΠΜΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΛΙΓΟΤΕΡΑ ΑΠΟ 20 ΜΕΓΑΛΑ ΚΟΚΚΙΑ ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΝΤΑΙ

Β.ΜΙΚΡΟΚΟΚΚΙΩΔΕΣ ΠΡΟΤΥΠΟ ΣΕ ΟΠΜΑ ΚΥΤΤΑΡΑ. ΠΟΛΛΑΠΛΕΣ, ΜΙΚΡΕΣ, ΜΗ ΜΕΤΡΗΣΙΜΕΣ ΠΥΡΗΝΙΚΕΣ ΚΗΛΙΔΕΣ ΠΑΡΑΤΗΡΟΥΝΤΑΙ

Prognostic markers of disease progression	Prognostic variables in primary biliary cirrhosis		
	Clinical	Analytical	Histological
Clinical			
Varices ^a	Age	Bilirubin	Fibrosis
Ascites ^a	Hepatomegaly	Albumin	Cirrhosis
Peripheral edema ^a	Ascites/edema	Prothrombin	Histological stage
Age ^a	Hepatic encephalopathy	Alkaline phosphatase	Cholestasis
Encephalopathy	Gender	Immunoglobulin	Granuloma
Hepatomegaly	Variceal bleeding	Procollagen type III	Lymphocytic piecemeal necrosis
Serologic		Hyaluronate	
Bilirubin ^a		Indocyanine clearance	
Low albumin ^a		Galactose elimination	
Prothrombin time ^a		Hemoglobin	
Hyaluronic Acid			
Procollagen II			
Tissue Inhibitor of metalloproteinase 1			
Alkaline Phosphatase			
Low platelet count			
AST			
Anti-PML			
Anti- SP100			
Histologic			
Piecemeal necrosis			
Fibrosis ^a			
Genetic			
Apolipoprotein A:4			
TNF- α promoter 2			
^a Independent predictors of survival.			

Variables in italics enter in most studies.

Mathematical prognostic models in primary biliary cirrhosis

Model	Formula
European	$R = 1.09 \times \log_e (\text{bilirubin in mg})$ $+ 0.0069 \times \exp(\text{age in years}/10 - 2)$ $- 0.05 \times (\text{albumin in g/dl})$ $+ 0.88 (\text{if cirrhosis})$ $+ 0.68 (\text{if central cholestasis})$ $+ 0.52 (\text{no azathioprine})$ $+ 3.09$
Mayo	$R = 0.051 \times (\text{age})$ $+ 1.209 \times \log_e (\text{bilirubin})$ $+ 3.304 \times \log_e (\text{albumin})$ $+ 2.754 \times \log_e (\text{prothrombin time})$ $+ 0.675 \times (\text{edema}^a)$
Oslo	$R = 2.027 \times \log (\text{bilirubin})$ $+ 1.6812 \log (\text{variceal bleed} - 0.25)$ $+ 5.75$
Barcelona	$R = 0.051 \times \text{bilirubin (mg/dl)}$ $+ 1.221 \times \text{hepatomegaly}$ $- 0.297 \times \text{hemoglobin (g/L)}$
Newcastle	$R = \exp [(0.0742 \times \text{age})$ $+ (0.195 \times \log_e \text{bilirubin ratio})$ $- (2.7878 \times \text{albumin ratio})$ $+ (0.2610 \times \log_e \text{alkaline phosphatase ratio})]$

[a] 0 = no edema without diuretic therapy; 0.5 = edema without diuretic therapy or edema resolved with diuretic therapy; 1 = edema despite diuretic therapy.

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. (175, 385)

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ / ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ ΣΤΗΝ ΠΧΚ

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση (ΠΧΚ) είναι ένα αυτοάνοσο χολοστατικό νόσημα του ήπατος, με προσβολή συνήθως γυναικών μέσης ηλικίας, προοδευτική, ανοσολογικά επαγόμενη, φλεγμονή και καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων και πυλαία φλεγμονή που οδηγεί σε κίρρωση – ηπατική ανεπάρκεια (1, 387). Χαρακτηρίζεται ορολογικά από την παρουσία των αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων (AMA) στον ορό των ασθενών, με επίτοπο-στόχο το σύμπλεγμα της πυρουβικής δεϋδρογονάσης (ΣΠΔ) (11).

Για τη διάγνωση της νόσου έχουν προταθεί 3 κριτήρια: ανίχνευση, σε μελέτες ανοσοφθορισμού (ΑΦΘ), AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αύξηση των χολοστατικών ενζύμων για τουλάχιστο 6 μήνες, η οποία έχει διερευνηθεί και έχει αποκλειστεί άλλο αίτιο και συμβατή βιοψία ήπατος (205).

Εντούτοις υπάρχει μια ομάδα ασθενών, οι ασθενείς με πρόωμη ΠΧΚ, που δεν πληρούν το σύνολο των κριτηρίων αυτών. Αυτοί οι ασθενείς χαρακτηρίζονται από επανηλλειμένη μέτρηση θετικών AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αλλά απουσία βιοχημικής δραστηριότητας ή συμπτωμάτων, και απουσία ή παρουσία πρώιμων μόνο συμβατών ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων στη βιοψία ήπατος (180). Κατά την παρακολούθησή τους από μελέτες σε βάθος χρόνου, οι ασθενείς αυτοί φαίνεται ότι πάσχουν όντως από ΠΧΚ, εντούτοις έχουν μια βραδέως εξελισσόμενη νόσο, με σπάνια τη δυσμενή εξέλιξη σε πυλαία υπέρταση ή κίρρωση (181).

Μια άλλη σημαντική ομάδα ασθενών στην ΠΧΚ είναι οι AMA αρνητικοί ασθενείς (περί το 5% του συνόλου). Παρουσιάζουν ομοιότητα με τους AMA θετικούς, όσων αφορά τις κλινικές εκδηλώσεις, το βιοχημικό προφίλ, τα ιστοπαθολογικά ευρήματα, την πορεία της νόσου και την ανταπόκριση στη θεραπεία (237), όμως η απουσία AMA από τους ασθενείς αυτούς δημιουργεί δυσκολία στη διάγνωσή τους. Για το λόγο αυτό σε αυτή την ομάδα ασθενών, ιδιαίτερα χρήσιμη αποδεικνύεται η βιοψία ήπατος, καθώς και ο προσδιορισμός μιας ιδιαίτερης κατηγορίας αντιπυρηνικών αντισωμάτων [anti-nuclear antibodies (ANA)], των ειδικών για την ΠΧΚ ANA.

Τα αντισώματα αυτά εμφανίζουν 3 συγκεκριμένα πρότυπα στη μελέτη με ανοσοφθορισμό (ΑΦΘ) σε υπόστρωμα κυτταρικών σειρών Hep2 (ανθρώπινων επιθηλιακών) κυττάρων: το πρότυπο των αντικεντρομεριδιακών αντισωμάτων - anticentromere antibodies (ACA), το πρότυπο του περιπυρηνικού φθορισμού – rim like membrane (RLM) και αυτό των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων - anti-multiple nuclear dots (anti-MND). Παρουσιάζουν ειδικότητα $> 95\%$ για την ΠΧΚ και ευαισθησία σχεδόν 50% για τους AMA θετικούς και κοντά στο 85% για τους AMA αρνητικούς ασθενείς, καθιστώντας τα σημαντικό δείκτη, γι' αυτή την κατηγορία ασθενών (256).

Ένα από αυτά τα αντισώματα είναι το αντίσωμα έναντι της πρωτεΐνης της Προμυελοκυτταρικής Λευχαιμίας [antibody against Promyelocytic Leukaemia protein, (anti-PML)]. Το αντίσωμα αυτό

πρωτοανιχνεύτηκε στο περιφερικό αίμα ασθενών με Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία, και παρουσιάζει για το νόσημα αυτό τόσο παθογενετική όσο και διαγνωστική / θεραπευτική σημασία (314, 340, 342). Η ανίχνευση της κλωνικής αναδιάταξης που οδηγεί στην υπερέκφραση της πρωτεΐνης (διαμετάθεση του γονιδίου της PML) και τη δημιουργία του αντισώματος, αποτελεί τον παθογενετικό μηχανισμό που οδηγεί στην εκδήλωση της νόσου (316). Ταυτόχρονα είναι συνώνυμη με διάγνωση της νόσου, ενώ φυσικοί παράγοντες που οδηγούν σε υποστροφή της κλωνικής αυτής αναδιάταξης και εκ νέου φυσιολογική έκφραση της πρωτεΐνης, είναι συνώνυμη με θεραπεία της νόσου και ύφεση της αιματολογικής κακοήθειας (309).

Οι μελέτες σε ορό ασθενών με ΠΧΚ θετικών για anti-PML, δίδουν anti-MND πρότυπο στον ΑΦΘ, σε Her2 κύτταρα. Ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με ΠΧΚ, σε ποσοστά από 8,7% ως 41,2%, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό τους [(388), (377), (339), (302), (389)]. Παρουσιάζουν σημαντική ειδικότητα για τη νόσο, που και αυτή ποικίλλει σημαντικά στις διάφορες μελέτες, από 78,1% (302), ως και > 98% (377, 389). Επιπλέον η ανίχνευσή τους στον ορό έχει βρεθεί ότι αποτελεί κακό προγνωστικό δείκτη για την κλινική έκβαση (175).

Σημαντική προσπάθεια έχει γίνει για την ανεύρεση προγνωστικών δεικτών στην ΠΧΚ (175). Η προσπάθεια αυτή είναι ιδιαίτερα δύσκολη, περιλαμβάνοντας στις διάφορες μελέτες ανομοιογενείς ομάδες ασθενών, με διαφορές ως προς βασικά χαρακτηριστικά όπως η λήψη ή μη θεραπείας και μέχρι στιγμής, λίγοι αξιόπιστοι προγνωστικοί δείκτες έχουν ανευρεθεί (175).

Ένα επιπλέον σημαντικό πρόβλημα είναι η διάγνωση των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ. Ο προσδιορισμός τους έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία, καθώς αυτοί οι ασθενείς έχουν μεν ηπιότερη αλλά δυνητικά εξελίξιμη νόσο (27, 180, 184, 390). Θεραπευτικές προεκτάσεις προκύπτουν για τους ασθενείς αυτούς, καθώς η πρώιμη έναρξη Αρκτοδεοξυχολικού Οξέος (ΑΔΧΟ) συστήνεται και γι' αυτή την ομάδα των ασθενών από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Μελέτης Ήπατος (205), με ενδείξεις ότι καθυστερεί την εμφάνιση κίρσων οισοφάγου (391) ή ασκίτη (392) και αυξάνει την επιβίωση, με βάση το προγνωστικό μοντέλο επιβίωσης και έκβασης Mayo (Mayo Risk Score - MRS) (391-395). Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιεί 5 ανεξάρτητες προγνωστικές παραμέτρους επιβίωσης (ηλικία, χολερυθρίνη, αλβουμίνη, χρόνος προθρομβίνης, παρουσία ή απουσία περιφερικού οιδήματος – ανταπόκριση στη διουρητική αγωγή). Προσδιορίζεται με βάση τον τύπο $R = 0,871 \times \log_e$ (ολικής χολερυθρίνης σε mg/dl), $- 2,53 \times \log_e$ (αλβουμίνη σε g/dl) $+ 0,039 \times$ (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 που δεν αντιμετωπίζεται με διουρητικά) (195). Προκύπτει μια τιμή που αντιστοιχεί στην εκτιμώμενη επιβίωση για έναν ασθενή με ΠΧΚ, χωρίς να γίνει μεταμόσχευση ήπατος. Η επιβίωση είναι αντιστρόφως ανάλογη της απόλυτης τιμής

που προκύπτει, ενώ MRS ίσο με 7,8 θεωρήθηκε ως η ιδανική τιμή για τη διενέργεια μεταμόσχευσης ήπατος στους ασθενείς με ΠΧΚ (396).

Εκτός όμως από την Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία (ΟΠΜΛ) (382, 383), τα anti-PML αντισώματα έχουν ανιχνευστεί ανοσοϊστοχημικά στην ΠΧΚ (397) και στη χρόνια νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή [chronic graft-versus-host disease (GVHD)] (384).

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να προσδιορίσουμε τη συχνότητα ανίχνευσης των anti-PML σε βιοψίες ήπατος, ασθενών με ΠΧΚ και ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα. Επιπλέον να προσδιορίσουμε αν η ανίχνευση των anti-PML σε βιοψία ήπατος μπορεί να έχει πιο σημαντική συσχέτιση με την έκβαση / πρόγνωση της ΠΧΚ, με δεδομένη την ήδη γνωστή συσχέτιση που υπάρχει με τον προσδιορισμό του αντισώματος στον ορό. Να δούμε αν ο προσδιορισμός σε βιοψία ήπατος αυτού του πολύ ειδικού για την ΠΧΚ αντισώματος μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ. Να συγκρίνουμε τη συχνότητα ανίχνευσης των anti-PML στην ΠΧΚ με τις ομάδες ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα, σε μια προσπάθεια να διερευνηθεί η ιδιαίτερη σχέση του αυτοαντισώματος με την ΠΧΚ. Τέλος να συσχετίσουμε την παρουσία anti-PML με κλινικά χαρακτηριστικά και παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, σε μια προσπάθεια να βρούμε την κλινική σημασία της παρουσίας του αντισώματος στον ιστό ασθενών με ΠΧΚ.

II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ, ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

II.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

42 ασθενείς με ΠΧΚ και 20 ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ ελέγχθηκαν, με ανοσοϊστοχημική χρώση, για την παρουσία anti-PML σε τομές βιοψίας ήπατος. Σαν ομάδες ελέγχου (disease control groups) χρησιμοποιήθηκαν 29 ασθενείς με Πρωτοπαθή Σκληρυντική Χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ), 36 ασθενείς με Χρόνιες Ιογενείς Ηπατίτιδες (ΧΙΗ): 24 με Χρόνια Ηπατίτιδα Β (ΧΗΒ) και 12 με Χρόνια Ηπατίτιδα C (ΧΗC) και 9 ασθενείς με Μη Αλκοολική Στεατοηπατίτιδα (ΜΑΣ).

Για τους ασθενείς με ΠΧΚ καταγράφηκαν επιπλέον στοιχεία από το κλινικό τους ιστορικό όπως το αν βρισκόντουσαν υπό θεραπεία ή όχι τη στιγμή της βιοψίας, αν ελάμβαναν ΑΔΧΟ, ή άλλα ανοσοκατασταλτικά (κορτιζόνη, μπουντεσονίδη, μυκοφαινόλη μοφετίλ, μεθοτρεξάτη), η διάρκεια της νόσου ως τη βιοψία [προσδιοριζόμενη από την έναρξη των σχετιζόμενων με τη νόσο συμπτωμάτων: $3,65 \pm 3,9$ έτη (mean \pm SD)] και η συνολική διάρκεια της νόσου [η διάρκεια της νόσου ως τη βιοψία + ο χρόνος παρακολούθησης: $9 \pm 4,8$ έτη (mean \pm SD)]. Επιπλέον η ύπαρξη ή όχι συμπτωμάτων τη στιγμή της βιοψίας και κατά την παρακολούθηση του ασθενούς, η συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων, η διάρκεια παρακολούθησης. Ως όριο στο χρονικό διάστημα της

παρακολούθησης τέθηκε η τελευταία διαθέσιμη για κάθε ασθενή κλινική εκτίμηση και λήψη εργαστηριακού ελέγχου, ανεξάρτητα από τη λήψη ή όχι αγωγής ή άλλους παράγοντες, και ήταν σε διάρκεια $5,35 \pm 2,5$ έτη (mean \pm SD). Οι ασθενείς αυτοί, με κλινικά και ιστολογικά δεδομένα, διαχωρίστηκαν σε κίρρωτικούς και μη κίρρωτικούς, κατά τη στιγμή της βιοψίας και κατά την παρακολούθηση.

Για κάθε μια από τις παραπάνω ομάδες καταγράφηκαν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ατόμων (φύλο, ηλικία). Για τους ασθενείς αυτούς προσδιορίστηκαν οι βασικότερες βιοχημικές παράμετροι, όπως οι τιμές της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (aspartate transaminase- AST), της αλανίνο-άμινο- τρανσφεράσης (alanine transaminase- ALT), της αλκαλικής φωσφατάσης (alkaline phosphatase- ALP), της γ-γλουταμύλο-τρανσπεπτιδάσης (gamma-glutamyl transpeptidase γ-GT), της αλβουμίνης, των γ-σφαιρινών, της ολικής χολερυθρίνης, της ανοσοσφαιρίνης υποτάξης IgM.

Ιστολογικά δεδομένα ήταν διαθέσιμα για όλους τους ασθενείς της μελέτης.

II.1.1 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ

Η διάγνωση της ΠΧΚ βασίστηκε στα διεθνώς αποδεκτά κριτήρια (205). Συγκεκριμένα, ανίχνευση AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αύξηση των χολοστατικών ενζύμων για τουλάχιστο 6 μήνες και συμβατή βιοψία ήπατος ήταν τα 3 κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν.

Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ δίδονται με λεπτομέρειες στους πίνακες 1, 2 και 3.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΧΚ (n=42)	
Φύλο (γυναίκες / άνδρες)	(38 / 4)
Ηλικία (έτη)	56.2 ± 10.7
Διάρκεια της νόσου (έτη)	3.83 ± 3.7
Άλλη συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή (ναι / όχι)	(30 / 12)
Άλλο συνυπάρχων νόσημα (ναι / όχι)	(12 / 30)
Ουρολοιμώξεις (ναι / όχι)	(6 / 36)
Συμπτώματα / Ασυμπτωματικοί	(33 / 9)
Παρουσία ασκτικής συλλογής (ναι / όχι)	(1 / 41)
Παρουσία ηπατικής εγκεφαλοπάθειας (ναι / όχι)	(1 / 41)
Θεραπεία με ΑΔΧΟ (ναι / όχι)	(39 / 3)
Θεραπεία με άλλα ανοσοκατασταλτικά (ναι / όχι)	(9 / 33)
Κίρρωση (ναι / όχι)	(4 / 38)
Επιπλοκές προχωρημένης ηπατικής νόσου (ναι / όχι)	(3 / 39)
Θάνατος κατά την παρακολούθηση (ναι / όχι)	(2 / 40)

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΠΧΚ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΧΚ (n=42)	
AMA (θετικοί / αρνητικοί)	(39 / 3)
AST (U/L)	49.5 ± 44.8
ALT (U/L)	62 ± 73.1
γ-GT (U/L)	138.8 ± 167.1
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L)	174.4 ± 118.8
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl)	0.72 ± 0.38
Αλβουμίνη (g/dl)	4.3 ± 0.47
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	270.8 ± 182,3
γ-σφαιρίνες (g/dl)	3.5 ± 0.67
Χρόνος προθρομβίνης (sec)	11.8 ± 1.03

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Από τους 42 ασθενείς με ΠΧΚ, 39 είχαν ανιχνεύσιμο τίτλο AMA αντισωμάτων, ενώ 3 ήταν AMA αρνητικοί. Από τους 42 ασθενείς οι 4 ήταν άνδρες και οι 38 ήταν γυναίκες (αναλογία γυναικών προς άνδρες 9,5:1). Ιστολογικά δεδομένα υπήρξαν διαθέσιμα και για τους 42 ασθενείς, ενώ με βάση τα κριτήρια της ιστολογικής ταξινόμησης (398) υπήρξαν 17 ασθενείς σταδίου I, 13 ασθενείς σταδίου II, 8 ασθενείς σταδίου III και 4 ασθενείς σταδίου IV. Με βάση την κλινική εκτίμηση και τα ιστολογικά δεδομένα, 4 ασθενείς είχαν συμπτώματα και ιστολογική επιβεβαίωση κίρρωσης (στάδιο IV).

30 από τους 42 ασθενείς είχαν εκδηλώσεις άλλης αυτοάνοσης διαταραχής. Συγκεκριμένα, πιο συχνά εμφανιζόμενες αυτοάνοσες διαταραχές ήταν η αναιμία Biermer (18 ασθενείς), το σύνδρομο Sicca (8 ασθενείς), η θυρεοειδίτιδα Hashimoto (7 ασθενείς) ενώ πολλοί ασθενείς παρουσίαζαν περισσότερα του ενός νοσήματα (πίνακας 3).

Για τους ασθενείς με ΠΧΚ προσδιορίστηκε το προγνωστικό μοντέλο επιβίωσης και έκβασης Mayo (Mayo Risk Score - MRS).

Επιπλέον προσδιορίστηκε το Pares score, το οποίο αναφέρεται σε μείωση της αλκαλικής φωσφατάσης ορού, σε επίπεδα φυσιολογικά, ή > 40% από της αρχική τιμή της, μετά από 1 χρόνο θεραπείας με ΑΔΧΟ. Οι παράμετροι αυτοί βρέθηκε να είναι υποδηλωτικοί και να μπορούν να διακρίνουν με ακρίβεια τους ασθενείς με ΠΧΚ που θα έχουν καλή ανταπόκριση στο ΑΔΧΟ και τελικά ευνοϊκότερη πρόγνωση (386).

Τέλος καταγράφηκε η έκβαση των ασθενών, ως προς τελικά σημεία, όπως η τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια, ο θάνατος, η μεταμόσχευση ήπατος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Συνυπάρχοντα αυτοάνοσα νοσήματα των ασθενών με ΠΧΚ

ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	ΠΧΚ (n=42)
Αναιμία Biermer	18 / 42
Σύνδρομο Sicca	8 / 42
Θυρεοειδίτιδα Hashimoto	7 / 42
Σύνδρομο Crest	4 / 42
Σύνδρομο Sjogren	3 / 42
Ρευμ. Αρθρίτιδα	1 / 42
Μυασθένεια Gravis	1 / 42
Κοιλιοκάκη	1 / 42
Μορφέας	1 / 42
Κρυοσφαιριναιμία	1 / 42
Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα	1 / 42
Σύνδρομο Raynaud	1 / 42
Κανένα άλλο αυτοάνοσο νόσημα	12 / 42

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

12 από τους 42 ασθενείς είχαν επιπλέον της ΠΧΚ, και άλλο συστηματικό νόσημα, συμπεριλαμβανομένου του σακχαρώδη διαβήτη, της στεφανιαίας νόσου ή κάποιας κακοήθους νεοπλασματικής νόσου. 33 από αυτούς ήταν συμπτωματικοί κατά τη διάγνωση (συμπτώματα: αρθραλγίες, κόπωση, κνησμός, ξηροφθαλμία, ξηροστομία), και 6 είχαν συχνά επεισόδια ουρολοιμώξεων. Συνολικά 3 από αυτούς παρουσίαζαν κάποια από τις επιπλοκές προχωρημένης ηπατικής νόσου (κίρσους οισοφάγου, σπληνομεγαλία, ασκίτη, αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, ηπατική εγκεφαλοπάθεια).

Π.1.2 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ

Η διάγνωση της πρώιμης ΠΧΚ βασίστηκε στην επανηλλειμένη ανίχνευση AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, σε ασθενείς με απουσία βιοχημικής δραστηριότητας ή συμπτωμάτων, και στην παρουσία, σε 6 από τους 20 ασθενείς αλλοιώσεων ΠΧΚ σταδίου I στη βιοψία ήπατος (180). Οι υπόλοιποι 14 ασθενείς δεν είχαν συμβατά ιστολογικά ευρήματα και πληρούσαν μόνο το ορολογικό κριτήριο ανίχνευσης AMA, ενώ και για τους 20 ασθενείς είχε διερευνηθεί και αποκλειστεί η παρουσία άλλου ηπατικού νοσήματος, τόσο με βάση τα κλινικοεργαστηριακά ευρήματα όσο και από τη βιοψία ήπατος.

Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ δίδονται με λεπτομέρειες στους πίνακες 4, 5 και 6.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ (n=20)	
Φύλο (γυναίκες / άνδρες)	(17 / 3)
Ηλικία (έτη)	52.45 ± 9.3
Διάρκεια της νόσου (έτη)	3.25 ± 4.2
Άλλη συνυπάρχουσα αυτοάνοση διαταραχή (ναι / όχι)	(14 / 6)
Άλλο συνυπάρχων νόσημα (ναι / όχι)	(6 / 14)
Ουρολοιμώξεις (ναι / όχι)	(2 / 18)
Συμπτώματα / Ασυμπτωματικοί	(0 / 20)
Παρουσία ασκτικής συλλογής (ναι / όχι)	(0 / 20)
Παρουσία ηπατικής εγκεφαλοπάθειας (ναι / όχι)	(0 / 20)
Θεραπεία με ΑΔΧΟ (ναι / όχι)	(15 / 5)
Θεραπεία με άλλα ανοσοκατασταλτικά (ναι / όχι)	(4 / 16)
Κίρρωση (ναι / όχι)	(0 / 20)
Επιπλοκές προχωρημένης ηπατικής νόσου (ναι / όχι)	(0 / 20)
Θάνατος κατά την παρακολούθηση (ναι / όχι)	(1 / 19)

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ (n=20)	
AMA (θετικοί / αρνητικοί)	(18 / 2)
AST (U/L)	35.9 ± 21.9
ALT (U/L)	55.2 ± 50.7
γ-GT (U/L)	44.6 ± 31.1
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L)	114 ± 46.3
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl)	0.6 ± 0.2
Αλβουμίνη (g/dl)	4.3 ± 0.38
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	107.1 ± 60.6
γ-σφαιρίνες (g/dl)	3.14 ± 0.5
Χρόνος προθρομβίνης (sec)	12 ± 1.06

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Συνυπάρχοντα αυτοάνοσα νοσήματα των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ

ΑΥΤΟΑΝΟΣΟ ΝΟΣΗΜΑ	ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ (n=20)
Αναιμία Biermer	11 / 20
Θυρεοειδίτιδα Hashimoto	6 / 20
Σύνδρομο Sicca	2 / 20
Δερματικός Λύκος	1 / 20
Σύνδρομο Sjogren	1 / 20
Κανένα άλλο αυτοάνοσο νόσημα	6 / 20

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Από τους 20 ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ, 18 είχαν ανιχνεύσιμο τίτλο AMA αντισωμάτων, ενώ 2 ήταν AMA αρνητικοί. Από τους 20 ασθενείς οι 3 ήταν άνδρες και οι 17 ήταν γυναίκες (αναλογία γυναικών προς άνδρες 5,66:1). Ιστολογικά δεδομένα υπήρξαν δαθέσιμα και για τους 20 ασθενείς, ενώ με βάση τα κριτήρια της ιστολογικής ταξινόμησης υπήρξαν 14 ασθενείς χωρίς καθόλου ιστολογικές αλλοιώσεις ΠΧΚ, 6 ασθενείς σταδίου I, και δεν υπήρχε ασθενής πιο προχωρημένου σταδίου.

14 από τους 20 ασθενείς είχαν εκδηλώσεις άλλης αυτοάνοσης διαταραχής, όπως η αναιμία Biermer (11 ασθενείς), η θυρεοειδίτιδα Hashimoto (6 ασθενείς), το σύνδρομο Sicca (2 ασθενείς) ενώ κάποιοι ασθενείς παρουσίαζαν περισσότερα του ενός νοσήματα (πίνακας 6).

6 από τους 20 ασθενείς είχε επιπλέον της ΠΧΚ, και άλλο συστηματικό νόσημα (σακχαρώδη διαβήτη, στεφανιαία νόσο ή κάποια κακοήγη νεοπλασματική νόσο) και 2 είχαν επεισόδια ουρολοιμώξεων στο ιστορικό τους. Κανένας δεν είχε συμπτώματα (αρθραλγίες, κόπωση, κνησμός, ξηροφθαλμία, ξηροστομία) και κανένας δεν είχε επιπλοκές προχωρημένης ηπατικής νόσου (κίρσους οισοφάγου, σπληνομεγαλία, ασκίτη, αυτόματη βακτηριακή περιτονίτιδα, ηπατική εγκεφαλοπάθεια).

Η άθροιση των ασθενών με ΠΧΚ (n= 42) και των ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ (n= 20) αποτελεί το σύνολο των ασθενών με ΠΧΚ της μελέτης μας, και στο εξής θα αναφέρεται ως συνολική ομάδα ΠΧΚ (σ.ΠΧΚ, n= 62).

ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ (DISEASE CONTROL GROUPS)

Π.1.3 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΩΤΟΠΑΘΗ ΣΚΛΗΡΥΝΤΙΚΗ ΧΟΛΑΓΓΕΙΤΙΔΑ (ΠΣΧ)

Η διάγνωση των ασθενών με Πρωτοπαθή Σκληρυντική Χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ) βασίστηκε στην εύρεση κλινικών ή βιοχημικών σημείων χολόστασης, στη συμβατή βιοψία ήπατος, σε επανηλλειμένα αρνητικό έλεγχο για AMA και / ή τυπικά ευρήματα στην ενδοσκοπική, ανάστροφη χολαγγειοπαγκρεατογραφία (endoscopic retrograde cholangiopancreatography- ERCP) ή στη

χολαγγειογραφία με μαγνητικό συντονισμό (Magnetic resonance cholangiography- MRCP) (399, 400).

Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΣΧ δίδονται με λεπτομέρεια στον πίνακα 7.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. Δημογραφικά, κλινικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΠΣΧ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΣΧ (n=29)	
Φύλο (γυναίκες / άνδρες)	(8 / 21)
Ηλικία (έτη)	43.66 ± 11.58
Κίρρωση (ναι / όχι)	(2 / 27)
AMA (IFL) (θετικοί / αρνητικοί)	(0 / 29)
AST (U/L)	51.9 ± 43.57
ALT (U/L)	80.1 ± 81.88
γ-GT (U/L)	188.65 ± 214.1
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L)	137.1 ± 130.1
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl)	2.03 ± 5.64
Αλβουμίνη (g/dl)	4.42 ± 0,45
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	120.5 ± 68.34
γ-σφαιρίνες (g/dl)	2.96 ± 0.7
Χρόνος προθρομβίνης (sec)	12.12 ± 1

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Π.1.4 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΕΣ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ (XIH)

Η ομάδα αυτή των ασθενών συμπεριλαμβάνει 12 ασθενείς με Χρόνια Ηπατίτιδα C (XHC) και 24 ασθενείς με χρόνια Χρόνια Ηπατίτιδα B (XHB).

Η διάγνωση της HCV λοίμωξης έγινε με βάση τα διεθνώς καθιερωμένα κριτήρια: ορολογική απόδειξη χρόνιας HCV λοίμωξης, με ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του ιού (αντι-HCV), με ανοσοενζυμική μέθοδο τρίτης γενιάς, τουλάχιστο 2 φορές μέσα σε έξι μήνες και ενεργό πολλαπλασιασμό του ιού, όπως ορίζεται από την ανίχνευση του RNA του ιού της Ηπατίτιδας C [Hepatitis-C Virus (HCV) RNA] με τη χρήση της μεθόδου της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (401-403).

Η διάγνωση της HBV και HDV λοίμωξης βασίστηκε σε συμβατά κλινικά, εργαστηριακά και ιστολογικά δεδομένα, σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία και με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Μελέτης Ήπατος (404-406).

Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ιογενείς ηπατίτιδες δίδονται με λεπτομέρεια στον πίνακα 8.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Δημογραφικά, κλινικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΧΙΗ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΕΣ ΙΟΓΕΝΕΙΣ ΗΠΑΤΙΤΙΔΕΣ (n=36)	
HCV / HBV	(12 / 24)
Φύλο (γυναίκες / άνδρες)	(10 / 26)
Ηλικία (έτη)	47.5 ± 15.8
Κίρρωση (ναι / όχι)	(8 / 28)
AMA (IFL) (θετικοί / αρνητικοί)	(0 / 23)
AST (U/L)	70.3 ± 83.8
ALT (U/L)	96 ± 124.5
γ-GT (U/L)	50.5 ± 54.3
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L)	65. 5 ± 22.1
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl)	0.8 ± 0.4
Αλβουμίνη (g/dl)	4.27 ± 0.35
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	116.6 ± 57.4
γ-σφαιρίνες (g/dl)	3.4 ± 0.61
Χρόνος προθρομβίνης (sec)	12.1 ± 2.05

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Π.1.5 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΜΗ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΣΤΕΑΤΟΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΜΑΣ)

Οι ασθενείς με Μη Αλκοολική Στεατοηπατίτιδα (ΜΑΣ) ταυτοποιήθηκαν από την παρουσία μεταβολικού συνδρόμου, μετά από αποκλεισμό άλλων αιτίων χρόνιας ηπατικής νόσου (ιογενείς ηπατίτιδες, αυτοάνοσα νοσήματα ήπατος, φάρμακα , τοξίνες - αλκοόλ) καθώς και από τη συμβατή ηπατική βιοχημεία και βιοψία ήπατος (407).

Τα συνολικά δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΜΑΣ δίδονται με λεπτομέρεια στον πίνακα 9.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Δημογραφικά, κλινικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με ΜΑΣ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΑΣ (n=9)	
Φύλο (γυναίκες / άνδρες)	(0 / 9)
Ηλικία (έτη)	40.78 ± 8.03
Κίρρωση (ναι / όχι)	(0 / 9)
AMA (IFL) (θετικοί / αρνητικοί)	(0 / 9)
AST (U/L)	179.08 ± 415.4
ALT (U/L)	214.9 ± 391.1
γ-GT (U/L)	53.4 ± 52.5
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L)	141.6 ± 191.6
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl)	1.22 ± 1.36
Αλβουμίνη (g/dl)	4.43 ± 0.29
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl)	98.4 ± 46.4
γ-σφαιρίνες (g/dl)	3.25 ± 0.56
Χρόνος προθρομβίνης (sec)	11.75 ± 1.05

Τα δεδομένα δίδονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

II.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την στατιστική επεξεργασία συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη οι βασικότερες βιοχημικές παράμετροι, όπως οι τιμές της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (aspartate transaminase- AST), της αλανίνο-άμινο- τρανσφεράσης (alanine transaminase- ALT), της αλκαλικής φωσφατάσης (alkaline phosphatase- ALP), της γ-γλουταμύλο-τρανσπεπτιδάσης (gamma-glutamyl transpeptidase γ-GT), της αλβουμίνης, των γ-σφαιρινών, της ολικής χολερυθρίνης, της ανοσοσφαιρίνης υποτάξης IgM. Για τους ασθενείς με ΠΧΚ, οι ανωτέρω παράμετροι καταγράφηκαν τόσο τη στιγμή της βιοψίας, όσο και στο τέλος της παρακολούθησης των ασθενών. Ως χρονικό διάστημα- τέλος παρακολούθησης ορίστηκε το διάστημα από τη στιγμή διενέργειας της βιοψίας ως την τελευταία διαθέσιμη για κάθε ασθενή κλινική εκτίμηση και λήψη εργαστηριακού ελέγχου, ανεξάρτητα από τη λήψη ή όχι αγωγής ή άλλους παράγοντες και ήταν σε διάρκεια $5,35 \pm 2,5$ έτη (mean ± SD). Τα επίπεδα της AST, της ALT, της ALP, της γGT, της IgM ανοσοσφαιρίνης, της ολικής χολερυθρίνης και της αλβουμίνης προσδιορίστηκαν σε αυτόματους αναλυτές.

Για τους ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες, αλλά και για τους υπόλοιπους, προς αποκλεισμό ιογενούς ηπατίτιδας, αναζητήθηκε το ιολογικό τους προφίλ (δείκτες για ηπατίτιδες A,B και C). Ο

προσδιορισμός των δεικτών για HBV λοίμωξη (αντιγόνο επιφανείας-HBsAg, αντισώματα έναντι αντιγόνου επιφανείας antiHBs, αντισώματα έναντι αντιγόνου του πυρηνικού φακέλου-antiHBcore, αντιγόνο e-HBeAg, αντισώματα έναντι του αντιγόνου e-antiHBe) έγινε χρησιμοποιώντας εμπορική ανοσοενζυμική μέθοδο (Abbot 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 το βασικό ανοσολογικό προφίλ των ασθενών με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και συγκεκριμένα έγινε αναζήτηση της παρουσίας και του τίτλου των παρακάτω αντισωμάτων: αντιπυρηνικών αντισωμάτων [anti-nuclear antibodies (ANA)], αντισωμάτων έναντι λείων μυϊκών ινών [anti-smooth muscle antibodies (aSMA)], αντισωμάτων έναντι μικροσωμίων ήπατος-νεφρού [anti-liver/kidney microsomal antibodies (anti-LKM)], αντισωμάτων έναντι διαλυτών αντιγόνων ήπατος/ παγκρέατος [anti-soluble liver antigen/ liver-pancreas antibodies (anti-SLA/LP)], αντιμιτοχονδριακών αντισωμάτων [anti-mitochondrial antibodies (AMA)], έναντι τοιχωματικών κυττάρων στομάχου [parietal cell antibodies (PCA)] ή έναντι γαστρικών-τοιχωματικών κυττάρων [gastric parietal cells (GPA)], έναντι κυτταροπλάσματος ουδετερόφιλων [anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)] που περιλαμβάνουν 2 ομάδες αντισωμάτων, με 2 πρότυπα ανοσοφθορισμού, τον περιπυρηνικό [perinuclear (p-ANCA)] και τον κυτταροπλασματικό [cytoplasmic (c-ANCA)], αντικεντρομεριδιακών αντισωμάτων [anticentromere antibodies (ACA)], αντισωμάτων με πρότυπο περιπυρηνικού φθορισμού [rim like membrane (RLM)], με το πρότυπο των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων [anti-multiple nuclear dots (anti-MND)], έναντι της πρωτεΐνης sp-100 (anti-sp100), έναντι της πρωτεΐνης gp210 (anti-gp210), έναντι του ενδογενούς παράγοντα (anti-intrinsic factor), έναντι καρδιολιπίνης [anti-cardiolipin (anti-CL)], έναντι της β2-γλυκοπρωτεΐνης I [anti-β2-Glycoprotein I (anti-β2GPI)], έναντι της πρωτεΐνης Ro52 (anti-Ro52), έναντι χρωματίνης (anti-chromatin), έναντι ιστονών (anti-Histones), έναντι κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 [antibodies to liver cytosol antigen type 1 (anti-LC1)], έναντι ακτίνης (anti-actin).

Το σύνολο των αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, ανιχνεύτηκε με ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA) και ανοσοφθορισμό (ΑΦΘ), από το Ερευνητικό Εργαστήριο της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από την Ερευνητική Ομάδα του Καθηγητή Παθολογίας Γ. Ν. Νταλέκου. Η ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων στον ορό έγινε συνοπτικά ως εξής:

II.2.1 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

II.2.1.1 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ANA, aSMA, anti-LKM, AMA, PCA ΣΕ ΙΣΤΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ

Χρησιμοποιήθηκε ως υπόστρωμα ήπαρ, νεφρός και στόμαχος αρουραίων (Wistar rats). Μετά την αφαίρεση των οργάνων από τους αρουραίους, κόπηκαν τομές πάχους 7 μm σε κρυοτόμο, που

ακολουθώς τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρους πλάκες. Στα blocks ήπατος-νεφρού-στομάχου τοποθετούνται δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων και των υπό εξέταση ορών, σε αραιώση σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα 0,15 mol/l, pH 7,4 (PBS), 1:40, 1:80, 1:160, 1:320. Μετά από επώαση 40 λεπτών σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σκοτάδι, γίνεται πλύσιμο των πλακών με PBS (3 φορές) και τοποθέτηση της αντι-ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης (IgA, IgG, IgM, κ και λ αλύσεων), που είναι συνδεδεμένη με φλουοροσκεΐνη (FITC conjugate) (DAKO). Μετά από εκ νέου επώαση για 40 λεπτά, και πλύσιμο (3 φορές), πραγματοποιείται παρατήρηση των αποτελεσμάτων σε μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Θετικό αποτέλεσμα: ανίχνευση φθορισμού σε αραιώση $\geq 1:40$.

II.2.1.2 ANIXNEYΣΗ ANA, AMA, aSMA, ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΥ ACA, RLM, anti-MND, ΣΕ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ HEp2 ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά διαθέσιμα πλακίδια μονιμοποιημένων κυττάρων HEp2. Στα πηγάδια (wells) τοποθετούνται τα δείγματα των θετικών και αρνητικών μαρτύρων, και των υπό εξέταση ορών, σε αραιώσεις 1:80, 1:160, 1:320 και επώζονται για 30 λεπτά σε σκοτάδι. Ακολουθεί πλύσιμο των πλακιδίων με PBS (2 φορές) και τοποθέτηση μιας σταγόνας αντι-ανθρώπινης IgG συνδεδεμένης με φλουοροσκεΐνη (FITC conjugate), επώαση για 30 λεπτά, επανάληψη του πλυσίματος και τελικά παρατήρηση σε μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού. Θετικό αποτέλεσμα: ανίχνευση φθορισμού σε αραιώση $\geq 1:80$.

II.2.1.3 ANIXNEYΣΗ ANCA

Χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά διαθέσιμα πλακίδια, με μονιμοποιημένα σε αιθανόλη ουδετερόφιλα. Στα πηγάδια (wells) τοποθετούνται τα δείγματα των θετικών και αρνητικών μαρτύρων, και των υπό εξέταση ορών, σε αραιώσεις 1:20, 1:40, 1:80 και ακολουθεί η διαδικασία που περιγράφηκε για την ανίχνευση ANA, AMA, aSMA σε υπόστρωμα HEp2. Θετικό αποτέλεσμα: ανίχνευση φθορισμού σε αραιώση $\geq 1:20$.

II.2.1.4 ANIXNEYΣΗ anti-SLA/LP, anti-LKM, GPA, anti-sp100, anti-gp210, anti-intrinsic factor, anti-β2-Glycoprotein I, anti-Ro52, anti-chromatin, anti-Histones, anti-LC1, anti-actin ME ΕΜΠΟΡΙΚΕΣ ELISA

Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αυτών έγινε με εμπορικά διαθέσιμες ELISA, σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Περίληπτικά, σε πλακίδια με συνδεδεμένο στον πυθμένα το υπό εξέταση αντιγόνο, γίνεται επώαση των ορών, θετικών και αρνητικών μαρτύρων και 3 ορών γνωστής συγκέντρωσης για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, για προκαθορισμένο χρονικό διάστημα, σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί πλύσιμο με κατάλληλο διάλυμα και επώαση με το δεύτερο

αντίσωμα, επίσης για προκαθορισμένο χρονικό διάστημα. Μετά από νέο πλύσιμο προστίθεται το κατάλληλο υπόστρωμα και γίνεται επώαση σε σκοτεινό μέρος που ακολουθείται από μπλοκάρισμα της αντίδρασης. Ακολουθεί μέτρηση της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων με τη βοήθεια φωτόμετρου, και ανάλυση των αποτελεσμάτων, συνήθως σε μήκος κύματος τα 450 nm, με μήκος κύματος αναφοράς τα 650 nm. Από την απορρόφηση των 3 θετικών μαρτύρων γνωστής συγκέντρωσης κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς, βάσει της οποίας υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις των αντισωμάτων των ασθενών. Ο θετικός τίτλος ορίζεται σε κάθε ELISA από τον κατασκευαστή.

II.2.1.5 ANIXNEYΣΗ anti-CL ME IN-HOUSE ELISA

Αρχικά γίνεται στρώσιμο των πλακιδίων (πολυστυρενίου) με 25 μ l βόειο καρδιολιπίνη (Sigma, St.Luis, MO, USA) σε απόλυτη αιθανόλη (50 μ g/ml). Τα πλακίδια αφήνονται να στεγνώσουν στο σκοτάδι. Ακολουθεί πλύσιμο 3 φορές με PBS και προσθήκη 100 μ l/well βόειου ορού (BS) 10% με PBS και επώαση για 1 ώρα. Μετά από πλύσιμο με PBS, ακολουθεί προσθήκη 50 μ l/well δειγμάτων των ασθενών, θετικών (control) δειγμάτων και 10 υγιών ατόμων σε αραιώση 1:50 σε 10% BS, εις διπλούν. Επώαση 1 ώρας, πλύσιμο 5 φορές με PBS και προσθήκη 50 μ l αντιανθρώπινου ορού αιγός, IgG ή IgM τάξης, συνδεδεμένου με αλκαλική φωσφατάση (Sigma), σε αραιώση 1:2000 σε 10% BS και επώαση 90 λεπτών. Το πλακίδιο πλένεται 5 φορές και προστίθεται το υπόστρωμα [50 μ l/well p-nitrophenyl phosphate (Seralab) με συγκέντρωση 1 mg/ml σε ρυθμιστικό διάλυμα διεθανολαμίνης, pH 9,8]. Επώαση στο σκοτάδι και διακοπή της αντίδρασης με 50 μ l/well διαλύματος NaOH 3N σε 15-20 λεπτά. Ακολουθεί μέτρηση της οπτικής πυκνότητας των δειγμάτων με τη βοήθεια φωτόμετρου, και ανάλυση των αποτελεσμάτων, σε μήκος κύματος 405 nm, με μήκος κύματος αναφοράς τα 630 nm (Stat 2100). Τα αποτελέσματα εκφράζονται τελικά ως δείκτης δέσμευσης (binding index, BI). Για την επιλογή του ορίου θετικού τίτλου (cutt-off) της μεθόδου χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή των απορροφήσεων των υγιών ατόμων με πρόσθεση 4 τυπικών αποκλίσεων, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

Η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση anti-PML αντισωμάτων στις βιοψίες ήπατος των ασθενών της μελέτης έγινε στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής και Κυτταρολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής Γ. Κ. Κουκούλη (εικόνες 1-6).

Αναλυτικά, η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε έχει ως εξής:

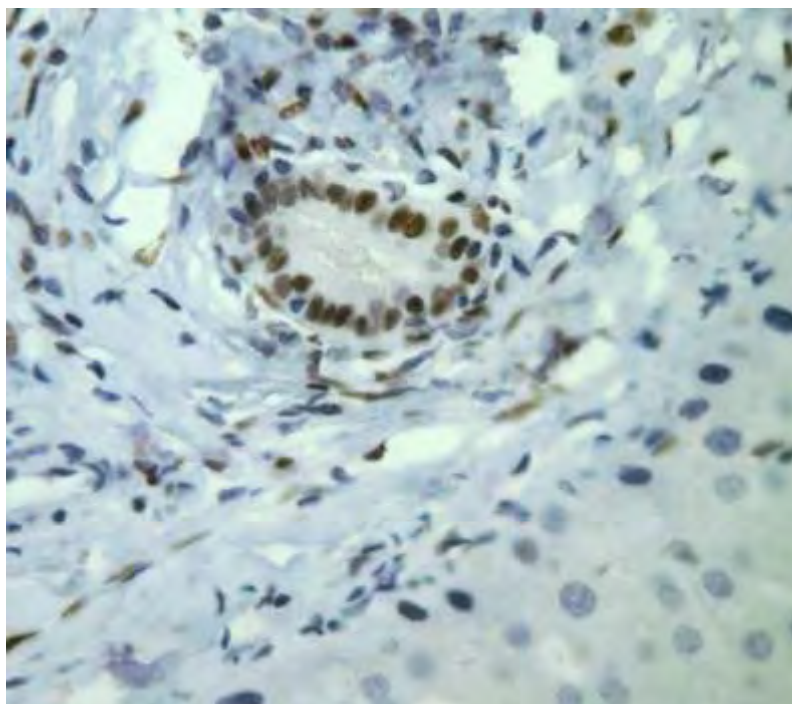
Π.2.2 ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΕΝΑΝΤΙ ΤΗΣ PML ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ ΣΕ ΒΙΟΨΙΕΣ ΗΠΑΤΟΣ, ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΠΧΚ ΚΑΙ ΟΜΑΔΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ / ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΕΣ ΧΡΩΣΕΙΣ

Τομές παραφίνης πάχους 3-5μ τοποθετήθηκαν σε ειδικά επιστρωμένα, με προσκολλητικό υλικό, υαλοπλακίδια και παρέμειναν σε 37⁰ C κατά το χρονικό διάστημα μιας νύχτας. Ακολούθως έγινε αποπαραφίνωση των τομών σε ξυλόλη και επανυδάτωση μέσω κατάλληλα διαβαθμισμένων αλκοολούχων διαλυμάτων.

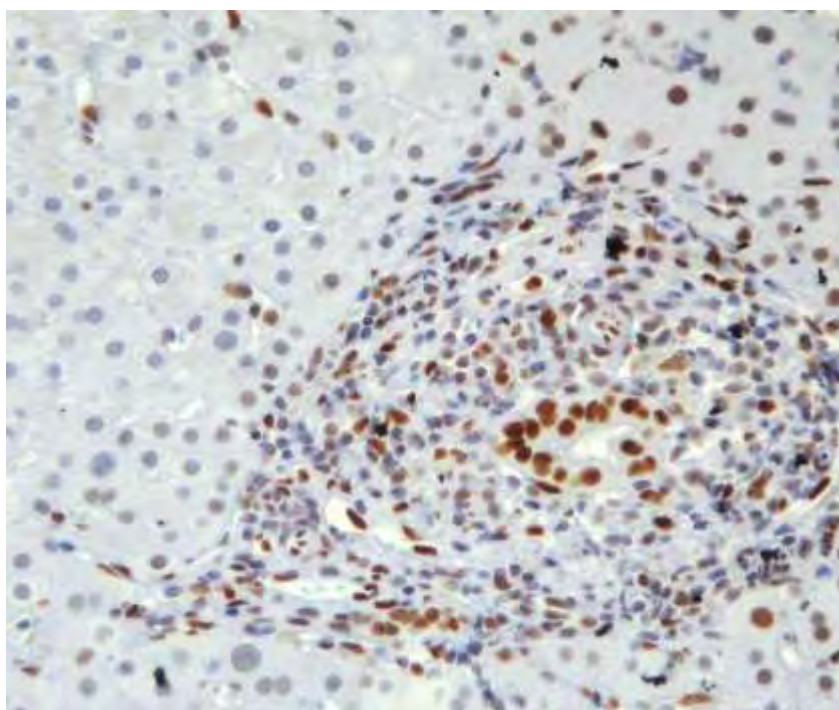
Ακολούθως τα πλακίδια τοποθετήθηκαν σε καλυμμένα δοχεία τύπου Coplin (γυάλινα) οι οποίες περιείχαν 0.01 mol/L sodium citrate buffer, pH 6.0. Αυτά τα δοχεία, τοποθετήθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων και υπέστησαν θερμική επεξεργασία τρεις φορές, επί πέντε λεπτά κάθε φορά, σε 700 W. Μετά την επεξεργασία στο φούρνο μικροκυμάτων τα πλακίδια αφέθηκαν να κρυσώσουν σε θερμοκρασία δωματίου επί δεκαπέντε λεπτά. Μετά ακολούθησε ξέπλυμα σε Tris-buffered saline και υπέστησαν διαδικασία περαιτέρω ανοσοχρώσης όπως παρατίθεται κατωτέρω.

- Τοποθέτηση των τομών σε διάλυμα υπεροξειδίου (H₂O₂) 3% για 10 λεπτά.
- Έκπλυση των τομών με απεσταγμένο νερό.
- Ενυδάτωση των τομών με διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση του αντισώματος σε κάθε τομή. Για τη σήμανση της PML πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της PML πρωτεΐνης (Monoclonal Mouse Anti-Human PML Protein, DAKO, clone: PG-M3, isotype IgG 1, kappa), σε αραιώση 1:50, για 30 λεπτά.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση του συστήματος ανιχνεύσεως (En Vision Detection System) για 30 λεπτά.
- Έκπλυση με ρυθμιστικό διάλυμα TBST.
- Τοποθέτηση DAB για 5 λεπτά.
- Έκπλυση με νερό βρύσης και απεσταγμένο νερό.
- Τοποθέτηση στις τομές αιματοξυλίνης 10% για 3 λεπτά.
- Έκπλυση με νερό βρύσης.
- Αφυδάτωση των τομών.
- Κάλυψη με καλυπτρίδες

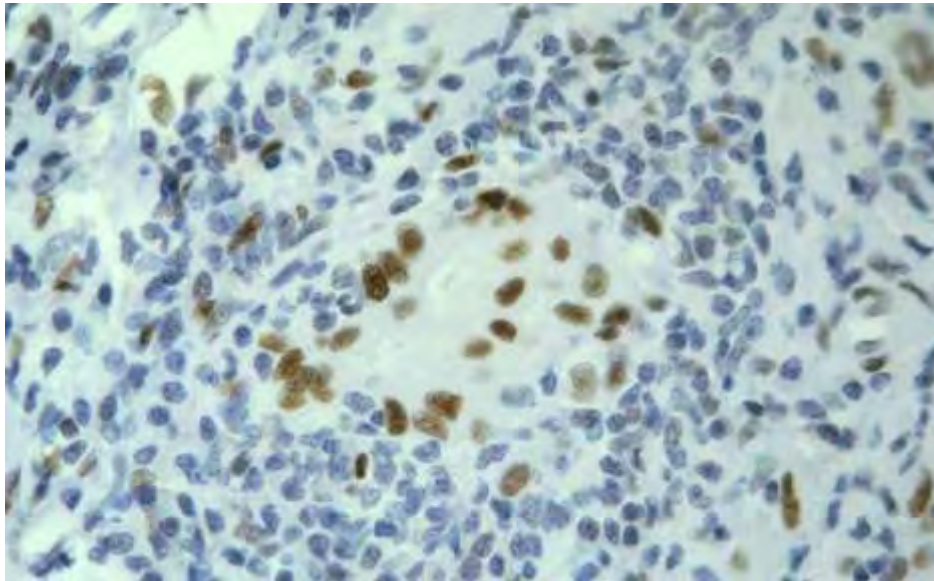
Ως εσωτερικός μάρτυρας θετικότητας χρησιμοποιήθηκε η έκφραση (χρώση) της PML πρωτεΐνης σε ενδοθήλια αγγείων. Ως αρνητικό control χρησιμοποιήθηκαν τομές στις οποίες αντικαταστάθηκε το πρωτογενές αντίσωμα με preimmune serum ή με τη μεμονωμένη χρήση χρωμογόνου.



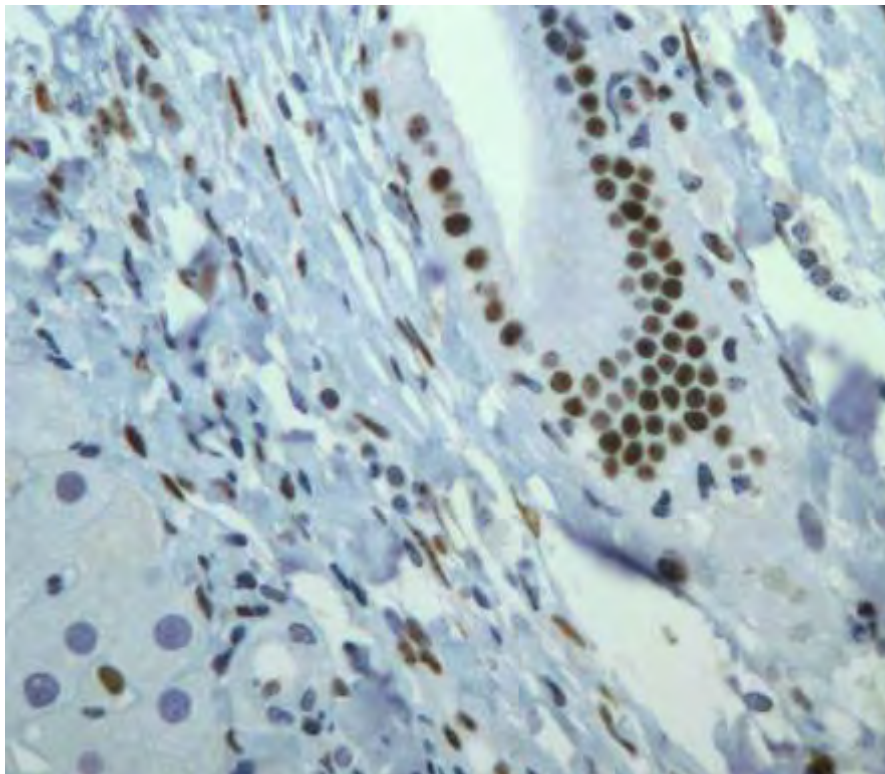
Εικόνα 1. Παρατηρείται ένας μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Αρχική μεγέθυνση 400X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



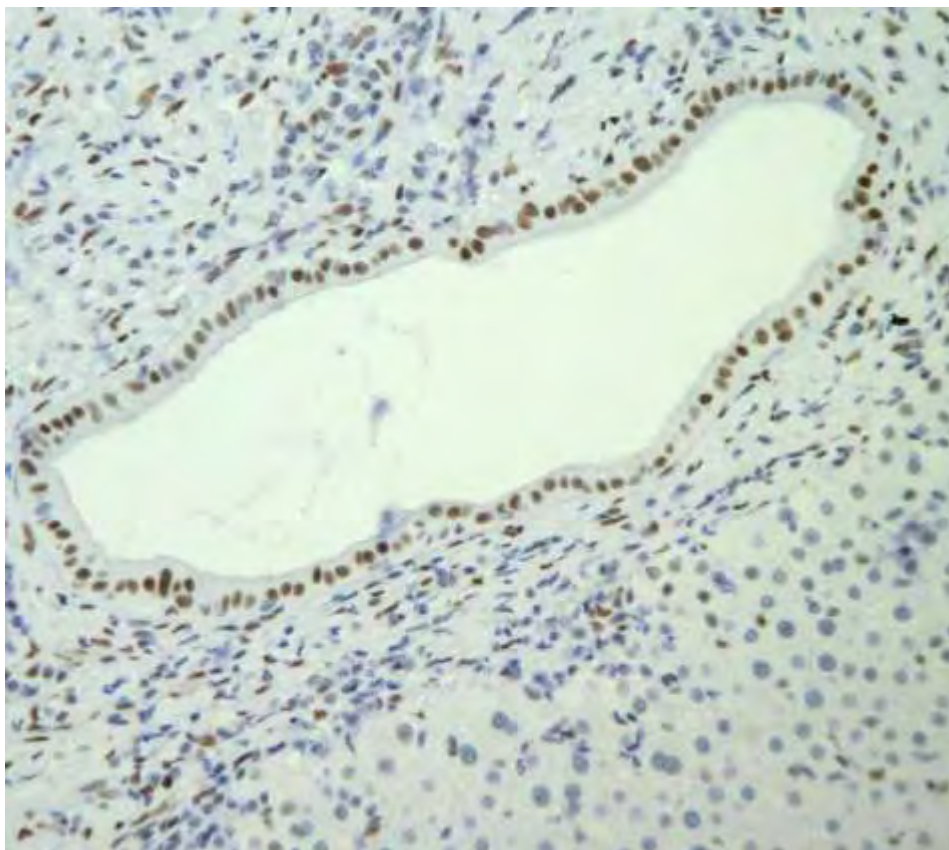
Εικόνα 2. Παρατηρείται ένας μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα μικρά πορίδια. Αρχική μεγέθυνση 200X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



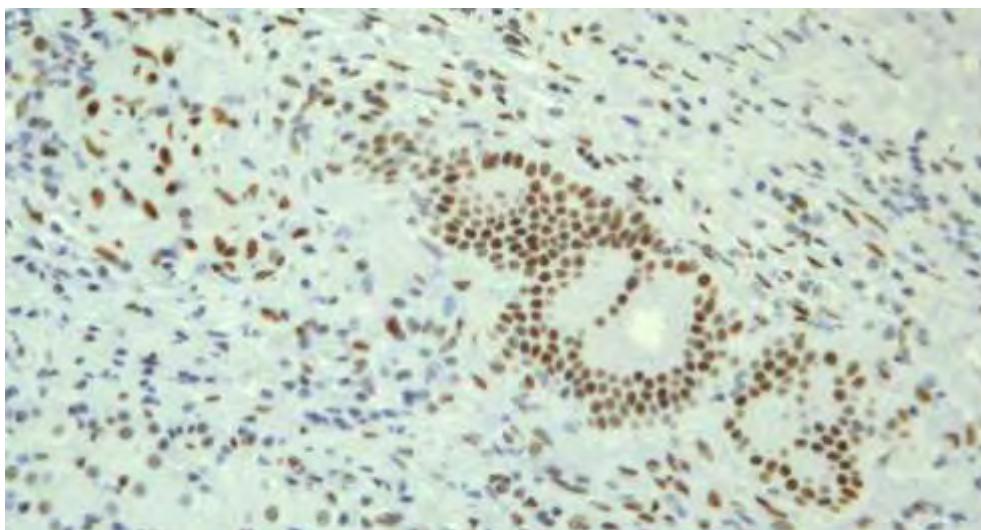
Εικόνα 3. Παρατηρείται ένας μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Αρχική μεγέθυνση 400X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



Εικόνα 4. Παρατηρείται ένας μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Αρχική μεγέθυνση 400X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



Εικόνα 5. Παρατηρείται ένας διατεταμένος μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Αρχική μεγέθυνση 200X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



Εικόνα 6. Παρατηρείται ένας μεσολόβιος πόρος σε βιοψία ασθενούς με ΠΧΚ. Σημειώνεται έντονη ανοσοχρώση στον πυρήνα των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου. Ανοσοχρώση παρατηρείται επίσης σε ορισμένα από τα περιβάλλοντα φλεγμονώδη κύτταρα. Αρχική μεγέθυνση 400X. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Για την ποσοτικοποίηση της έκφρασης των anti- PML αντισωμάτων στους πόρους των ασθενών και για την ακρίβεια στη σύγκριση μεταξύ των ασθενών και των διαφόρων ομάδων, θεσπίστηκε και χρησιμοποιήθηκε το PML score. Συγκεκριμένα, σε κάθε βιοψία ήπατος μετρήθηκε και καταγράφηκε ο συνολικός αριθμός των περιεχόμενων πυλαίων διαστημάτων. Ακολούθως, μετρήθηκε και καταγράφηκε ο αριθμός των πόρων που παρουσιάζουν θετική ανοσοϊστοχημική έκφραση για το αντίσωμα. Υπολογίστηκε στο πηλίκο: αριθμός των πόρων με θετική ανοσοϊστοχημική έκφραση / αριθμό πυλαίων διαστημάτων. Το αποτέλεσμα πολλαπλασιαζόταν x 2, στην περίπτωση που η ανιχνευόμενη έκφραση ήταν χαρακτηριστική και έντονη ώστε να είναι ορατή ακόμα και με τη χρησιμοποίηση χαμηλής μεγέθυνσης φακού από τον παρατηρητή. Έτσι η μέγιστη τιμή του PML score που μπορεί να προκύψει είναι 2 και η ελάχιστη 0. Όσοι παρουσίαζαν έστω και ελάχιστη ανίχνευση του αντισώματος χαρακτηρίζονταν ως PML θετικοί ενώ όσοι είχαν PML score 0 χαρακτηρίζονταν ως PML αρνητικοί.

II.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλοι οι στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν με τη χρήση του προγράμματος SPSS, 16^η έκδοση. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή \pm τυπικό σφάλμα. Τα ευρήματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις παρακάτω στατιστικές μεθόδους: unpaired t-test, Mann-Whitney U test (MWU), χ^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).

III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

III.1 Συσχέτιση του PML score με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων στον ορό, στο σύνολο των ασθενών της μελέτης

Προκειμένου να ελεγχθεί γενικότερα η συσχέτιση του PML score με διάφορα κλινικοεργαστηριακά δεδομένα στις χρόνιες ηπατοπάθειες, έγινε περαιτέρω στατιστική ανάλυση στο σύνολο των ασθενών της μελέτης (πίνακες 10-11).

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Συσχέτιση του PML score, με δημογραφικούς, βιοχημικούς και αιματολογικούς δείκτες, στο σύνολο των ασθενών

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΣΤΟ ΣΥΝΟΛΟ ΑΣΘΕΝΩΝ (n= 136)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
Ηλικία (έτη)	0.096	0.264 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.083	0.334 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.038	0.657 (Μ.Σ)
γ-GT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.354	<0.001*
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.296	<0.001*
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.049	0.572 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.245	0.004*
Ανοσοσφαιρίνη IgM (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.45	<0.001*
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.225	0.009*
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.061	0.481 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. Συσχέτιση του PML score, με παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, για το σύνολο των ασθενών

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ME TO PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ΑΦΘ) (n= 123)	0.47	< 0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ anti-MND (ΑΦΘ) (n= 128)	0.27	0.002 *
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (ELISA) (n = 89)	0.133	0.214 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (ELISA) (n = 70)	0.084	0.488 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-SLA/LP (ELISA) (n = 37)	0.34	0.039 *
ΤΙΤΛΟΣ anti-LKM (ELISA) (n = 8)	-0.433	0.284 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ ANA (ΑΦΘ) (n = 127)	-0.139	0.12 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ aSMA (ΑΦΘ) (n = 123)	-0.33	<0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ p- ANCA (ΑΦΘ) (n = 115)	-0.034	0.717 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ c- ANCA (ΑΦΘ) (n = 115)	0.011	0.91 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ PCA (ΑΦΘ) (n = 121)	-0.306	0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ GPA (ELISA) (n = 87)	-0.081	0.454 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-intrinsic factor (ELISA) (n = 25)	-0.139	0.507 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (ELISA) (n = 116)	0.136	0.145 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (ELISA) (n = 49)	-0.075	0.61 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (ELISA) (n = 58)	0.154	0.248 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-LC1 (ELISA) (n = 24)	0.251	0.237 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Ro52 (ELISA) (n = 33)	-0.063	0.726 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (ELISA) (n = 58)	0.155	0.245 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (ELISA) (n = 49)	0.029	0.842 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Από την ανάλυση των δεδομένων, στο σύνολο των ασθενών της μελέτης, προέκυψε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του PML score και των χολοστατικών ενζύμων (γ-GT, συντελεστής συσχέτισης= 0.354, $p < 0.001$ και ALP, συντελεστής συσχέτισης= 0.296, $p < 0.001$), της ανοσοσφαιρίνης IgM (συντελεστής συσχέτισης= 0.45, $p < 0.001$), των γ-σφαιρινών (συντελεστής συσχέτισης= 0.225, $p = 0.009$), του τίτλου των AMA (συντελεστής συσχέτισης= 0.47, $p < 0.001$) του τίτλου των anti-MND (συντελεστής συσχέτισης= 0.27, $p = 0.002$) και του τίτλου των anti-SLA/LP (συντελεστής συσχέτισης= 0.34, $p = 0.039$).

Επιπλέον, προέκυψε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ του PML score και της αλβουμίνης (συντελεστής συσχέτισης= -0.245, $p= 0.004$), του τίτλου των aSMA (συντελεστής συσχέτισης= -0.33, $p< 0.001$) και του τίτλου των PCA (συντελεστής συσχέτισης= -0.306, $p= 0.001$).

Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του PML score με άλλους παράγοντες (ηλικία), βιοχημικούς δείκτες [AST, ALT, Ολική Χολερυθρίνη (βιοψία)], δείκτες βιοσυνθετικής ικανότητας [χρόνο προθρομβίνης (βιοψία)] του ήπατος, παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων (anti-MND, anti-grp210, anti-sp100, anti-SLA/LP, anti-LKM, ANA, p- ANCA, c- ANCA, GPA, anti-intrinsic factor, anti-CL, anti-β2GPI, anti-actin, anti-LC1, anti-Ro52, anti-chromatin, anti-Histones).

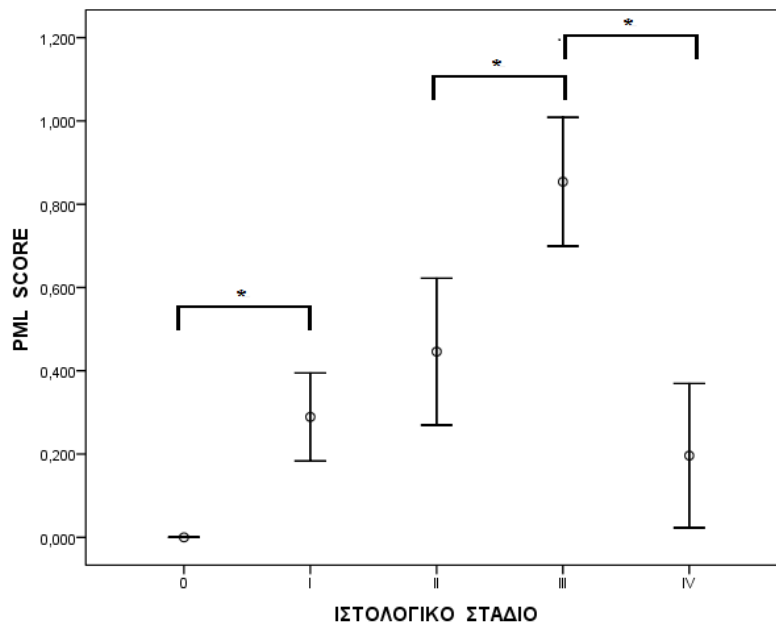
III.2 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στο σύνολο των ασθενών με ΠΧΚ

Η κατανομή των ασθενών της ομάδας σ.ΠΧΚ σε ιστολογικά στάδια (0, I, II, III, IV) φαίνεται στην εικόνα 7.



ΕΙΚΟΝΑ 7. Κατανομή ασθενών ομάδας σ.ΠΧΚ στα ιστολογικά στάδια της νόσου (0-IV)

Η συσχέτιση του anti-PML score με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στους ασθενείς των διαφόρων σταδίων. Συγκεκριμένα, το PML score βρέθηκε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο στους ασθενείς σταδίου I σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς ιστολογικές αλλοιώσεις ($p= 0.009$, Mann-Whitney U test) και σημαντικά μεγαλύτερο στο στάδιο III σε σχέση με το στάδιο II ($p= 0.048$, Mann-Whitney U test). Στο στάδιο IV το PML score βρέθηκε σημαντικά μικρότερο σε σχέση με το στάδιο III ($p= 0.04$, Mann-Whitney U test). Οι διαφορές αυτές απεικονίζονται στην εικόνα 8.



ΕΙΚΟΝΑ 8.

Συσχέτιση του PML score με το ιστολογικό στάδιο της νόσου

Μέση τιμή (Mean) ± τυπικό σφάλμα (SE) του PML score. * $p < 0.05$ (Mann-Whitney U test)

Στάδιο 0 (n= 14), στάδιο I (n= 23), στάδιο II (n= 13), στάδιο III (n= 8), στάδιο IV (n= 4).

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Από την ανάλυση των δεδομένων (πίνακες 12-13), στην ομάδα των ασθενών σ.ΠΧΚ, προέκυψε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του PML score και της συνολικής διάρκειας της νόσου (συντελεστής συσχέτισης= 0.242, $p = 0.05$). Επιπλέον το PML score συσχετίστηκε θετικά με τα χολοστατικά ένζυμα, μόνο κατά τη στιγμή της βιοψίας (γ -GT, συντελεστής συσχέτισης= 0.578, $p < 0.001$ και ALP, συντελεστής συσχέτισης= 0.328, $p = 0.009$), αλλά όχι και με τις τιμές στο τέλος της παρακολούθησης. Σημαντική στατιστικά θετική συσχέτιση προέκυψε μεταξύ του PML score με την τιμή της ανοσοσφαιρίνης IgM τόσο στη στιγμή της βιοψίας (συντελεστής συσχέτισης= 0.609, $p < 0.001$), όσο και στο τέλος της παρακολούθησης (συντελεστής συσχέτισης= 0.445, $p < 0.001$). Θετική συσχέτιση σημειώθηκε επίσης μεταξύ του PML score και του ιστολογικού σταδίου της νόσου (συντελεστής συσχέτισης= 0.514, $p < 0.001$), ενώ θετική συσχέτιση του PML score βρέθηκε τόσο με τον τίτλο των AMA (συντελεστής συσχέτισης= 0.63, $p < 0.001$ με ΑΦΘ, συντελεστής συσχέτισης= 0.444, $p = 0.001$ με Elisa) όσο και με τον τίτλο των MND (συντελεστής συσχέτισης= 0.313, $p = 0.013$).

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Συσχέτιση του PML score, με δημογραφικούς, αιματολογικούς, βιοχημικούς, ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες, στην ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΟΜΑΔΑ σ.ΠΧΚ (n= 62)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
Ηλικία (έτη)	-0.068	0.6 (Μ.Σ)
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη)	0.143	0.268 (Μ.Σ)
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη)	0.242	0.05*
AST (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.18	0.16 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.061	0.64 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.071	0.586 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.054	0.674 (Μ.Σ)
γ-GT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.578	< 0.001*
γ-GT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.194	0.131 (Μ.Σ)
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.328	0.009*
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.201	0.117 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.224	0.08 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.012	0.925 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.113	0.382 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.109	0.4 (Μ.Σ)
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.609	< 0.001*
Ανοσοσφαιρίνη M (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.445	< 0.001*
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.114	0.378 (Μ.Σ)
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.028	0.828 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.077	0.553 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.019	0.885 (Μ.Σ)
Ιστολογικό στάδιο νόσου	0.514	< 0.001*
Mayo Risk Score (ΒΙΟΨΙΑ)	0.052	0.686 (Μ.Σ)
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.107	0.408 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Από την άλλη πλευρά, στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση προέκυψε μεταξύ του PML score και του τίτλου των aSMA (συντελεστής συσχέτισης= -0.5, $p < 0.001$), όπως και με τον τίτλο

των PCA (συντελεστής συσχέτισης= -0.445, $p < 0.001$).

Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του PML score με άλλους παράγοντες (ηλικία, διάρκεια νόσου ως τη βιοψία), βιοχημικούς δείκτες [AST (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), ALT (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), ολική χολερυθρίνη (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), γ-σφαιρίνες (βιοψία+τέλος παρακολούθησης)], δείκτες βιοσυνθετικής ικανότητας [αλβουμίνη (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), χρόνος προθρομβίνης (βιοψία+τέλος παρακολούθησης)] του ήπατος, προγνωστικούς δείκτες / δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία [Mayo Risk Score (βιοψία+τέλος παρακολούθησης)], παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων (anti-gp210, anti-sp100, anti-SLA/LP, anti-LKM, ANA, p- ANCA, c- ANCA, GPA, anti-intrinsic factor, anti-CL, anti-β2GPI, anti-actin, anti-LC1, anti-Ro52, anti-chromatin, anti-Histones).

ΠΙΝΑΚΑΣ 13. Συσχέτιση του PML score, με παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, για την ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ΑΦΘ) (n= 62)	0.63	< 0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ELISA) (n= 49)	0.444	0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ anti-MND (ΑΦΘ) (n= 62)	0.313	0.013 *
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (ELISA) (n= 60)	0.017	0.9 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (ELISA) (n= 62)	0.138	0.29 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-SLA/LP (ELISA) (n= 12)	-0.04	0.893 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ ANA (ΑΦΘ) (n= 62)	-0.17	0.186 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ aSMA (ΑΦΘ) (n= 62)	-0.5	< 0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ p- ANCA (ΑΦΘ) (n= 62)	-0.036	0.78 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ c- ANCA (ΑΦΘ) (n= 62)	0.017	0.9 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ PCA (ΑΦΘ) (n= 62)	-0.445	< 0.001 *
ΤΙΤΛΟΣ GPA (ELISA) (n= 55)	-0.131	0.34 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-intrinsic factor (ELISA) (n= 18)	-0.218	0.39 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (ELISA) (n= 62)	0.001	1 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (ELISA) (n= 30)	-0.018	0.924 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (ELISA) (n= 50)	0.182	0.21 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-LC1 (ELISA) (n= 15)	0.372	0.172 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Ro52 (ELISA) (n= 31)	-0.081	0.67 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (ELISA) (n= 57)	0.163	0.22 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (ELISA) (n= 48)	0.029	0.84 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 14. Συσχέτιση του PML score με δημογραφικούς, αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες, για την ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score (n= 26)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score (n= 36)	ΤΙΜΗ p
ΗΛΙΚΙΑ (m. ± SE)	54.7 ± 2.2	55.17 ± 1.7	0.73 (M.Σ) [¥]
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη) (m. ± SE)	4.5 ± 0.8	3 ± 0.6	0.211 (M.Σ) [¥]
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη) (m. ± SE)	10.38 ± 1.02	7.9 ± 0.7	0.046 ^{* ¥}
ΦΥΛΟ ΑΝΔΡΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ	4 (15.4) 22 (84.6)	3 (8.3) 33 (91.7)	0.44 (M.Σ) ^{\$}
AST (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	51.6 ± 9.3	40.4 ± 5.3	0.156 (M.Σ) [¥]
AST (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	29.1 ± 2.1	30 ± 3.05	0.732 (M.Σ) [¥]
ALT (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	69.3 ± 17	53 ± 7.8	0.67 (M.Σ) [¥]
ALT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	30.8 ± 3.08	33.6 ± 3.2	0.55 (M.Σ) [¥]
γ-GT (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	184.2 ± 38.56	53.65 ± 6.9	< 0.001 ^{* ¥}
γ-GT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	68 ± 20	34.6 ± 4.3	0.201 (M.Σ) [¥]
ALP (αν. όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	196.56 ± 26.3	124.81 ± 10.61	0.012 ^{* ¥}
ALP (αν. όριο 104 U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	110 ± 8.44	92 ± 6.9	0.06 ^{# ¥}
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	0.8 ± 0.08	0.6 ± 0.04	0.06 ^{# ¥}
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	0.84 ± 0.2	0.6 ± 0.04	0.45 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	4.2 ± 0.1	4.4 ± 0.07	0.39 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	4.08 ± 0.1	4.2 ± 0.08	0.35 (M.Σ) [¥]
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	329.3 ± 38.7	137.6 ± 14.5	< 0.001 ^{* ¥}
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	223.8 ± 23.2	135.4 ± 12.8	0.002 ^{* ¥}
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	3.5 ± 0.14	3.3 ± 0.1	0.27 (M.Σ) [¥]
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	3.4 ± 0.1	3.3 ± 0.1	0.753 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	11.8 ± 0.16	11.9 ± 0.2	0.95 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	12.5 ± 0.4	12.2 ± 0.3	0.573 (M.Σ) [¥]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. #Τάση για στατιστική σημαντικότητα. ¥Mann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. \$Fisher's exact test. M.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Διαχωρίζοντας τους ασθενείς της ομάδας σ.ΠΧΚ σε PML (+) [θετικούς] και PML (-) [αρνητικούς] και με σύγκριση των 2 ομάδων μεταξύ τους, επιβεβαιώσαμε τη διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες, με μεγαλύτερες τιμές στους PML (+), ως προς τη συνολική διάρκεια της νόσου ($p=0.046$), τα χολοστατικά ένζυμα (ALP, $p=0.012$ και γ -GT, $p<0.001$) κατά τη βιοψία, την ανοσοσφαιρίνη M (κατά τη βιοψία, $p<0.001$, στο τέλος παρακολούθησης, $p=0.002$) ενώ οι PML (+) ασθενείς είχαν την τάση να παρουσιάσουν μεγαλύτερες τιμές ALP (στο τέλος παρακολούθησης) και ολικής χολερυθρίνης (στη βιοψία) (και για τα δύο: $p=0.06$). Δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες, ως προς το φύλο, λοιπούς βιοχημικούς δείκτες, δείκτες βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος (πίνακας 14).

Η σύγκριση των 2 ομάδων [PML (+) vs (-)] ως προς τα αυτοαντισώματα, επιβεβαίωσε τη μεγαλύτερη επίπτωση στους PML (+), των anti-MND ($p=0.024$) και των AMA με ELISA ($p=0.002$), και τη μεγαλύτερη επίπτωση στους PML (-), των aSMA ($p<0.001$) και των PCA ($p<0.001$). Οι PML (+) είχαν την τάση για μεγαλύτερη θετικότητα AMA με ΑΦΘ ($p=0.068$). Δεν υπήρχαν διαφορές στις 2 ομάδες, ως προς τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα (πίνακας 15).

Παρατηρούμε επίσης ότι το PML score είναι θετικό σε 14 από τους 43 (ποσοστό 32,6%) MND αρνητικούς με ΑΦΘ ασθενείς, επιτυγχάνοντας στην ομάδα αυτή των ασθενών ανίχνευση ειδικών για την ΠΧΚ ANA, που δεν ανιχνεύτηκαν με τον ΑΦΘ. Επιπλέον, 7 στους 19 (ποσοστό 36,8%) MND θετικούς ασθενείς ήταν αρνητικοί για anti-PML (πίνακας 15).

Οι 2 ομάδες [PML (+) vs (-)] επιπλέον συγκρίθηκαν ως προς διάφορα κλινικά χαρακτηριστικά, τη λήψη θεραπείας (ΑΔΧΟ ή / και άλλων ανοσοκατασταλτικών) και τη συνύπαρξη άλλων νοσημάτων (αυτοάνοσων νοσημάτων, συστηματικών νοσημάτων όπως κακοήθεια, σακχαρώδης διαβήτης, στεφανιαία νόσος). Για τους PML (+) ασθενείς βρέθηκε μεγαλύτερη επίπτωση συμπτωματικής νόσου, τόσο στη διενέργεια της βιοψίας ($p=0.001$), όσο και στο τέλος της παρακολούθησης ($p=0.05$), σε σχέση με τους PML (-). Δεν υπήρξε διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες στην παρουσία ασκίτη (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), άλλης αυτοάνοσης νόσου, άλλου συστηματικού νοσήματος, ιστορικού ουρολοιμώξεων, θεραπείας με ΑΔΧΟ ή άλλο ανοσοκατασταλτικό (πίνακας 16).

Τέλος, οι ομάδες PML (+) / (-) συγκρίθηκαν ως προς την παρουσία κίρρωσης, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και ως προς ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες. Βρέθηκε στατιστικά σημαντική υπεροχή των PML (+) ασθενών, έναντι των PML (-), ως προς το προχωρημένο ιστολογικό στάδιο (III, IV) έναντι των αρχικών σταδίων (χωρίς αλλοίωση, I, II) ($p=0.001$). Επιπλέον υπήρξε τάση για μεγαλύτερη επίπτωση επιπλοκών κατά τη βιοψία, στους PML (+) ασθενείς ($p=0.07$). Δεν υπήρξε διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες στην παρουσία κίρρωσης (βιοψία+

τέλος παρακολούθησης), ηπατικής εγκεφαλοπάθειας (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), στην έκβαση (θάνατος, μεταμόσχευση), στην παρουσία επιπλοκών (τέλος παρακολούθησης), στο Mayo Risk Score (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), στη θετικότητα του Pares score (πίνακας 17).

ΠΙΝΑΚΑΣ 15. Σύγκριση του PML score, με την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό, για την ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score	ΤΙΜΗ p
ΠΡΟΤΥΠΟ MND (ΑΦΘ) (n= 62) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	12 (46.2) 14 (53.8)	7 (19.4) 29 (80.6)	0.024* ^Ξ
ΤΙΤΛΟΣ AMA (n= 49) (ELISA) (m. ± SE)	2.02 ± 0.46	0.86 ± 0.28	0.002* [¥]
AMA (ΑΦΘ) (n= 62) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	26 (100) 0 (0)	31 (86.1) 5 (13.9)	0.068 [#] \$
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (n= 62) (ELISA) (m. ± SE)	12.19 ± 7.15	7.4 ± 2.04	0.175 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (n= 60) (ELISA) (m. ± SE)	12.2 ± 8.6	4.6 ± 0.8	1 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-SLA/LP (n= 12) (ELISA) (m. ± SE)	4.7 ± 0.16	4.1 ± 0.83	0.94 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-intrinsic factor (n= 18) (ELISA) (m. ± SE)	41.7 ± 12.3	20.7 ± 12.8	0.55 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (n= 62) (ELISA) (m. ± SE)	88.2 ± 13.8	80.4 ± 10.2	0.7 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (n= 30) (ELISA) (m. ± SE)	3.4 ± 1.7	1.4 ± 0.5	0.73 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (n= 50) (ELISA) (m. ± SE)	13.3 ± 2.25	10.9 ± 1.2	0.53 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-LC1 (n= 15) (ELISA) (m. ± SE)	0.2 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.22 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-Ro52 (n= 31) (ELISA) (m. ± SE)	32.4 ± 13.2	30.35 ± 13.5	0.36 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (n= 57) (ELISA) (m. ± SE)	7.2 ± 1.9	4.4 ± 0.4	0.22 (M.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (n= 48) (ELISA) (m. ± SE)	0.28 ± 0.05	0.63 ± 0.26	0.95 (M.Σ) [¥]
aSMA (ΑΦΘ) (n= 62) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	5 (19.2) 21 (80.8)	24 (66.7) 12 (33.3)	< 0.001* ^Ξ
ΤΙΤΛΟΣ GPA (n= 55) (ELISA) (m. ± SE)	22 ± 7.7	33 ± 9.5	0.29 (M.Σ) [¥]
PCA (ΑΦΘ) (n= 62) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	4 (15.4) 22 (84.6)	22 (61.1) 14 (38.9)	< 0.001* ^Ξ

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. [¥]Mann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. \$Fisher's exact test. M.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 16. Συσχέτιση του PML score με κλινικά χαρακτηριστικά, λήψη θεραπείας και συνύπαρξη άλλων νοσημάτων, για την ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score (n= 26)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score (n= 36)	ΤΙΜΗ p
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΒΙΟΨΙΑ) ΝΑΙ ΟΧΙ	20 (76.9) 6 (23.1)	13 (36.1) 23 (63.9)	0.001* [‡]
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) ΝΑΙ ΟΧΙ	11 (42.3) 15 (57.7)	7 (19.4) 29 (80.6)	0.05* ^{\$}
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΒΙΟΨΙΑ) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (3.8) 25 (96.2)	0 (0) 36 (100)	0.42 (Μ.Σ) ^{\$}
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (3.8) 25 (96.2)	2 (5.6) 34 (94.4)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΝΑΙ ΟΧΙ	15 (57.7) 11 (42.3)	29 (80.6) 7 (19.4)	0.08 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΝΑΙ ΟΧΙ	7 (26.9) 19 (73.1)	11 (30.6) 25 (64.9)	0.76 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΝΑΙ ΟΧΙ	3 (11.5) 23 (88.5)	5 (13.9) 31 (86.1)	0.8 (Μ.Σ) [‡]
ΛΗΨΗ ΑΔΧΟ ΝΑΙ ΟΧΙ	25 (96.2) 1 (3.8)	29 (80.6) 7 (19.4)	0.124 (Μ.Σ) ^{\$}
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΝΑΙ ΟΧΙ	7 (26.9) 19 (73.1)	6 (16.7) 30 (83.3)	0.32 (Μ.Σ) [‡]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [‡]χ² με διόρθωση κατά Yates. ^{\$}Fisher's exact test.
Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 17. Συσχέτιση του PML score, με παρουσία κίρρωσης / ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες, για την ομάδα σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score	ΤΙΜΗ p
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	2 (7.7) 24 (92.3)	2 (5.6) 34 (94.4)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	5 (19.2) 21 (80.8)	4 (11.1) 32 (88.9)	0.47 (Μ.Σ) ^{\$}
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (3.8) 25 (96.2)	0 (0) 36 (100)	0.42 (Μ.Σ) ^{\$}
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	2 (7.7) 24 (92.3)	1 (2.8) 35 (97.2)	0.6 (Μ.Σ) ^{\$}
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ (n= 62) 0 – I – II III – IV	16 (61.5) 10 (38.5)	34 (94.4) 2 (5.6)	0.001 ^{* Ξ}
ΘΑΝΑΤΟΣ – ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (3.8) 25 (96.2)	2 (5.6) 34 (94.4)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	3 (11.5) 23 (88.5)	0 (0) 36 (100)	0.07 ^{# \$}
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) ΝΑΙ ΟΧΙ	5 (19.2) 21 (80.8)	3 (8.3) 33 (91.7)	0.262 (Μ.Σ) ^{\$}
Mayo Risk Score (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE) (n= 62)	4.1 ± 0.2	3.8 ± 0.1	0.59 (Μ.Σ) [¥]
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE) (n= 62)	4.5 ± 0.25	4.12 ± 0.16	0.201 (Μ.Σ) [¥]
Pares score (Κριτήρια) (n=41) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	13 (81.2) 3 (18.8)	18 (72) 7 (28)	0.7 (Μ.Σ) ^{\$}

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). ^{*}Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. [¥]Mann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. ^{\$}Fisher's exact test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 18. Σύγκριση του PML score στις διάφορες υποομάδες ασθενών, της ομάδας σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	PML score (m. ± SE)	ΤΙΜΗ p
Φύλο (n= 62) Γυναίκες / Άνδρες (55 / 7)	0.33 ± 0.07 / 0.3 ± 0.1	0.6 (Μ.Σ) [¥]
AMA (ΑΦΘ) (n= 62) Θετικοί / Αρνητικοί (57 / 5)	0.35 ± 0.07 / 0	0.06 ^{#¥}
AMA (ELISA) (n= 49) Θετικοί / Αρνητικοί (20 / 29)	0.5 ± 0.11 / 0.2 ± 0.1	0.004 ^{*¥}
anti-MND (ΑΦΘ) (n= 62) Θετικά / Αρνητικά (19 / 43)	0.54 ± 0.14 / 0.23 ± 0.07	0.02 ^{*¥}
aSMA (ΑΦΘ) (n= 62) Θετικά / Αρνητικά (29 / 33)	0.08 ± 0.05 / 0.5 ± 0.1	< 0.001 ^{*¥}
PCA (ΑΦΘ) (n= 62) Θετικά / Αρνητικά (26 / 36)	0.1 ± 0.08 / 0.47 ± 0.09	< 0.001 ^{*¥}
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) Ναι / Όχι (1 / 61)	0 / 0.32 ± 0.06	0.732 (Μ.Σ) [¥]
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (3 / 59)	0 / 0.33 ± 0.07	0.256 (Μ.Σ) [¥]
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) Ναι / Όχι (1 / 61)	0 / 0.32 ± 0.06	0.732 (Μ.Σ) [¥]
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (3 / 59)	0.04 ± 0.04 / 0.33 ± 0.07	0.8 (Μ.Σ) [¥]
ΛΗΨΗ ΑΔΧΟ (n= 62) Ναι / Όχι (54 / 8)	0.36 ± 0.07 / 0.04 ± 0.05	0.06 ^{#¥}
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ (n= 62) Ναι / Όχι (13 / 49)	0.5 ± 0.2 / 0.28 ± 0.07	0.236 (Μ.Σ) [¥]
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) Ναι / Όχι (4 / 58)	0.2 ± 0.17 / 0.3 ± 0.07	1 (Μ.Σ) [¥]
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (9 / 53)	0.4 ± 0.2 / 0.3 ± 0.07	0.5 (Μ.Σ) [¥]
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) 0 – I – II / III – IV (50 / 12)	0.25 ± 0.07 / 0.6 ± 0.1	0.002 ^{*¥}

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. [¥]Mann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 19. Σύγκριση του PML score στις διάφορες υποομάδες ασθενών, της ομάδας σ.ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	PML score (m. ± SE)	ΤΙΜΗ p
Pares score (Κριτήρια) (n=41) Θετικό / Αρνητικό (31 / 10)	0.31 ± 0.1 / 0.1 ± 0.06	0.38 (Μ.Σ) [‡]
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 62) Ναι / Όχι (44 / 18)	0.24 ± 0.07 / 0.52 ± 0.14	0.036 ^{* ‡}
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 62) Ναι / Όχι (18 / 44)	0.32 ± 0.13 / 0.32 ± 0.08	0.87 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ (n= 62) Ναι / Όχι (8 / 54)	0.46 ± 0.25 / 0.3 ± 0.07	0.82 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) Ναι / Όχι (33 / 29)	0.46 ± 0.1 / 0.17 ± 0.08	0.003 ^{* ‡}
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (18 / 44)	0.47 ± 0.14 / 0.26 ± 0.07	0.06 ^{# ‡}
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 62) Ναι / Όχι (3 / 59)	0.25 ± 0.1 / 0.33 ± 0.07	0.29 (Μ.Σ) [‡]
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (8 / 54)	0.35 ± 0.17 / 0.32 ± 0.07	0.4 (Μ.Σ) [‡]
ΘΑΝΑΤΟΣ / ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 62) Ναι / Όχι (3 / 59)	0.07 ± 0.07 / 0.33 ± 0.07	0.52 (Μ.Σ) [‡]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). ^{*}Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. [‡]Mann-Whitney U test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Διαχωρίζοντας τους ασθενείς στις διάφορες υποομάδες (άνδρες vs γυναίκες, θετικοί vs αρνητικοί για τα διάφορα αυτοαντισώματα, θετικοί vs αρνητικοί για την παρουσία κίρρωσης, επιπλοκών, συμπτωμάτων, ασκίτη, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, λήψη θεραπείας κτλ.) και συγκρίνοντας το PML score στις υποομάδες, επιβεβαιώσαμε τη στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή του PML score στους AMA (+) με Elisa (p= 0.004), στους MND (+) (p= 0.02), στους aSMA (-) (p< 0.001), στους PCA (-) (p< 0.001), στους ασθενείς με προχωρημένο (III, IV) ιστολογικό στάδιο (p= 0.002), στους ασθενείς χωρίς συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων (p= 0.036), στους συμπτωματικούς κατά τη βιοψία ασθενείς (p= 0.003). Το PML score έχει την τάση να είναι μεγαλύτερο στους AMA (+) με ΑΦΘ (p= 0.06), στους ασθενείς που ελάμβαναν ΑΔΧΟ (p= 0.06)

και στους συμπτωματικούς στο τέλος της παρακολούθησης ασθενείς ($p=0.06$). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το PML score ανάμεσα σε άνδρες / γυναίκες, στους ασθενείς με ή χωρίς ασκίτη (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς με ή χωρίς ηπατική εγκεφαλοπάθεια (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), σε αυτούς που έλαβαν και σ' αυτούς που δεν έλαβαν άλλο ανοσοκατασταλτικό, σε κιρρωτικούς και μη ασθενείς (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς με θετικό ή αρνητικό Pares score, σε αυτούς που είχαν και σ' αυτούς που δεν είχαν άλλο συστηματικό νόσημα, σε αυτούς που είχαν και σ' αυτούς που δεν είχαν ιστορικό ουρολοιμώξεων, σε αυτούς που παρουσίασαν και σ' αυτούς που δεν παρουσίασαν επιπλοκές ηπατικής νόσου (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς με κακή έκβαση έναντι αυτών χωρίς κακή έκβαση ως προς τα τελικά σημεία (θάνατος, μεταμόσχευση) (πίνακες 18-19).

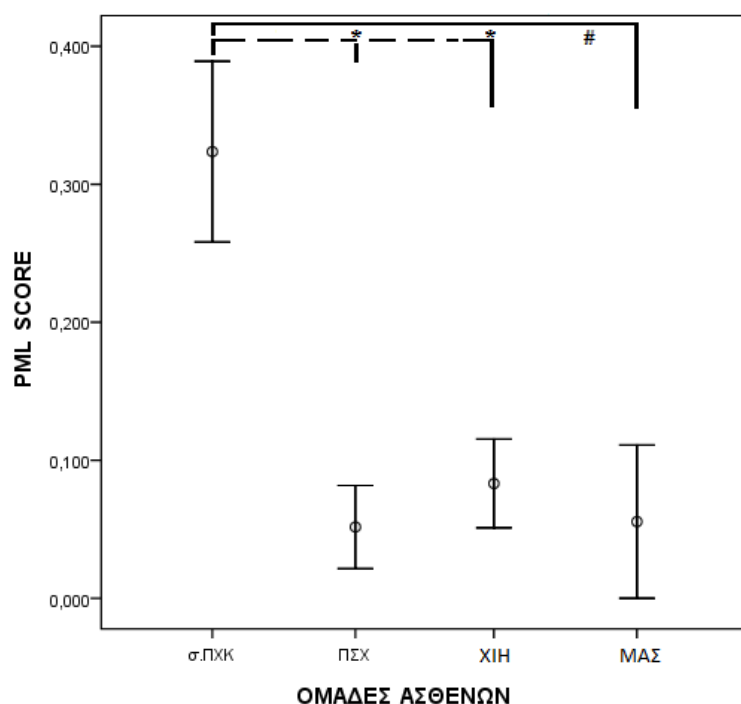
ΠΙ.3 Σύγκριση του PML score μεταξύ του συνόλου των ασθενών με ΠΧΚ [συμπεριλαμβανομένης και της πρώιμης – αναφερόμενη ως συνολική ομάδα ΠΧΚ (σ.ΠΧΚ)] και των ομάδων ελέγχου

Το PML score βρέθηκε σημαντικά μεγαλύτερο στην ομάδα της σ.ΠΧΚ, σε σχέση με τις εξής ομάδες ασθενών: 0.3 ± 0.07 στη σ.ΠΧΚ vs 0.05 ± 0.03 για την ΠΣΧ, $p=0.005$, 0.3 ± 0.07 στη σ.ΠΧΚ vs 0.08 ± 0.03 για τις ΧΙΗ, $p=0.05$. Είχε την τάση να είναι μεγαλύτερο στη σ.ΠΧΚ έναντι της ΜΑΣ (0.3 ± 0.07 vs 0.06 ± 0.06 , $p=0.07$). Μεταξύ των υπολοίπων ομάδων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, ως προς το PML score (πίνακας 20 και εικόνα 9).

ΠΙΝΑΚΑΣ 20. Σύγκριση του PML score στη σ.ΠΧΚ, με τις άλλες ηπατικές νόσους

σ.ΠΧΚ (n= 62) PML score (Mean \pm SE)	ΗΠΑΤΙΚΟ ΝΟΣΗΜΑ PML score (Mean \pm SE)	ΤΙΜΗ p
0.3 ± 0.07	0.05 ± 0.03 (ΠΣΧ) (n= 29) 1	$0.005^{\text{¥}*}$
0.3 ± 0.07	0.08 ± 0.03 (ΧΙΗ) (n= 36) $^{\text{¥}}$ (Μ.Σ)	$0.05^{\text{¥}*}$
0.3 ± 0.07	0.06 ± 0.06 (ΜΑΣ) (n= 9) J	$0.07^{\text{¥}\#}$

Μέση τιμή \pm τυπικό σφάλμα (Mean \pm SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. #Τάση για στατιστική σημαντικότητα. $^{\text{¥}}$ Mann-Whitney U test. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



ΕΙΚΟΝΑ 9.

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (SE) του PML score, σε κάθε ομάδα ασθενών

σ.ΠΧΚ (n= 62), ΠΣΧ (n= 29), ΧΙΗ (n= 36), ΜΑΣ (n= 9)

Mann-Whitney U test, *p ≤ 0.05, #p = 0.07 (Τάση για στατιστική σημαντικότητα)

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Το αντίσωμα ανιχνεύτηκε ανοσοιστοχημικά στο 41,9 % των ασθενών με ΠΧΚ (95% CI: 29.6 – 54.2%) vs 20,3% (95% CI: 11.1 – 29.5%) στο σύνολο των άλλων ασθενών, η δε ειδικότητά του έφτασε το 79,7 % (πίνακας 21). Η θετική προγνωστική αξία της ανίχνευσης του αντισώματος έφτασε το 63,4%, ενώ η αρνητική προγνωστική αξία το 62,1%.

ΠΙΝΑΚΑΣ 21. Συνολική Διαγνωστική ακρίβεια του PML score στη σ.ΠΧΚ vs σύνολο ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα

	σ.ΠΧΚ (n= 62) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΥΠΟΛΟΙΠΟΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ (n= 74) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΤΙΜΗ p
PML			
ΘΕΤΙΚΟ	26 (41.9)	15 (20.3)	0.004* ^Ξ
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	36 (58.1)	59 (79.7)	
PML score (Mean ± SE)	0.3 ± 0.07	0.06 ± 0.02	0.001* ^Υ

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (Mean ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. ^ΥMann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Στη συνέχεια χωρίσαμε την ομάδα σ.ΠΧΚ σε 2 υποομάδες: την ομάδα των ασθενών με ΠΧΚ (n= 42) και αυτών με πρόιμη ΠΧΚ (n= 20), με βάση τα αναφερόμενα στην περιγραφή των ασθενών της μελέτης μας κριτήρια και προχωρήσαμε σε ξεχωριστή μελέτη της ομάδας των ασθενών με ΠΧΚ και της ομάδας με πρόιμη ΠΧΚ.

III.4 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στους ασθενείς με ΠΧΚ (χωρίς να συμπεριλαμβάνονται οι ασθενείς με πρόιμη ΠΧΚ)

Από την ανάλυση των δεδομένων (πίνακες 22-23), στην ομάδα των ασθενών με ΠΧΚ, προέκυψε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ του PML score και της γ-GT κατά τη στιγμή της βιοψίας (συντελεστής συσχέτισης= 0.54, $p < 0.001$). Σημαντική στατιστικά θετική συσχέτιση προέκυψε μεταξύ του PML score με της ανοσοσφαιρίνης IgM τόσο στη στιγμή της βιοψίας (συντελεστής συσχέτισης = 0.54, $p < 0.001$), όσο και στο τέλος της παρακολούθησης (συντελεστής συσχέτισης= 0.36, $p = 0.02$). Θετική συσχέτιση σημειώθηκε επίσης μεταξύ του PML score και του τίτλου των AMA με ΑΦΘ (συντελεστής συσχέτισης= 0.56, $p < 0.001$).

Από την άλλη πλευρά, στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση προέκυψε μεταξύ του PML score και του τίτλου των aSMA (συντελεστής συσχέτισης= -0.5, $p = 0.001$), όπως και με τον τίτλο των PCA (συντελεστής συσχέτισης= -0.43, $p = 0.005$).

Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του PML score με άλλους παράγοντες (ηλικία, διάρκεια νόσου ως τη βιοψία, συνολική διάρκεια της νόσου), βιοχημικούς δείκτες [AST (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), ALT (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), γ-GT (τέλος παρακολούθησης), ALP (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), Ολική Χολερυθρίνη (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), γ-σφαιρίνες (βιοψία+τέλος παρακολούθησης)], δείκτες βιοσυνθετικής ικανότητας [αλβουμίνη (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), χρόνος προθρομβίνης (βιοψία+τέλος

παρακολούθησης)] του ήπατος, ιστολογικούς, προγνωστικούς δείκτες / δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία [ιστολογικό στάδιο νόσου, Mayo Risk Score (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης)], παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων (AMA με ELISA, anti-MND, anti-gp210, anti-sp100, anti-SLA/LP, anti-LKM, ANA, p- ANCA, c- ANCA, GPA, anti-intrinsic factor, anti-CL, anti-β2GPI, anti-actin, anti-LC1, anti-Ro52, anti-chromatin, anti-Histones).

ΠΙΝΑΚΑΣ 22. Συσχέτιση του PML score, με δημογραφικούς, αιματολογικούς, βιοχημικούς, ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες, στην ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΟΜΑΔΑ ΠΧΚ (n= 42)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
Ηλικία (έτη)	-0.18	0.26 (Μ.Σ)
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη)	0.152	0.335 (Μ.Σ)
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη)	0.2	0.21 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.12	0.44 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.05	0.7 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.13	0.4 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.004	1 (Μ.Σ)
γ-GT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.54	< 0.001*
γ-GT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.2	0.2 (Μ.Σ)
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.27	0.08 (Μ.Σ)
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.18	0.25 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.2	0.2 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.22	0.16 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.17	0.29 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.09	0.59 (Μ.Σ)
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.54	< 0.001*
Ανοσοσφαιρίνη M (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.36	0.02*
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.003	1 (Μ.Σ)
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.02	0.9 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.1	0.6 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.08	0.6 (Μ.Σ)
Ιστολογικό στάδιο νόσου	0.22	0.17 (Μ.Σ)
Mayo Risk Score (βιοψία)	0.004	1 (Μ.Σ)
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.1	0.57 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 23. Συσχέτιση του PML score, με παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, για την ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ΑΦΘ) (n= 42)	0.56	< 0.001*
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ELISA) (n= 42)	0.21	0.22 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-MND (ΑΦΘ) (n= 42)	0.274	0.08 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (ELISA) (n= 41)	-0.07	0.67 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (ELISA) (n= 42)	0.12	0.46 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-SLA/LP (ELISA) (n= 11)	-0.22	0.5 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ ANA (ΑΦΘ) (n= 42)	-0.2	0.2 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ aSMA (ΑΦΘ) (n= 42)	-0.5	0.001*
ΤΙΤΛΟΣ p- ANCA (ΑΦΘ) (n= 42)	0.09	0.58 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ c- ANCA (ΑΦΘ) (n= 42)	-0.11	0.5 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ PCA (ΑΦΘ) (n= 42)	-0.43	0.005*
ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ GPA (ELISA) (n= 38)	-0.28	0.08 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-intrinsic factor (ELISA) (n= 13)	-0.18	0.56 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (ELISA) (n= 42)	-0.14	0.38 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (ELISA) (n= 22)	-0.11	0.6 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (ELISA) (n= 36)	0.17	0.31 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-LC1 (ELISA) (n= 13)	0.4	0.17 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Ro52 (ELISA) (n= 27)	-0.14	0.5 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (ELISA) (n= 39)	0.05	0.76 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (ELISA) (n= 34)	-0.13	0.46 (Μ.Σ)

*Στατιστικά σημαντική διαφορά. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Διαχωρίζοντας τους ασθενείς της ομάδας ΠΧΚ σε PML (+) [θετικούς] και PML (-) [αρνητικούς] και με σύγκριση των 2 ομάδων μεταξύ τους, επιβεβαιώσαμε τη διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες, με μεγαλύτερες τιμές στους PML (+), ως προς τη γ-GT κατά τη βιοψία, $p= 0.002$, την ανοσοσφαιρίνη Μ κατά τη βιοψία, $p= 0.001$, ενώ οι PML (+) ασθενείς είχαν την τάση να παρουσιάσουν μεγαλύτερες τιμές ALP στη βιοψία, $p= 0.058$, και ανοσοσφαιρίνης Μ στο τέλος της παρακολούθησης, $p= 0.07$. Δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα στις δυο ομάδες, ως προς το φύλο, λοιπούς βιοχημικούς δείκτες, δείκτες βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος (πίνακας 24).

ΠΙΝΑΚΑΣ 24. Συσχέτιση του PML score με δημογραφικούς, αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες, για την ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score (n= 25)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score (n= 17)	ΤΙΜΗ p
ΗΛΙΚΙΑ (m. ± SE)	55.24 ± 2.2	57.53 ± 2.6	0.46 (M.Σ) [¥]
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη) (m. ± SE)	4.64 ± 0.83	2.65 ± 0.65	0.16 (M.Σ) [¥]
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη) (m. ± SE)	10.48 ± 1.06	8.06 ± 0.76	0.11 (M.Σ) [¥]
ΦΥΛΟ ΑΝΔΡΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ	4 (16) 21 (84)	0 (0) 17 (100)	0.13 (M.Σ) ^{\$}
AST (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	52.5 ± 9.6	45 ± 9.8	0.4 (M.Σ) [¥]
AST (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	29.6 ± 2.16	32.1 ± 5.87	0.71 (M.Σ) [¥]
ALT (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	70.7 ± 17.7	49.1 ± 10	0.48 (M.Σ) [¥]
ALT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	31.4 ± 3.15	31.2 ± 3.66	0.94 (M.Σ) [¥]
γ-GT (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	190.3 ± 39.6	63.1 ± 12	0.002 ^{* ¥}
γ-GT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	69.8 ± 20.7	39 ± 7.9	0.31 (M.Σ) [¥]
ALP (av. όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	201.2 ± 27	134.9 ± 19	0.058 ^{# ¥}
ALP (av. όριο 104 U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	110.4 ± 8.8	87.4 ± 7.45	0.09 (M.Σ) [¥]
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	0.8 ± 0.08	0.6 ± 0.08	0.084 (M.Σ) [¥]
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	0.85 ± 0.2	0.65 ± 0.07	0.8 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	4.2 ± 0.1	4.4 ± 0.1	0.21 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	4.06 ± 0.1	4.2 ± 0.13	0.4 (M.Σ) [¥]
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	339.2 ± 39	170.28 ± 24.42	0.001 ^{* ¥}
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	229.2 ± 23.5	160.1 ± 21.2	0.07 ^{# ¥}
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	3.5 ± 0.14	3.4 ± 0.14	0.7 (M.Σ) [¥]
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	3.38 ± 0.13	3.29 ± 0.13	0.68 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ) (m. ± SE)	11.8 ± 0.17	11.8 ± 0.3	0.8 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	12.5 ± 0.4	12.4 ± 0.47	0.9 (M.Σ) [¥]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. #Τάση για στατιστική σημαντικότητα. ¥Mann-Whitney U test. \$Fisher's exact test. M.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 25. Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό, για την ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score	ΤΙΜΗ p
ΠΡΟΤΥΠΟ MND (ΑΦΘ) (n= 42) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	12 (48) 13 (52)	3 (17.6) 14 (82.4)	0.044* ^Ξ
ΤΙΤΛΟΣ AMA (n= 35) (ELISA) (m. ± SE)	2.1 ± 0.5	1.4 ± 0.5	0.101 (M.Σ) ^Υ
AMA (ΑΦΘ) (n= 42) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	25 (100) 0 (0)	14 (82.4) 3 (17.6)	0.06 [#] \$
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (n= 42) (ELISA) (m. ± SE)	12.4 ± 7.4	6.4 ± 2.9	0.24 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (n= 41) (ELISA) (m. ± SE)	12.7 ± 8.9	5.06 ± 1	0.57 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-SLA/LP (n= 11) (ELISA) (m. ± SE)	4.7 ± 0.16	5 ± 0.15	0.66 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-intrinsic factor (n= 13) (ELISA) (m. ± SE)	41.7 ± 27.3	28.2 ± 22	0.83 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (n= 42) (ELISA) (m. ± SE)	89.8 ± 14.3	86.4 ± 13.5	0.82 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (n= 22) (ELISA) (m. ± SE)	3.5 ± 1.8	1.4 ± 0.6	0.94 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (n= 36) (ELISA) (m. ± SE)	13.8 ± 2.3	11.3 ± 1.6	0.71 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-LC1 (n= 13) (ELISA) (m. ± SE)	0.23 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.2 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-Ro52 (n= 27) (ELISA) (m. ± SE)	32.4 ± 13.2	39.8 ± 18.9	0.16 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (n= 39) (ELISA) (m. ± SE)	7.5 ± 2	4.9 ± 0.4	0.52 (M.Σ) ^Υ
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (n= 34) (ELISA) (m. ± SE)	0.3 ± 0.06	0.7 ± 0.36	0.16 (M.Σ) ^Υ
SMA (ΑΦΘ) (n= 42) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	4 (16) 21 (84)	11 (64.7) 6 (35.3)	0.001* ^Ξ
ΤΙΤΛΟΣ GPA (n= 38) (ELISA) (m. ± SE)	23 ± 8	43.9 ± 16	0.064 [#] ^Υ
PCA (ΑΦΘ) (n= 42) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	4 (16) 21 (84)	9 (52.9) 8 (47.1)	0.011* ^Ξ

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. ^ΥMann-Whitney U test. ^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. \$Fisher's exact test. M.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Η σύγκριση των 2 ομάδων [PML (+) vs (-)] ως προς τα αυτοαντισώματα, επιβεβαίωσε τη μεγαλύτερη επίπτωση στους PML (+), των anti-MND ($p= 0.044$), και τη μεγαλύτερη επίπτωση στους PML (-), των aSMA ($p= 0.001$) και των PCA ($p= 0.011$). Οι PML (+) είχαν τάση για μεγαλύτερη θετικότητα στα AMA με ΑΦΘ ($p= 0.06$), ενώ οι PML (-) είχαν τάση για μεγαλύτερη θετικότητα στα GPA ($p= 0.064$). Δεν υπήρχαν διαφορές στις 2 ομάδες, ως προς τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα (πίνακας 25).

Παρατηρούμε επίσης ότι το PML score είναι θετικό σε 13 από τους 27 (ποσοστό 48,1%) MND αρνητικούς με ΑΦΘ ασθενείς, επιτυγχάνοντας στην ομάδα αυτή των ασθενών ανίχνευση ειδικών για την ΠΧΚ ANA, που δεν ανιχνεύθηκαν με τον ΑΦΘ (πίνακας 25). Επιπλέον, 3 στους 15 (ποσοστό 20%) MND θετικούς ασθενείς ήταν αρνητικοί για anti-PML.

Οι 2 ομάδες [PML (+) vs (-)] επιπλέον συγκρίθηκαν ως προς διάφορα κλινικά χαρακτηριστικά, τη λήψη θεραπείας (ΑΔΧΟ ή / και άλλων ανοσοκατασταλτικών) και τη συνύπαρξη άλλων νοσημάτων (αυτοάνοσων νοσημάτων, συστηματικών νοσημάτων όπως κακοήθεια, σακχαρώδης διαβήτης, στεφανιαία νόσος). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην επίπτωση συμπτωματικής νόσου (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), στην παρουσία ασκίτη (βιοψία+ τέλος παρακολούθησης), άλλης αυτοάνοσης νόσου, άλλου συστηματικού νοσήματος, ιστορικού ουρολοιμώξεων, θεραπείας με ΑΔΧΟ ή άλλο ανοσοκατασταλτικό (πίνακας 26).

Τέλος, οι ομάδες PML (+) / (-) συγκρίθηκαν ως προς την παρουσία κίρρωσης, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας και ως προς ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες. Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των PML (+) και PML (-) ασθενών ως προς το προχωρημένο (III, IV) έναντι των αρχικών (χωρίς αλλοίωση, I, II) ιστολογικών σταδίων, ως προς την παρουσία επιπλοκών (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), την παρουσία κίρρωσης (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), ηπατικής εγκεφαλοπάθειας (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), την έκβαση (θάνατος, μεταμόσχευση), το Mayo Risk Score (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), τη θετικότητα του Pares score (πίνακας 27).

ΠΙΝΑΚΑΣ 26. Σύσχεση του PML score με κλινικά χαρακτηριστικά, λήψη θεραπείας και συνύπαρξη άλλων νοσημάτων, για την ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score (n= 25)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score (n= 17)	ΤΙΜΗ p
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΒΙΟΨΙΑ) ΝΑΙ ΟΧΙ	20 (80) 5 (20)	13 (76.5) 4 (23.5)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) ΝΑΙ ΟΧΙ	11 (44) 14 (56)	4 (23.5) 13 (76.5)	0.174 (Μ.Σ) ^Ξ
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΒΙΟΨΙΑ) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (4) 24 (96)	0 (0) 17 (100)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (4) 24 (96)	1 (5.9) 16 (94.1)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΝΑΙ ΟΧΙ	15 (60) 10 (40)	15 (88.2) 2 (11.8)	0.081 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΝΑΙ ΟΧΙ	7 (28) 18 (72)	5 (29.4) 12 (70.6)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΝΑΙ ΟΧΙ	3 (12) 22 (88)	3 (17.6) 14 (82.4)	0.672 (Μ.Σ) ^{\$}
ΛΗΨΗ ΑΔΧΟ ΝΑΙ ΟΧΙ	24 (96) 1 (4)	15 (88.2) 2 (11.8)	0.556 (Μ.Σ) ^{\$}
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ ΝΑΙ ΟΧΙ	7 (28) 18 (72)	2 (11.8) 15 (88.2)	0.271 (Μ.Σ) ^{\$}

^Ξχ² με διόρθωση κατά Yates. ^{\$}Fisher's exact test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 27. Συσχέτιση του PML score, με παρουσία κίρρωσης / ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες, για την ομάδα ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score	ΤΙΜΗ p
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	2 (8) 23 (92)	2 (11.8) 15 (88.2)	1 (Μ.Σ) \$
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	5 (20) 20 (80)	3 (17.6) 14 (82.4)	1 (Μ.Σ) \$
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (4) 24 (96)	0 (0) 17 (100)	1 (Μ.Σ) \$
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	2 (8) 23 (92)	1 (5.9) 16 (94.1)	1 (Μ.Σ) \$
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ (n= 42) 0 – I – II III – IV	15 (60) 10 (40)	15 (88.2) 2 (11.8)	0.081 (Μ.Σ) \$
ΘΑΝΑΤΟΣ – ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (4) 24 (96)	1 (5.9) 16 (94.1)	1 (Μ.Σ) \$
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	3 (12) 22 (88)	0 (0) 17 (100)	0.26 (Μ.Σ) \$
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) ΝΑΙ ΟΧΙ	5 (20) 20 (80)	1 (5.9) 16 (94.1)	0.374 (Μ.Σ) \$
Mayo Risk Score (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) (m. ± SE)	4.14 ± 0.2	3.9 ± 0.13	0.6 (Μ.Σ) ¥
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) (m. ± SE)	4.5 ± 0.3	4.4 ± 0.2	0.76 (Μ.Σ) ¥
Pares score (Κριτήρια) (n= 27) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	13 (86.7) 2 (13.3)	9 (75) 3 (25)	0.6 (Μ.Σ) \$

¥Mann-Whitney U test. \$Fisher's exact test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 28. Σύγκριση του PML score στις διάφορες υποομάδες ασθενών, της ομάδας ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	PML score (m. ± SE)	ΤΙΜΗ p
Φύλο (n= 42) Γυναίκες / Άνδρες (38 / 4)	0.47 ± 0.1 / 0.5 ± 0.2	0.38 (Μ.Σ) [‡]
ΑΜΑ (ΑΦΘ) (n= 42) Θετικοί / Αρνητικοί (39 / 3)	0.5 ± 0.1 / 0	0.058 [#] [‡]
ΑΜΑ (ELISA) (n= 35) Θετικοί / Αρνητικοί (20 / 15)	0.5 ± 0.1 / 0.4 ± 0.2	0.23 (Μ.Σ) [‡]
anti-MND (ΑΦΘ) (n= 42) Θετικά / Αρνητικά (15 / 27)	0.7 ± 0.2 / 0.4 ± 0.1	0.05 [*] [‡]
aSMA (ΑΦΘ) (n= 42) Θετικά / Αρνητικά (15 / 27)	0.15 ± 0.09 / 0.65 ± 0.11	0.002 [*] [‡]
PCA (ΑΦΘ) (n= 42) Θετικά / Αρνητικά (13 / 29)	0.2 ± 0.15 / 0.58 ± 0.1	0.013 [*] [‡]
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) Ναι / Όχι (1 / 41)	0 / 0.48 ± 0.01	0.77 (Μ.Σ) [‡]
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (2 / 40)	0 / 0.5 ± 0.1	0.29 (Μ.Σ) [‡]
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) Ναι / Όχι (1 / 41)	0 / 0.5 ± 0.09	0.77 (Μ.Σ) [‡]
ΗΠΑΤΙΚΗ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (3 / 39)	0.04 ± 0.04 / 0.5 ± 0.1	0.35 (Μ.Σ) [‡]
ΕΝΑΡΞΗ ΑΔΧΟ (n= 42) Ναι / Όχι (39 / 3)	0.5 ± 0.1 / 0.13 ± 0.13	0.24 (Μ.Σ) [‡]
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ (n= 42) Ναι / Όχι (9 / 33)	0.7 ± 0.2 / 0.4 ± 0.1	0.16 (Μ.Σ) [‡]
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) Ναι / Όχι (4 / 38)	0.2 ± 0.2 / 0.5 ± 0.1	0.4 (Μ.Σ) [‡]
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (8 / 34)	0.5 ± 0.2 / 0.5 ± 0.1	0.88 (Μ.Σ) [‡]
ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) 0 – I – II / III – IV (30 / 12)	0.4 ± 0.1 / 0.63 ± 0.15	0.076 (Μ.Σ) [‡]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). ^{*}Στατιστικά σημαντική διαφορά. [#]Τάση για στατιστική σημαντικότητα. [‡]Mann-Whitney U test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 29. Σύγκριση του PML score στις διάφορες υποομάδες ασθενών, της ομάδας ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	PML score (m. ± SE)	ΤΙΜΗ p
Pares score (Κριτήρια) (n=27) Θετικό / Αρνητικό (22 / 5)	0.4 ± 0.1 / 0.2 ± 0.1	0.4 (Μ.Σ) [‡]
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 42) Ναι / Όχι (30 / 12)	0.4 ± 0.1 / 0.8 ± 0.2	0.019* [‡]
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 42) Ναι / Όχι (12 / 30)	0.48 ± 0.2 / 0.47 ± 0.1	0.95 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ (n= 42) Ναι / Όχι (6 / 36)	0.62 ± 0.3 / 0.45 ± 0.1	0.8 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) Ναι / Όχι (33 / 9)	0.46 ± 0.1 / 0.52 ± 0.2	0.96 (Μ.Σ) [‡]
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (15 / 27)	0.6 ± 0.15 / 0.4 ± 0.1	0.3 (Μ.Σ) [‡]
ΕΠΠΛΟΚΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 42) Ναι / Όχι (3 / 39)	0.26 ± 0.13 / 0.49 ± 0.1	1 (Μ.Σ) [‡]
ΕΠΠΛΟΚΕΣ ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (6 / 36)	0.46 ± 0.2 / 0.48 ± 0.1	0.66 (Μ.Σ) [‡]
ΘΑΝΑΤΟΣ / ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 42) Ναι / Όχι (2 / 40)	0.1 ± 0.1 / 0.5 ± 0.1	0.4 (Μ.Σ) [‡]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [‡]Mann-Whitney U test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

Διαχωρίζοντας τους ασθενείς στις διάφορες υποομάδες (άνδρες vs γυναίκες, θετικοί vs αρνητικοί για τα διάφορα αυτοαντισώματα, θετικοί vs αρνητικοί για την παρουσία κίρρωσης, επιπλοκών, συμπτωμάτων, ασκίτη, ηπατικής εγκεφαλοπάθειας, λήψη θεραπείας κτλ.) και συγκρίνοντας το PML score στις υποομάδες, επιβεβαιώσαμε τη στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τιμή του PML score στους MND (+) (p= 0.05), στους aSMA (-) (p= 0.002), στους PCA (-) (p= 0.013), στους ασθενείς χωρίς συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων (p= 0.019). Το PML score έχει την τάση να είναι μεγαλύτερο στους AMA (+) με ΑΦΘ (p= 0.058). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το PML score ανάμεσα σε άνδρες / γυναίκες, στους AMA (+) και (-) με ELISA, στους ασθενείς με προχωρημένο (III, IV) vs μη προχωρημένο (χωρίς αλλοίωση, I, II) ιστολογικό στάδιο, στους ασθενείς με ή χωρίς ασκίτη (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), στους συμπτωματικούς (βιοψία+τέλος παρακολούθησης) ασθενείς, στους ασθενείς με ή χωρίς ηπατική εγκεφαλοπάθεια (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς που ελάμβαναν ΑΔΧΟ, σε

αυτούς που έλαβαν και σ' αυτούς που δεν έλαβαν άλλο ανοσοκατασταλτικό, σε κιρρωτικούς και μη ασθενείς (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς με θετικό ή αρνητικό Pares score, σε αυτούς που είχαν και σ' αυτούς που δεν είχαν άλλο συστηματικό νόσημα, σε αυτούς που είχαν και σ' αυτούς που δεν είχαν ιστορικό ουρολοιμώξεων, σε αυτούς που παρουσίασαν και σ' αυτούς που δεν παρουσίασαν επιπλοκές ηπατικής νόσου (βιοψία+τέλος παρακολούθησης), στους ασθενείς με κακή έκβαση έναντι αυτών χωρίς κακή έκβαση ως προς τα τελικά σημεία (θάνατος, μεταμόσχευση) (πίνακες 28-29).

III.5 Συσχέτιση του PML score, με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων, με βιοχημικούς δείκτες, με δείκτες της βιοσυνθετικής ικανότητας του ήπατος, με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, με δείκτες έκβασης της νόσου στους ασθενείς με πρόωμη ΠΧΚ

Από την ανάλυση των δεδομένων (πίνακες 30-35), στην ομάδα των ασθενών με πρόωμη ΠΧΚ, δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του PML score με παρουσία κάποιου αυτοαντισώματος, με δείκτες ακεραιότητας και βιοσυνθετικής ικανότητας, με το ιστολογικό στάδιο, με κλινικά χαρακτηριστικά, με δείκτες έκβασης της νόσου. Οι σύγκριση μεταξύ PML (+) και (-) ασθενών και μεταξύ των υποομάδων των ασθενών με πρόωμη ΠΧΚ, επίσης δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές.

ΠΙΝΑΚΑΣ 30. Συσχέτιση του PML score, με δημογραφικούς, αιματολογικούς, βιοχημικούς, ιστολογικούς και προγνωστικούς δείκτες, στην ομάδα της πρώιμης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ ΟΜΑΔΑ ΠΡΩΙΜΗΣ ΠΧΚ (n= 20)	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
Ηλικία (έτη)	-0.26	0.27 (Μ.Σ)
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη)	-0.143	0.55 (Μ.Σ)
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη)	0.08	0.74 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.02	0.93 (Μ.Σ)
AST (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.36	0.12 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.1	0.68 (Μ.Σ)
ALT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.36	0.12 (Μ.Σ)
γ-GT (U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.02	0.93 (Μ.Σ)
γ-GT (U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.12	0.6 (Μ.Σ)
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.18	0.45 (Μ.Σ)
ALP (ανώτερο όριο 104 U/L) (FOLLOW-UP)	0.06	0.8 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.26	0.26 (Μ.Σ)
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.02	0.93 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	0.18	0.45 (Μ.Σ)
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.06	0.8 (Μ.Σ)
Ανοσοσφαιρίνη Μ (mg/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.1	0.68 (Μ.Σ)
Ανοσοσφαιρίνη Μ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.06	0.8 (Μ.Σ)
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.18	0.45 (Μ.Σ)
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.12	0.6 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΒΙΟΨΙΑ)	-0.06	0.8 (Μ.Σ)
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	0.1	0.68 (Μ.Σ)
Ιστολογικό στάδιο νόσου	0.35	0.13 (Μ.Σ)
Mayo Risk Score (βιοψία)	-0.34	0.145 (Μ.Σ)
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ)	-0.1	0.68 (Μ.Σ)

(Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 31. Σύγκριση του PML score, με παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, για την ομάδα της πρώτης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (rho) ΜΕ ΤΟ PML score (SPEARMAN'S CORRELATION COEFFICIENT)	ΤΙΜΗ p
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ΑΦΘ) (n= 20)	0.19	0.4 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ AMA (ELISA) (n= 14)	-0.15	0.16 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-MND (ΑΦΘ) (n= 20)	-0.1	0.6 Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (ELISA) (n= 19)	-0.17	0.48 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (ELISA) (n= 20)	0.18	0.4 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ ANA (ΑΦΘ) (n= 20)	0.06	0.8 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ aSMA (ΑΦΘ) (n= 20)	0.12	0.6 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ p- ANCA (ΑΦΘ) (n= 20)	-0.2	0.3 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ c- ANCA (ΑΦΘ) (n= 20)	-0.13	0.6 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ PCA (ΑΦΘ) (n= 20)	-0.27	0.25 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ GPA (ELISA) (n= 17)	-0.23	0.38 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (ELISA) (n= 20)	-0.02	0.9 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (ELISA) (n= 8)	0.28	0.5 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (ELISA) (n= 14)	-0.38	0.18 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (ELISA) (n= 18)	-0.37	0.13 (Μ.Σ)
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (ELISA) (n= 14)	0.19	0.5 (Μ.Σ)

(Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.)

ΠΙΝΑΚΑΣ 32. Συσχέτιση του PML score με δημογραφικούς, αιματολογικούς και βιοχημικούς δεικτες, για την ομάδα της πρώιμης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score (n= 1)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score (n= 19)	ΤΙΜΗ p
ΗΛΙΚΙΑ (m. ± SE)	41	53 ± 2.1	0.26 (M.Σ) [¥]
Διάρκεια νόσου ως τη βιοψία (έτη) (m. ± SE)	1	3.4 ± 1	0.5 (M.Σ) [¥]
Συνολική διάρκεια νόσου (έτη) (m. ± SE)	8	7.8 ± 1.2	0.73 (M.Σ) [¥]
ΦΥΛΟ ΑΝΔΡΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ	0 (0) 1 (100)	3 (15.8) 16 (84.2)	1 (M.Σ) ^{\$}
AST (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	30	36.2 ± 5.1	0.9 (M.Σ) [¥]
AST (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	17	28.1 ± 2.6	0.1 (M.Σ) [¥]
ALT (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	35	56.3 ± 11.9	0.66 (M.Σ) [¥]
ALT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	15	35.8 ± 5.4	0.12 (M.Σ) [¥]
γ-GT (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	33	45.1 ± 7.3	0.93 (M.Σ) [¥]
γ-GT (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	23	30.6 ± 4.1	0.6 (M.Σ) [¥]
ALP (αν. όριο 104 U/L) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	80	115.8 ± 10.8	0.4 (M.Σ) [¥]
ALP (αν. όριο 104 U/L) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	99	96.7 ± 11.4	0.8 (M.Σ) [¥]
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	0.4	0.59 ± 0.04	0.26 (M.Σ) [¥]
Ολική Χολερυθρίνη (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	0.52	0.5 ± 0.05	0.9 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	4.41	4.3 ± 0.1	0.4 (M.Σ) [¥]
Αλβουμίνη (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	4.38	4.2 ± 0.1	0.8 (M.Σ) [¥]
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	81.9	108.4 ± 14.2	0.66 (M.Σ) [¥]
Ανοσοσφαιρίνη M (mg/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	90	112.7 ± 13.6	0.8 (M.Σ) [¥]
γ-σφαιρίνες (g/dl) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	2.89	3.2 ± 0.12	0.44 (M.Σ) [¥]
γ-σφαιρίνες (g/dl) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	3.09	3.4 ± 0.16	0.6 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (BIOΨΙΑ) (m. ± SE)	11.7	12 ± 0.25	0.8 (M.Σ) [¥]
Χρόνος προθρομβίνης (sec) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (m. ± SE)	12.3	12.06 ± 0.42	0.67 (M.Σ) [¥]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). [¥]Mann-Whitney U test. ^{\$}Fisher's exact test. M.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά.
Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 33. Σύγκριση του PML score, με την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό, για την ομάδα της πρώτης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score	ΤΙΜΗ p
ΠΡΟΤΥΠΟ MND (ΑΦΘ) (n= 20) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0 (0) 1 (100)	4 (21.1) 15 (78.9)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΤΙΤΛΟΣ AMA (n= 14) (ELISA) (m. ± SE)	0.2	0.2 ± 0.01	0.6 (Μ.Σ) [¥]
AMA (ΑΦΘ) (n= 20) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	1 (100) 0 (0)	17 (89.5) 2 (10.5)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΤΙΤΛΟΣ anti-sp100 (n= 20) (ELISA) (m. ± SE)	6.7	7.9 ± 2.9	0.4 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-gp210 (n= 19) (ELISA) (m. ± SE)	0.8	4.1 ± 1.3	0.46 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-CL (n= 20) (ELISA) (m. ± SE)	49	75.1 ± 15.3	0.93 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-β2GPI (n= 8) (ELISA) (m. ± SE)	2.1	1.5 ± 1	0.45 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-actin (n= 14) (ELISA) (m. ± SE)	3.4	10.9 ± 1.2	0.17 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-chromatin (n= 18) (ELISA) (m. ± SE)	0.4	3.9 ± 0.7	0.12 (Μ.Σ) [¥]
ΤΙΤΛΟΣ anti-Histones (n= 14) (ELISA) (m. ± SE)	0.2	0.6 ± 0.4	0.49 (Μ.Σ) [¥]
aSMA (ΑΦΘ) (n= 20) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	1 (100) 0 (0)	13 (68.4) 6 (31.6)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΤΙΤΛΟΣ GPA (n= 17) (ELISA) (m. ± SE)	0.5	22.8 ± 10.4	0.36 (Μ.Σ) [¥]
PCA (ΑΦΘ) (n= 20) ΘΕΤΙΚΟΙ ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ	0 (0) 1 (100)	13 (68.4) 6 (31.6)	0.35 (Μ.Σ) ^{\$}

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). [¥]Mann-Whitney U test. ^{\$}Fisher's exact test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά.
Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 34. Συσχέτιση του PML score Με κλινικά χαρακτηριστικά, λήψη θεραπείας και συνύπαρξη άλλων νοσημάτων, για την ομάδα της πρώιμης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΘΕΤΙΚΟ PML score ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΟΜΑΔΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΑΡΝΗΤΙΚΟ PML score ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΤΙΜΗ p
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	3 (15.8) 16 (84.2)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	1 (5.3) 18 (94.7)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	14 (73.7) 5 (26.3)	0.3 (Μ.Σ) ^{\$}
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	6 (31.6) 13 (68.4)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	2 (10.5) 17 (89.5)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΛΗΨΗ ΑΔΧΟ (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	1 (100) 0 (0)	14 (73.7) 5 (26.3)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	4 (21.1) 15 (78.9)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	1 (5.3) 18 (94.7)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΘΑΝΑΤΟΣ – ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	1 (5.3) 18 (94.7)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) ΝΑΙ ΟΧΙ	0 (0) 1 (100)	2 (10.5) 17 (89.5)	1 (Μ.Σ) ^{\$}
Mayo Risk Score (ΒΙΟΨΙΑ) (n= 20) (m. ± SE)	2.9	3.8 ± 0.13	0.14 (Μ.Σ) [¥]
Mayo Risk Score (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) (m. ± SE)	3.54	3.9 ± 0.2	0.66 (Μ.Σ) [¥]
Pares score (Κριτήρια) (n = 14) ΘΕΤΙΚΟ ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0 (0) 1 (100)	9 (69.2) 4 (30.8)	0.36 (Μ.Σ) ^{\$}

(Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). [¥] Mann-Whitney U test. ^{\$} Fisher's exact test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 35. Σύγκριση του PML score στις διάφορες υποομάδες ασθενών, της ομάδας της πρώτης ΠΧΚ

ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΟ ΣΤΟΙΧΕΙΟ	PML score (m. ± SE)	ΤΙΜΗ p
Φύλο (n= 20) Γυναίκες / Άνδρες (17 / 3)	0.007 ± 0.007 / 0	0.67 (Μ.Σ) [¥]
ΑΜΑ (ΑΦΘ) (n= 20) Θετικοί / Αρνητικοί (18 / 2)	0.007 ± 0.007 / 0	0.74 (Μ.Σ) [¥]
MND (ΑΦΘ) (n= 20) Θετικά / Αρνητικά (4 / 16)	0 / 0.008 ± 0.008	0.62 (Μ.Σ) [¥]
SMA (ΑΦΘ) (n= 20) Θετικά / Αρνητικά (14 / 6)	0.01 ± 0.01 / 0	0.5 (Μ.Σ) [¥]
PCA (ΑΦΘ) (n= 20) Θετικά / Αρνητικά (13 / 7)	0 / 0.018 ± 0.018	0.17 (Μ.Σ) [¥]
ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΣΚΙΤΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) Ναι / Όχι (1 / 19)	0 / 0.007 ± 0.007	0.8 (Μ.Σ) [¥]
ΛΗΨΗ ΑΔΧΟ (n= 20) Ναι / Όχι (15 / 5)	0 / 0.008 ± 0.008	0.56 (Μ.Σ) [¥]
ΛΗΨΗ ΑΛΛΟΥ ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΟΥ (n= 20) Ναι / Όχι (4 / 16)	0 / 0.008 ± 0.008	0.62 (Μ.Σ) [¥]
ΚΙΡΡΩΣΗ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) Ναι / Όχι (1 / 19)	0 / 0.007 ± 0.007	0.82 (Μ.Σ) [¥]
ΑΛΛΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 20) Ναι / Όχι (14 / 6)	0 / 0.02 ± 0.02	0.13 (Μ.Σ) [¥]
ΑΛΛΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ (n= 20) Ναι / Όχι (6 / 14)	0 / 0.01 ± 0.01	0.5 (Μ.Σ) [¥]
ΣΥΧΝΕΣ ΟΥΡΟΛΟΙΜΩΞΕΙΣ (n= 20) Ναι / Όχι (2 / 18)	0 / 0.007 ± 0.007	0.74 (Μ.Σ) [¥]
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) (n= 20) Ναι / Όχι (3 / 17)	0 / 0.007 ± 0.007	0.67 (Μ.Σ) [¥]
ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ ΗΠΙΑΤΙΚΗΣ ΝΟΣΟΥ (n= 20) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) Ναι / Όχι (2 / 18)	0 / 0.007 ± 0.007	0.74 (Μ.Σ) [¥]
ΘΑΝΑΤΟΣ / ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ (n= 20) (ΤΕΛΟΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ) Ναι / Όχι (1 / 19)	0 / 0.006 ± 0.006	0.82 (Μ.Σ) [¥]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (m. ± SE). [¥]Mann-Whitney U test. Μ.Σ: Μη στατιστικά σημαντική διαφορά. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

III.6 Σύγκριση του PML score μεταξύ των ασθενών με ΠΧΚ, των ασθενών με πρόωμη ΠΧΚ, και των ομάδων ελέγχου, με διαχωρισμό σε επιμέρους υποομάδες

Προκειμένου να διευκρινιστεί περαιτέρω η διακύμανση του PML score στις διάφορες ομάδες ασθενών, έγινε μελέτη μετά από διάκριση των ασθενών σε υποομάδες. Εκτός από τη διάκριση σε ασθενείς με ΠΧΚ (n= 42) και ασθενείς με πρόωμη ΠΧΚ (n= 20), οι ασθενείς της ομάδας των χρόνιων Ιογενών Ηπατίτιδων (ΧΙΗ) διακρίθηκαν στους 24 με χρόνια Ηπατίτιδα Β (ΧΗΒ) και στους 12 με χρόνια Ηπατίτιδα C (ΧΗC).

Το PML score βρέθηκε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο στην ομάδα της ΠΧΚ, σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες ασθενών. Συγκεκριμένα: 0.47 ± 0.09 στην ΠΧΚ vs 0.01 ± 0.01 για την πρόωμη ΠΧΚ, $p < 0.001$, 0.47 ± 0.09 στην ΠΧΚ vs 0.05 ± 0.03 για την ΠΣΧ, $p < 0.001$, 0.47 ± 0.09 στην ΠΧΚ vs 0.1 ± 0.05 για την ΧΗΒ, $p = 0.002$, 0.47 ± 0.09 στην ΠΧΚ vs 0.06 ± 0.03 για την ΧΗC, $p = 0.02$, 0.47 ± 0.09 στην ΠΧΚ vs 0.06 ± 0.06 για την ομάδα της Μη Αλκοολικής Στεατοηπατίτιδας (ΜΑΣ), $p = 0.01$.

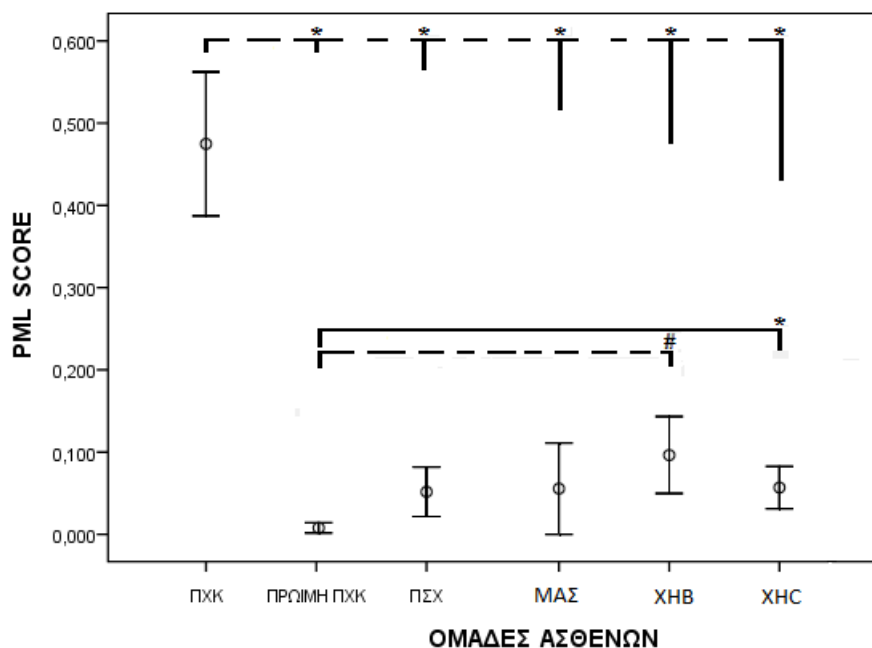
ΠΙΝΑΚΑΣ 36. Σύγκριση του PML score στην ΠΧΚ, και στην πρόωμη ΠΧΚ, με τις άλλες ηπατικές νόσους

ΠΧΚ PML score (Mean \pm SE)	ΗΠΑΤΙΚΟ ΝΟΣΗΜΑ PML score (Mean \pm SE)			ΤΙΜΗ p
0.47 ± 0.09	0.01 ± 0.01 (ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ)	1	1	$<0.001^{\text{¥}*}$
0.47 ± 0.09	0.1 ± 0.05 (ΧΗΒ)	1	1 ^{¥#}	$0.002^{\text{¥}*}$
0.47 ± 0.09	0.06 ± 0.03 (ΧΗC)	1	1	$0.02^{\text{¥}*}$
0.47 ± 0.09	0.05 ± 0.03 (ΠΣΧ)	1	1 [¥] (Μ.Σ)	$<0.001^{\text{¥}*}$
0.47 ± 0.09	0.06 ± 0.06 (ΜΑΣ)	1	1	$0.01^{\text{¥}*}$

Μέση τιμή \pm τυπικό σφάλμα (Mean \pm SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. #Τάση για στατιστική σημαντικότητα. ¥Mann-Whitney U test. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.
ΠΧΚ (n= 42), Πρόωμη ΠΧΚ (n= 20), ΠΣΧ (n= 29), ΧΗΒ (n= 24), ΧΗC (n= 12), ΜΑΣ (n= 9).

Σημαντικά μικρότερο στατιστικά ήταν το PML score στην πρόωμη ΠΧΚ (0.01 ± 0.01) σε σχέση με τη ΧΗC (0.06 ± 0.03), $p = 0.03$, ενώ είχε την τάση να είναι μικρότερο στην πρόωμη ΠΧΚ έναντι

της ΧΗΒ (0.01 ± 0.01 vs 0.1 ± 0.05 , $p = 0.06$). Η πρόιμη ΠΧΚ δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες ασθενών, ενώ και οι υπόλοιπες (εκτός ΠΧΚ και πρόιμης ΠΧΚ) ομάδες δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους (πίνακας 36 και εικόνα 10).



ΕΙΚΟΝΑ 10.

Μέση τιμή (Mean) \pm τυπικό σφάλμα (SE) του PML score, στις επιμέρους ομάδες ασθενών ΠΧΚ (n= 42), Πρόιμη ΠΧΚ (n= 20), ΠΣΧ (n= 29), ΧΗΒ (n= 24), ΧΗC (n= 12), ΜΑΣ (n= 9) Mann-Whitney U test, * $p < 0.05$, # $p = 0.06$ (Τάση για στατιστική σημαντικότητα) Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

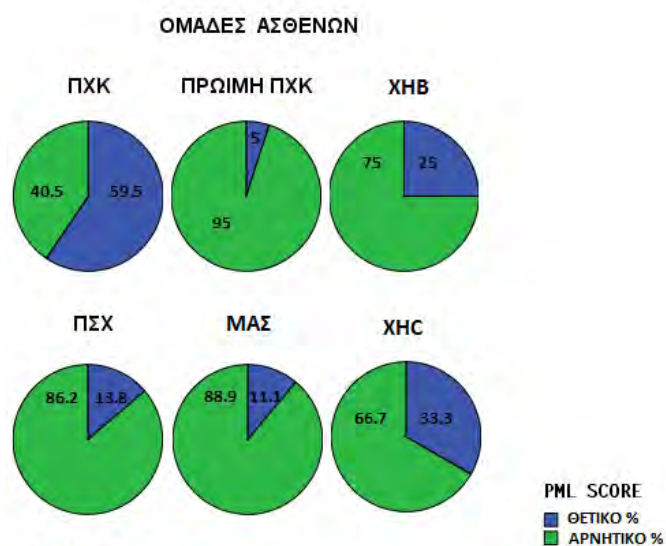
Η διαγνωστική ακρίβεια του αντισώματος, εκτός πρόιμης ΠΧΚ, είναι σημαντικά καλύτερη, καθώς η ευαισθησία και η ειδικότητα ανίχνευσής του έφτασαν το 59,5 και 79,7 αντίστοιχα (πίνακας 37), η δε θετική προγνωστική του αξία έφτασε το 62,5%, και η αρνητική το 77,6%.

Η θετικότητα και κατανομή του PML score στις διάφορες ομάδες, σε ποσοστό επί τις %, φαίνεται στην εικόνα 11 και στον πίνακα 38.

ΠΙΝΑΚΑΣ 37. Διαγνωστική ακρίβεια του PML score στην ΠΧΚ εκτός πρώιμης vs το σύνολο ασθενών με άλλα ηπατικά νοσήματα

	ΠΧΚ (n= 42) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΥΠΟΛΟΙΠΟΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ (n= 74) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΤΙΜΗ p
PML			
ΘΕΤΙΚΟ	25 (59.5)	15 (20.3)	<0.001* [‡]
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	17 (40.5)	59 (79.7)	
PML score (mean ± SE)	0.47 ± 0.09	0.07 ± 0.02	<0.001* [‡]

Μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα (Mean ± SE). *Στατιστικά σημαντική διαφορά. [‡]χ² με διόρθωση κατά Yates. [‡]Mann-Whitney U test. Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.



ΕΙΚΟΝΑ 11.

Ποσοστιαία κατανομή του PML score, στις διάφορες ομάδες ασθενών

ΠΧΚ (n= 42), Πρώιμη ΠΧΚ (n= 20), ΠΣΧ (n= 29), ΧΗΒ (n= 24), ΧΗC (n= 12), ΜΑΣ (n= 9).

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 38. Αριθμητική και ποσοστιαία κατανομή του PML score στις διάφορες ομάδες ασθενών

	ΠΧΚ (n= 42) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΠΡΩΙΜΗ ΠΧΚ (n= 20) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΠΣΧ (n= 29) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΜΑΣ (n= 9) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΧΗΒ (n= 24) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)	ΧΗC (n= 12) ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ (%)
PML score						
ΘΕΤΙΚΟ	25 (59.5)	1 (5)	4 (13.8)	1 (11.1)	6 (25)	4 (33.3)
ΑΡΝΗΤΙΚΟ	17 (40.5)	19 (95)	25 (86.2)	8 (88.9)	18 (75)	8 (66.7)

Οι συντομογραφίες αναλύονται στο κείμενο.

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη κατέδειξε ότι τα anti- PML αντισώματα ανιχνεύονται στις βιοψίες ασθενών με ΠΧΚ σε σημαντικά αυξημένη συχνότητα και σε σημαντικά υψηλότερους τίτλους, σε σχέση με τα άλλα ηπατικά νοσήματα. Μάλιστα φαίνεται ότι η ανίχνευση των anti- PML στον ιστό είναι πολύ πιο συχνή σε σχέση με αυτή που έχει ανακοινωθεί για την ανίχνευση των αντίστοιχων αυτοαντισωμάτων στον ορό ασθενών με ΠΧΚ, με χρήση οποιασδήποτε μεθόδου (ELISA, ΑΦΘ ή ανοσοαποτύπωσης) (302, 339, 377, 388, 389).

Συγκεκριμένα, στη μελέτη μας η ανίχνευση των αντισωμάτων έφτασε το 59,5% των ασθενών με ΠΧΚ. Η συχνότητα ανίχνευσης στις άλλες μελέτες ποικίλλει: 8,7% [line immunoassay (388)], 12% [line immunoassay (377)], 19% [ΑΦΘ (339)], 30% [ανοσοκαθίζηση και ΑΦΘ (302)], 41,2% [ανοσοαποτύπωση κατά Western (389)]. Η διαφορά αυτές υποδεικνύουν την εξάρτηση των αποτελεσμάτων από τη μέθοδο ανίχνευσης που χρησιμοποιείται. Επιπλέον, το σημαντικά υψηλότερο ποσοστό της δικής μας μελέτης, φαίνεται να σχετίζεται με την ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων σε ιστό στόχο, όπως είναι το ήπαρ, και όχι στον ορό των ασθενών. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη μελέτη των Hintemann C et al (397), κατά την οποία δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ανίχνευσης anti-sp100 και anti-PML στον ορό και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των αντισωμάτων στο ήπαρ. Φαίνεται ότι σε αντίθεση με αυτοαντισώματα όπως τα AMA, που η ευαισθησία ανίχνευσής τους είναι αξιοσημείωτη στον ορό, πλησιάζοντας το 90-95%, για τα anti- PML το ποσοστό ανίχνευσης σε ορό και ιστό διαφέρει σημαντικά. Σαν ερευνητική σκέψη και προοπτική προτείνεται η μελέτη και των υπόλοιπων ειδικών για την ΠΧΚ ANA, που υπολείπονται σε ευαισθησία όταν μετρούνται στον ορό, σε βιοψίες ήπατος.

Η ειδικότητα ανίχνευσης των anti- PML αντισωμάτων είναι 79,7%. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνει την ειδικότητα των anti- PML αντισωμάτων στην ΠΧΚ και έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τη μελέτη των Sternsdorf T et al (302), οι οποίοι χρησιμοποιώντας υψηλής ευαισθησίας μεθόδους, βρήκαν ότι τα anti- PML στον ορό ασθενών ήταν αρνητικά σε 25 από τους 32 μη ΠΧΚ ασθενείς της μελέτης (ειδικότητα 78,1%). Η ευρισκόμενη στη μελέτη μας ειδικότητα είναι μικρότερη από αυτή της μελέτης των Mytilinaiou M et al (377), που φτάνει το 98,3%, και της μελέτης των Xiao H et al, που φτάνει το 96,3% (389), και οι δυο με ανίχνευση στον ορό των ασθενών. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί από τη μη ειδική ανοσοϊστοχημική έκφραση της PML πρωτεΐνης στους ασθενείς της μελέτης μας με άλλα ηπατικά νοσήματα και από το πλήθος των παραγόντων που μπορούν να επάγουν την έκφραση των anti-PML αντισωμάτων στον ιστό. Χαρακτηριστικά, η πρωτεΐνη PML είναι κομμάτι της κυτταρικής αντίδρασης σε πλήθος διεργασιών όπως η ρύθμιση του

κυτταρικού κύκλου, η απάντηση σε βλάβες του DNA, οι λοιμώξεις από ιούς, η ρύθμιση μεταγραφικών παραγόντων, η απόπτωση, η καταστολή της ογκογένεσης. Η έκφραση της επηρεάζεται από πλήθος παραγόντων όπως ιοί, ιντερφερόνες, φάρμακα, κυτταροκίνες, που στους ασθενείς με ηπατικά νοσήματα είναι πολύ συχνά παρόντες. Η μη ειδική ενεργοποίηση και τροποποίηση της πρωτεΐνης εξηγεί την ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων στις ομάδες των ασθενών με άλλα, πλην της ΠΧΚ, ηπατικά νοσήματα. Για τους μη ΠΧΚ ασθενείς τα αντισώματα δεν παράγονται σε επαρκή ποσότητα, ώστε να ανιχνευτούν και στον ορό των ασθενών, οδηγώντας σε υψηλότερη ειδικότητα των μεθόδων που υπολογίζουν τα αντισώματα στον ορό. Αντίθετα στο ήπαρ ανιχνεύονται με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας και δίνουν στη μέθοδο που χρησιμοποιήσαμε χαμηλότερα ποσοστά ειδικότητας, παρά το κέρδος σε ευαισθησία από τη χρήση της που ήδη αναφέραμε. Τα ποσοστά ανίχνευσης των anti-PML στο ήπαρ, στις άλλες ηπατικές νόσους είναι 13,8% στην ΠΣΧ, 25% στη ΧΗΒ, 33,3% στη ΧΗΚ, 11,1% στη ΜΑΣ ενώ στην πρώιμη ΠΧΚ το ποσοστό ανίχνευσης είναι μόλις 5%.

Ακριβώς όμως λόγω της μη ειδικής παραγωγής τους τα anti- PML αντισώματα στα διάφορα ηπατικά νοσήματα έχουν εντελώς διαφορετικό πρότυπο ανίχνευσης με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας από ότι στην ΠΧΚ. Στην ΠΧΚ οι πόροι προσβάλλονται και προσλαμβάνουν ανοσοϊστοχημική χρώση με χαρακτηριστικό ποιοτικά τρόπο και σε σημαντικά μεγαλύτερη ποσότητα (εικόνες 1-6). Φαίνεται ότι η υπερέκφραση της PML πρωτεΐνης είναι χαρακτηριστικό και ιδιαίτερο γνώρισμα της ΠΧΚ, μη απαντώμενο στα άλλα ηπατικά νοσήματα, που μας βοηθά να τη διαχωρίσουμε από αυτά. Ο παθολογοανατόμος είναι σε θέση να μας πει αν το πρότυπο προσβολής των πόρων και γενικά του ηπατικού ιστού θυμίζει ΠΧΚ και να βοηθήσει στη διαφορική διάγνωση των νοσημάτων. Η διαφορά αυτή επιπλέον βάζει την υπόνοια της ξεχωριστής σημασίας της PML πρωτεΐνης στην παθογένεια της ΠΧΚ. Πιθανότατα η πρωτεΐνη δεν υπερεκφράζεται απλά, αλλά συμμετέχει στην ιστολογική εξέλιξη της νόσου.

Αυτό έγινε ιδιαίτερα εμφανές από τη μελέτη των ασθενών ανάλογα με το ιστολογικό στάδιο. Φαίνεται λοιπόν ότι η ανίχνευση των anti- PML είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στο στάδιο Ι σε σχέση με τους ασθενείς χωρίς ιστολογικές αλλοιώσεις και σημαντικά υψηλότερη στο στάδιο ΙΙΙ σε σχέση με το στάδιο ΙΙ. Στο στάδιο ΙV η ανίχνευση των anti-PML είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με το στάδιο ΙΙΙ (εικόνα 8). Το ιστολογικό στάδιο είχε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με το PML score κατά τη μελέτη στους σ.ΠΧΚ ασθενείς και ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο στους ασθενείς προχωρημένων σταδίων (ΙΙΙ, ΙV) σε σχέση με τους ασθενείς πιο πρώιμων (0,Ι,ΙΙ) σταδίων. Οι ασθενείς προχωρημένων σταδίων ήταν στατιστικά σημαντικά θετικότεροι για το PML score σε σχέση με τους ασθενείς πρώιμων σταδίων, σε αυτή την ομάδα ασθενών. Το PML score φαίνεται να είναι σημαντικός δείκτης του ιστολογικού σταδίου της νόσου, σχετιζόμενος άμεσα

με αυτό. Το συμπέρασμα αυτό έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τη μοναδική άλλη μελέτη, που ανίχνευσε anti- PML σε ιστό ασθενών με ΠΧΚ (397). Η μείωση του PML score στο στάδιο IV εξηγείται από την προοδευτική εκδήλωση ποροπενίας, χαρακτηριστικό της νόσου στα προχωρημένα στάδια. Οι πόροι, έναντι των οποίων κατευθύνονται τα anti- PML αντισώματα, χάνονται και το score μειώνεται ως απόλυτη τιμή και ως ανίχνευση.

Είναι χαρακτηριστικό ότι οι ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ, έχουν ελάχιστη (1 στους 20, και μάλιστα με χαμηλό score) ανίχνευση anti- PML. Η ανίχνευση anti- PML σε αυτούς τους ασθενείς είναι σημαντικά χαμηλότερη ακόμα και από τους ασθενείς με ΧΗΒ και ΧΗC. Φαίνεται ότι στην πρώιμη ΠΧΚ, με τις ελάχιστες ιστολογικές αλλοιώσεις, το αντίσωμα δεν ανιχνεύεται σχεδόν καθόλου και ως εκ τούτου δε μας βοηθά διαγνωστικά και ότι η πρώιμη ΠΧΚ είναι μια διαφορετική, πολύ πρώιμη και από πλευράς ιστολογίας νόσος κατά την οποία η παρουσία αυτοαντισωμάτων (AMA) στον ορό δεν συμβαδίζει με την παρουσία anti- PML αντισωμάτων στο ήπαρ. Παρόμοιο συμπέρασμα μπορεί να εξαχθεί και από τη μη συσχέτιση των anti- PML αντισωμάτων, με οποιονδήποτε διαγνωστικό ή προγνωστικό παράγοντα των ασθενών, σε αυτή την ομάδα ασθενών.

Με τη θέσπιση και χρήση του PML score ανίχνευσης μπορέσαμε να ποσοτικοποιήσουμε τη διαφορά στην ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων. Έτσι βρήκαμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά του PML score ανάμεσα στην ΠΧΚ και στις υπόλοιπες ομάδες ασθενών. Η θετική προγνωστική αξία ανίχνευσης των anti- PML είναι 62,5% και η αρνητική προγνωστική αξία 77,6%. Βλέπουμε ότι το αντίσωμα μπορεί σε ικανοποιητικό βαθμό να ανιχνεύσει την ΠΧΚ, και να αποκλείσει την ύπαρξη ΠΧΚ στις άλλες ομάδες ασθενών με ηπατικά νοσήματα. Η διαγνωστική ακρίβεια του αντισώματος αμφισβητήθηκε μόνο όταν μελετήσαμε μαζί το σύνολο των ασθενών με ΠΧΚ, δηλαδή και τους ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ (ομάδα σ.ΠΧΚ). Στην περίπτωση αυτή η ευαισθησία ανίχνευσης του αντισώματος στην ΠΧΚ έπεσε στο 41,9 %, η δε ειδικότητά του παρέμεινε στο 79,7 %. Η θετική προγνωστική αξία της ανίχνευσης του αντισώματος έφτασε το 63,4%, ενώ η αρνητική προγνωστική αξία έπεσε στο 62,1%. Η δική μας μελέτη είναι η μόνη από τις αντίστοιχες που περιέχει τόσο μεγάλο αριθμό ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ, οι οποίοι, όπως αποδείχτηκε και από την ανάλυση, όντως αποτελούν ξεχωριστή ομάδα, έχοντας διαφορετική συμπεριφορά στην ανίχνευση anti- PML, επομένως δεν είναι λάθος που τους μελετούμε σε διαφορετική ομάδα. Δηλαδή η ανάλυση της διαγνωστικής ακρίβειας του αντισώματος χωρίς να λαβαίνουμε υπόψιν μας τους ασθενείς με πρώιμη ΠΧΚ είναι μάλλον η ενδεδεδειγμένη και προσδίδει στο αντίσωμα ιδιαίτερη διαγνωστική ακρίβεια για την ΠΧΚ, απέναντι σε όλες τις άλλες ομάδες ασθενών.

Η μελέτη των anti- PML αντισωμάτων σε σχέση με κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΠΧΚ ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτισή τους με την παρουσία συμπτωματικής νόσου στους

ασθενείς της ομάδας σ.ΠΧΚ, τόσο κατά τη βιοψία, όσο και στο τέλος της παρακολούθησης. Οι συμπτωματικοί ασθενείς είχαν σημαντικά υψηλότερο PML score από τους μη συμπτωματικούς για την ομάδα αυτή. Το εύρημα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς πλήθος βιβλιογραφικών αναφορών (184, 185, 390, 408, 409) συσχετίζει τόσο την παρουσία συμπτωμάτων κατά τη διάγνωση αλλά και την ανάπτυξη συμπτωμάτων κατά την παρακολούθηση των ασθενών, με χειρότερη πρόγνωση και αυξημένη θνητότητα από ηπατικά αίτια. Έτσι η παρουσία των anti- PML αυτοαντισωμάτων αναδείχτηκε ως δυνητικός προγνωστικός δείκτης για την ΠΧΚ.

Από τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά, το PML score είχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα χολοστατικά ένζυμα τη στιγμή της βιοψίας, την ανοσοσφαιρίνη IgM στη βιοψία και στο τέλος παρακολούθησης, ενώ οι PML (+) ασθενείς είχαν τάση για μεγαλύτερες τιμές χολερυθρίνης στη βιοψία και ALP στο τέλος παρακολούθησης, στην ομάδα σ.ΠΧΚ. Επιπλέον, το PML score παρουσίασε αρνητική συσχέτιση με την αλβουμίνη, και θετική συσχέτιση με τις γ-σφαιρίνες, στο σύνολο των ασθενών της μελέτης. Οι anti- PML θετικοί ασθενείς είχαν επίσης μεγαλύτερη διάρκεια νόσου στην ομάδα σ.ΠΧΚ, εύρημα σύμφωνο με προηγούμενη παρατήρηση στη βιβλιογραφία (377) και την τάση για μεγαλύτερη επίπτωση επιπλοκών από την ηπατική νόσο τη στιγμή της βιοψίας. Τέλος, συγκρίνοντας τους ασθενείς στις υποομάδες της σ.ΠΧΚ, βρήκαμε ότι αυτοί που έχουν και άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο PML score και αυτοί που ελάμβαναν θεραπεία με ΑΔΧΟ έχουν την τάση για μεγαλύτερες τιμές PML score.

Από τους παράγοντες που βρέθηκαν στατιστικά σημαντικοί, χολερυθρίνη, αλβουμίνη, ανοσοσφαιρίνες, και αλκαλική φωσφατάση έχουν συσχετιστεί ως δείκτες χειρότερης πρόγνωσης στις διάφορες μελέτες (πίνακας 11 του γενικού μέρους). Τα ευρήματα αυτά συνάδουν με τη συσχέτιση των anti- PML με πιο προχωρημένη ηπατική νόσο, είτε ως εχόντων παθογενετική σημασία στη νόσο, είτε ως δεικτών νόσου με πιο επιταχυνόμενη και κακή έκβαση και έρχονται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες (230, 377, 397).

Η συσχέτιση των anti- PML με την ανίχνευση άλλων αυτοαντισωμάτων στον ορό επίσης ανέδειξε σημαντικά αποτελέσματα. Τα anti- PML συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά με την παρουσία του προτύπου των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων [Multiple Nuclear Dots, (MND)] στον ανοσοφθορισμό, τόσο στο σύνολο των ασθενών της μελέτης, όσο και στις ομάδες σ.ΠΧΚ και ΠΧΚ. Το αποτέλεσμα αυτό είναι λογικό, καθώς η ανεύρεση MND είναι το χαρακτηριστικό εύρημα με τη μέθοδο ΑΦΘ, της ανίχνευσης anti- PML και συμφωνεί με τα ευρήματα προηγούμενων μελετών (302, 339, 377). Αξίζει να παρατηρήσουμε ότι σημαντικό ποσοστό MND (-) με ΑΦΘ ασθενών, 32,6% στην ομάδα σ.ΠΧΚ και 48,1% στην ομάδα ΠΧΚ, αναδείχτηκαν θετικοί για τα anti- PML, αποδεικνύοντας ότι χρησιμοποιώντας την υψηλής ευαισθησίας μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, μπορούμε να ανιχνεύσουμε ασθενείς που ακόμα και με την ευαίσθητη μέθοδο του ΑΦΘ στον ορό

δεν θα τους είχαμε ανιχνεύσει. Επιπλέον, 36,8% του συνόλου των ασθενών με σ.ΠΧΚ και 20% των ασθενών της ομάδας ΠΧΚ, που έχουν MND (+), είναι αρνητικοί για anti- PML. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τη μελέτη των Sternsdorf T et al (302), οι οποίοι δε βρήκαν ασθενείς με θετικό MND πρότυπο και αρνητικούς για anti- PML και anti- sp100. Η μελέτη όμως αυτή είναι πλέον ετεροχρονισμένη και η εξήγηση που προτείνει, ότι δηλαδή τα anti- PML και anti- sp100 είναι τα μόνα MND- ειδικά πυρηνικά αυτοαντισώματα, έχει ήδη απορριφθεί, μετά την ανακάλυψη των anti-sp140 (300). Η μη ανίχνευση anti- sp100 στη μελέτη μας δεν επαρκεί για να δικαιολογήσει το μεγάλο ποσοστό MND (+) και anti-PML (-) ασθενών, καθώς τα δυο αυτά αντισώματα, anti- PML και anti- sp100, συνυπάρχουν και συνεκφράζονται στους ασθενείς με ΠΧΚ και σε πολύ μικρό ποσοστό ανευρίσκονται μόνα τους και όχι μαζί (296, 302, 381). Είναι λογική η υπόθεση ότι εκτός από τα anti- PML, τα anti- sp100 και τα anti- sp140 πιθανά να υπάρχουν και άλλα πυρηνικά αυτοαντιγονικά, σχετιζόμενα με το πρότυπο MND αντισώματα, τα οποία η μελλοντική έρευνα θα φέρει σε γνώση.

Σημαντική επίσης ήταν η συσχέτιση των anti- PML με την ανίχνευση των AMA στον ορό των ασθενών. Αυτή ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη με όλες τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους ανίχνευσης (ELISA και ΑΦΘ) για τους PML (+) ασθενείς στην ομάδα σ.ΠΧΚ, και στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη με τη μέθοδο ΑΦΘ, στην ομάδα ΠΧΚ, οι δε AMA (+) ασθενείς είχαν υψηλότερες τιμές PML score σε σχέση με τους AMA (-). Αυτό που μέχρι τώρα είναι γνωστό για τα ειδικά για την ΠΧΚ ANA είναι ότι γενικά ανιχνεύονται πιο συχνά στους AMA αρνητικούς ασθενείς και αυτό τους προσδίδει ιδιαίτερη διαγνωστική σημασία. Η αντίληψη αυτή αλλάζει σταδιακά σε νεώτερες μελέτες, καθώς με τη χρήση νέων, πιο ευαίσθητων και πιο ειδικών τεχνικών που οδηγούν στη μείωση των AMA αρνητικών ΠΧΚ, αντισώματα όπως τα anti- sp100 ανευρίσκονται πιο συχνά στους AMA θετικούς απ' ότι στους AMA αρνητικούς ασθενείς (307). Παρόμοιο είναι και το αποτέλεσμα στο οποίο οδηγείται και η μελέτη μας, για μεγαλύτερη ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων στους AMA θετικούς σε σχέση με τους AMA αρνητικούς ασθενείς.

Επιπλέον, νεώτερες μελέτες συσχετίζουν την ανίχνευση των AMA με σοβαρότερη νόσο (230). Άρα η θετική συσχέτιση των anti- PML με τα AMA οδηγεί σε παρόμοια συμπεράσματα για την ήδη ευρισκόμενη σχέση των anti- PML με βαρύτερη νόσο.

Τα anti- PML αντισώματα παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τα aSMA και τα PCA αντισώματα, στο σύνολο των ασθενών της μελέτης, στην ομάδα σ.ΠΧΚ και στην ομάδα ΠΧΚ, στην οποία επιπλέον υπήρχε η τάση για μεγαλύτερη επίπτωση των GPA αντισωμάτων στους PML (-) ασθενείς. Οι PML (-) ασθενείς όλων αυτών των ομάδων είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές των αντισωμάτων aSMA και PCA σε σχέση με τους PML (+). Η εξήγηση που

μπορεί να δοθεί είναι ότι τα aSMA, ως ορολογικός δείκτης της Αυτοάνοσου Ηπατίτιδας (AH) (410, 411), είναι λογικό να έχουν αρνητική συσχέτιση με τα anti- PML, που είναι ειδικά για την ΠΧΚ.

Η εξήγηση για τα PCA αντισώματα δεν είναι το ίδιο ξεκάθαρη. Ξέρουμε ότι η κακοήθης αναιμία είναι ένα από τα συχνά αυτοάνοσα νοσήματα που συνυπάρχουν με την ΠΧΚ (412-415). Ξέρουμε επίσης ότι τα PCA (ή GPA) αντισώματα είναι πιο συχνά στην ΠΧΚ, σε σχέση με τις άλλες ηπατικές νόσους (416) και ότι η παρουσία τους έχει περισσότερο διαγνωστική και λιγότερο παθογενετική σημασία (417). Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι ασθενείς με συνύπαρξη και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων βρέθηκε στη μελέτη μας να έχουν σημαντικά χαμηλότερο PML score. Ένα από τα συχνότερα είναι η κακοήθης αναιμία, και ίσως η παρουσία της και η παρουσία των αντισωμάτων που την χαρακτηρίζουν να συνδυάζεται με χαμηλότερο PML score και ηπιότερη νόσο.

Η θετική συσχέτιση του PML score με τον τίτλο των antiSLA/LP αντισωμάτων είναι μια συσχέτιση που πρώτη φορά αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Τα αντισώματα αυτά περιλαμβάνονται στα διαγνωστικά κριτήρια της AH (411), παρουσιάζουν μεγάλη ειδικότητα (410) και αποτελούν δείκτες κακής πρόγνωσης (418-420). Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για να κατανοήσουμε αυτή τη συσχέτιση, πώς δηλαδή ένα αντίσωμα ειδικό της ΠΧΚ και ένα ειδικό της AH μπορεί να έχουν κοινό τρόπο παρουσίας στους ασθενείς με ηπατικά νοσήματα. Η συσχέτιση και των δυο με νόσο μεγάλης βαρύτητας δείχνει ότι εκφράζονται σε προχωρημένα στάδια της νόσου, ενδεχομένως όταν με την καταστροφή του ηπατικού παρεγχύματος πολλά αυτοαντιγόνα αποκαλύπτονται και γίνονται αντικείμενο ανοσοπαρουσίασης.

Εντύπωση προκαλεί η μη σημαντική συσχέτιση των anti- PML με άλλους προγνωστικούς δείκτες ή δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία, όπως το Mayo Risk Score, το Pares score ή με δείκτες κακής έκβασης, όπως η παρουσία κίρρωσης ή επιπλοκών ηπατικής νόσου στην παρακολούθηση των ασθενών, ή με την εξέλιξη προς τελικά σημεία (τελικού σταδίου ηπατική ανεπάρκεια, θάνατος, μεταμόσχευση). Γενικά, ο προσδιορισμός ανεξάρτητων προγνωστικών δεικτών και μαθηματικών προγνωστικών μοντέλων για την ΠΧΚ παρουσιάζει δυσκολίες (421). Τα anti- PML αντισώματα, μολονότι συσχετίστηκαν με μεγαλύτερης βαρύτητας συμπτωματική νόσο, δεν συσχετίστηκαν με χειρότερη πρόγνωση, τουλάχιστο από τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, μολονότι το χρονικό διάστημα παρακολούθησης των ασθενών ήταν ικανοποιητικό σε διάρκεια (mean \pm SD: 5,35 \pm 2,5 έτη). Μια εξήγηση που θα μπορούσε να δοθεί και που έρχεται σε συμφωνία και με τη μοναδική άλλη μελέτη που ανίχνευσε ανοσοϊστοχημικά anti- PML αντισώματα σε βιοψίες ήπατος (397) είναι ότι τα αντισώματα αυτά, μολονότι ευρισκόμενα σε πιο προχωρημένα στάδια της νόσου, λόγω της ογκοκατασταλτικής δράσης της PML πρωτεΐνης, προστατεύουν έναντι της ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκίνου, στους ασθενείς με ΠΧΚ και έτσι δεν επιβαρύνουν τελικά την πρόγνωση.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μη συσχέτιση των anti- PML αντισωμάτων με την παρουσία ουρολοιμώξεων στους ασθενείς της μελέτης μας. Τέτοιου τύπου συσχέτιση έχει βρεθεί για τα anti-sp100 αντισώματα, τα οποία υπάρχουν πιο συχνά σε ασθενείς με παρουσία ουρολοιμώξεων (308) και για τα οποία έχουμε ήδη αναφέρει ότι συνυπάρχουν και εκφράζονται παράλληλα με τα anti-PML. Με βάση το μοντέλο της μοριακής μίμησης, φαίνεται ότι ο υπεύθυνος επίτοπος έναντι του οποίου στρέφονται τα αυτοαντισώματα που παράγονται μετά την έκθεση στον μικροοργανισμό [E.Coli, σύμφωνα με τις περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές (86, 89)], σχετίζεται με τον επίτοπο των anti- sp100 και όχι των anti- PML αντισωμάτων.

Τέλος, σημαντική είναι η παρατήρηση ότι η αλλαγή στην έκφραση της PML πρωτεΐνης οδηγεί στην εκδήλωση της Οξείας Προμυελοκυτταρικής Λευχαιμίας. Η αλλαγή αυτή είναι αποτέλεσμα της διαμετάθεσης του γονιδίου της PML με το γονίδιο του υποδοχέα α του ρετινοϊκού οξέος (Retinoic Acid Receptor α, RARα). Αυτό ακολουθείται από την έκφραση των ανώμαλων πρωτεϊνών PML-RARα και RARα-PML, τη διαταραχή στη δομή των PML-NBs και τελικά την εκδήλωση της νόσου. Η έκφραση της PML-πρωτεΐνης εντός των PML-NBs αποκαθίστανται με την χρήση του φυσικού συνδέτη του RARα, ολο-trans ρετινοϊκού οξέος, all-trans retinoic acid (ATRA) και του τριοξειδίου του αρσενικού - arsenic trioxide (As_2O_3), που είναι θεραπείες εκλογής και μικρής τοξικότητας για τη νόσο (314, 340, 342). Αν μπορέσουμε σε μοριακό επίπεδο να ταυτοποιήσουμε την αλλαγή που επιτελείται στην ΠΧΚ, η οποία οδηγεί στην υπερέκφραση, ή ανώμαλη έκφραση της PML-πρωτεΐνης και στην προϊούσα με το ιστολογικό στάδιο όλο και μεγαλύτερη παραγωγή των anti-PML αντισωμάτων, ενδεχομένως θα ήταν ενδιαφέρον να σκεφτούμε τη χρησιμοποίηση αντίστοιχων ή και των ίδιων μη τοξικών φαρμάκων ως θεραπειών για την ΠΧΚ, σε PML(+) ασθενείς, που δεν απαντούν στις ήδη υπάρχουσες θεραπείες (ΑΔΧΠ, κορτικοστεροειδή και υπόλοιπα φάρμακα – πίνακας 10 του γενικού μέρους).

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1) Η μελέτη μας αποτελεί τη δεύτερη μόλις προσπάθεια στη διεθνή βιβλιογραφία για ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων σε ιστό ασθενών με ΠΧΚ και άλλα ηπατικά νοσήματα, μετά τη μελέτη των Hintemann C et al (397), καθώς όλες οι υπόλοιπες μελέτες (302, 339, 377, 388, 389) ανίχνευσαν τα αντισώματα στον ορό. Αποτελεί την πρώτη προσπάθεια ποσοτικοποίησης της έκφρασης των anti-PML, με τη θέσπιση του PML score, ώστε να διερευνηθεί σε βάθος η κλινική σημασία της παρουσίας των αντισωμάτων αυτών.

2) Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται σε σημαντικά μεγαλύτερη ποσότητα και ποιοτικά πολύ πιο έντονα, στους πόρους ασθενών με ΠΧΚ, σε σχέση με τα άλλα ηπατικά νοσήματα. Η διαφορά είναι εμφανής και ξεκάθαρη, ώστε να επιτρέπει τη διαφορική διάγνωση από τις άλλες ηπατικές νόσους.

3) Το PML score σχετίζεται άμεσα με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, και αυξάνεται καθώς η νόσος εξελίσσεται ιστολογικά, από τη μη ύπαρξη αλλοιώσεων στο στάδιο I, και από το στάδιο II στο στάδιο III. Τελικά, στο στάδιο IV, λόγω της μείωσης των πόρων σε αριθμό (ποροπενία), η ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων μειώνεται.

4) Το PML score συσχετίστηκε με την παρουσία συμπτωματικής νόσου, με νόσο μεγαλύτερης διάρκειας καθώς και με βιοχημικούς δείκτες βαρύτητας / ενεργότητας της νόσου όπως η χολερυθρίνη η αλβουμίνη οι ανοσοσφαιρίνες και η αλκαλική φωσφατάση. Δεν συσχετίστηκε με προγνωστικούς δείκτες (όπως το Mayo Risk Score) ή δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία με ΑΔΧΟ (όπως το Pares score), με παρουσία επιπλοκών ηπατικής νόσου, κίρρωσης ή αρνητική έκβαση στα τελικά σημεία (ηπατική ανεπάρκεια τελικού σταδίου, θάνατος, μεταμόσχευση) στο τέλος της παρακολούθησης των ασθενών.

5) Είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο στην ΠΧΚ, σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα ηπατικά νοσήματα.

6) Δεν ανιχνεύεται στην πρώιμη ΠΧΚ, και δεν έχει νόημα η εφαρμογή της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης σε αυτή την ομάδα ασθενών.

7) Η παρουσία των anti- PML ανιχνεύεται στον ιστό ασθενών με ΠΧΚ με σημαντικά μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με την ανίχνευση στον ορό. Με τη χρήση της μεθόδου είμαστε σε θέση να ανιχνεύσουμε τα αντισώματα σε σημαντικό ποσοστό ασθενών που ακόμα και η μέθοδος του ΑΦΘ, που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη δυνατή ευαισθησία από τις μεθόδους που διενεργούνται στον ορό, δεν μπορεί να αποκαλύψει. Η ειδικότητα, η θετική και αρνητική προγνωστική αξία της ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης μπορούν να αποκλείουν με ασφάλεια την ΠΧΚ, στους ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα.

8) Η ανίχνευση των anti- PML συσχετίστηκε θετικά με το πρότυπο MND στις μελέτες ΑΦΘ στον ορό και με την παρουσία των AMA και των anti-SLA/LP αντισωμάτων, ενώ συσχετίστηκε αρνητικά με την παρουσία των aSMA και των PCA / GPA. Καθορίστηκε έτσι συνολικά η σχέση των anti- PML στον ιστό, με την παρουσία αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών.

9) Τα anti- PML ανιχνεύονται επίσης σε μια κλωνική διαταραχή, την Οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία, με διαγνωστικές και θεραπευτικές προεκτάσεις από την ανίχνευσή τους και στη χρόνια νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή. Περαιτέρω μελέτη απαιτείται για τη διευκρίνιση της ιδιαίτερης σημασίας αυτών των αυτοαντισωμάτων στην ΠΧΚ που μπορεί να αναδείξει ενδιαφέρουσες διαγνωστικές ή / και θεραπευτικές προοπτικές.

VI. ΠΕΡΙΛΗΨΗ – SUMMARY

Η Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση (ΠΧΚ) είναι ένα αυτοανόσου αρχής, αγνώστου αιτιολογίας, χρόνια χολοστατικό νόσημα του ήπατος χαρακτηριζόμενο από προσβολή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων, κατά κύριο λόγο μεσήλικων γυναικών. Αυτοαντισώματα ορόσημο στη διάγνωση της νόσου αποτελούν τα αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA).

Για τη διάγνωσή της χρησιμοποιούνται 3 κριτήρια: ανίχνευση, σε μελέτες ανοσοφθορισμού (ΑΦΘ), AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αύξηση των χολοστατικών ενζύμων για τουλάχιστο 6 μήνες, η οποία έχει διερευνηθεί και έχει αποκλειστεί άλλο αίτιο και συμβατή βιοψία ήπατος.

Ιδιαίτερη ομάδα των ασθενών με ΠΧΚ αποτελεί η πρόιμη ΠΧΚ. Πρόκειται για ασθενείς με επανηλλειμένη μέτρηση θετικών AMA σε τίτλο $\geq 1:40$, αλλά απουσία βιοχημικής δραστηριότητας ή συμπτωμάτων, που πάσχουν από μια βραδέως εξελισσόμενη νόσο, με σπάνια εξέλιξη σε πυλαία υπέρταση ή κίρρωση.

Μια άλλη σημαντική κατηγορία αυτοαντισωμάτων στην ΠΧΚ είναι τα ειδικά για την ΠΧΚ αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA). Παρουσιάζουν μεγάλη ειδικότητα για τη νόσο και η ανίχνευσή τους βοηθά ιδιαίτερα στη διάγνωση των ασθενών με ΠΧΚ στους οποίους δεν ανιχνεύονται AMA στον ορό (ποσοστό περί το 5% των ασθενών με ΠΧΚ). Ένα από αυτά τα αντισώματα είναι το αντίσωμα έναντι της πρωτεΐνης της Προμυελοκυτταρικής Λευχαιμίας [antibody against Promyelocytic Leukaemia protein, (anti- PML)]. Πρωτοανιχνεύτηκε στους ασθενείς με οξεία Προμυελοκυτταρική Λευχαιμία και βρίσκεται επίσης στη χρόνια νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή [chronic graft-versus-host disease (GVHD)]. Στους ασθενείς με ΠΧΚ ανιχνεύεται σε ποσοστά από 8,7% ως 41,2%, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του και η ανίχνευσή του θεωρείται κακός προγνωστικός δείκτης. Παρουσιάζει το πρότυπο των πολλαπλών πυρηνικών κηλίδων [Multiple Nuclear Dots, (MND)] στις μελέτες με ΑΦΘ σε κυτταρικές σειρές HEP2 κυττάρων. Τα αντισώματα αυτά συνεκφράζονται και συνυπάρχουν με τα αντισώματα έναντι της πρωτεΐνης sp- 100 (anti- sp100).

Μια μόνο αναφορά υπάρχει στη βιβλιογραφία για ανίχνευση των anti- PML αντισωμάτων σε βιοψίες ήπατος ασθενών. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν:

α) Να προσδιορίσουμε τη συχνότητα ανίχνευσης των anti-PML αντισωμάτων σε βιοψίες ήπατος, ασθενών με ΠΧΚ και ασθενών με αυτοάνοσα ή άλλα ηπατικά νοσήματα.

β) Να συσχετίσουμε την παρουσία των anti-PML αντισωμάτων με κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά και με την παρουσία άλλων αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, προκειμένου να προσδιορίσουμε την κλινική σημασία της παρουσίας τους στον ιστό ασθενών με ΠΧΚ.

γ) Να δούμε αν ο προσδιορισμός σε βιοψία ήπατος αυτού του πολύ ειδικού για την ΠΧΚ αυτοαντισώματος μπορεί να βοηθήσει στην ανίχνευση των ασθενών με πρόωμη ΠΧΚ.

δ) Επιπλέον να προσδιορίσουμε αν η ανίχνευση των anti-PML αντισωμάτων σε βιοψία ήπατος μπορεί να συσχετιστεί με την έκβαση / πρόγνωση της ΠΧΚ και με την ανταπόκριση στη θεραπεία με Αρκτοδεοξυχολικό Οξύ (ΑΔΧΟ).

ε) Τέλος να διευκρινίσουμε κατά πόσο μπορεί να μας βοηθήσει η ανίχνευση του αντισώματος στη διάγνωση της νόσου, και στον αποκλεισμό της νόσου σε ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα.

Βρέθηκε ότι τα anti- PML αντισώματα ανιχνεύονται στην ΠΧΚ σε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό (59,5%), έναντι των υπόλοιπων ηπατικών νοσημάτων [13,8% στην Πρωτοπαθή Σκληρυντική Χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ), 25% στη Χρόνια Ηπατίτιδα Β (ΧΗΒ), 33,3% στη Χρόνια Ηπατίτιδα C (ΧΗC), 11,1% στη Μη Αλκοολική Στεατοηπατίτιδα (ΜΑΣ) και μόλις 5% στην πρόωμη ΠΧΚ]. Επιπλέον ανιχνεύονται σε σημαντικά μεγαλύτερη ποσότητα και ποιοτικά πολύ πιο έντονα, στους πόρους ασθενών με ΠΧΚ, σε σχέση με τα άλλα ηπατικά νοσήματα, με διαφορά που επιτρέπει τη διαφορική διάγνωση από τις άλλες ηπατικές νόσους.

Η ανίχνευσή τους σε ιστό (59,5%) ασθενών με ΠΧΚ είναι σημαντικά μεγαλύτερη από την ανίχνευσή τους στον ορό (από 8,7% έως 41,2% ανάλογα με τη μελέτη). Με τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας είμαστε σε θέση να ανιχνεύσουμε τα αντισώματα σε σημαντικό ποσοστό ασθενών που δεν μπορούν να ανιχνευτούν με τις μεθόδους που διενεργούνται στον ορό. Η ειδικότητα (79,7%), η θετική προγνωστική αξία (62,5%) και η αρνητική προγνωστική αξία (77,6%) της ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης είναι επαρκείς ώστε να αποκλείεται με ασφάλεια η ΠΧΚ, στους ασθενείς με άλλα ηπατικά νοσήματα.

Η ανίχνευσή τους συσχετίζεται άμεσα με το ιστολογικό στάδιο της νόσου, και αυξάνεται καθώς η νόσος εξελίσσεται ιστολογικά. Συσχετίζεται επιπλέον με την παρουσία συμπτωματικής νόσου, με νόσο μεγαλύτερης διάρκειας και με βιοχημικούς δείκτες βαρύτητας / ενεργότητας της νόσου όπως η

χολερυθρίνη η αλβουμίνη οι ανοσοσφαιρίνες και η αλκαλική φωσφατάση. Δεν συσχετίζεται με προγνωστικούς δείκτες, δείκτες ανταπόκρισης στη θεραπεία με ΑΔΧΟ, με παρουσία επιπλοκών ηπατικής νόσου ή κίρρωσης.

Η παρουσία των αντισωμάτων συσχετίζεται θετικά με το πρότυπο MND στις μελέτες ΑΦΘ στον ορό και με την παρουσία AMA και αντισωμάτων έναντι διαλυτών αντιγόνων ήπατος/ παγκρέατος [anti-soluble liver antigen/ liver-pancreas antibodies (anti-SLA/LP)], ενώ συσχετίζεται αρνητικά με την παρουσία αντισωμάτων έναντι λείων μυϊκών ινών [anti-smooth muscle antibodies (aSMA)], και των αντισωμάτων έναντι τοιχωματικών κυττάρων στομάχου [parietal cell antibodies (PCA)] ή έναντι γαστρικών- τοιχωματικών κυττάρων [gastric parietal cells (GPA)].

Δεν βρέθηκε να βοηθούν στη διάγνωση ασθενών με πρώιμη ΠΧΚ, καθώς οι ασθενείς αυτοί δεν εκφράζουν αυτά τα αντισώματα στις βιοψίες τους.

Η θέσπιση του PML score ποσοτικοποίησε την έκφραση των anti- PML αντισωμάτων στον ιστό, ώστε να είναι δυνατές οι συγκρίσεις ανάμεσα στις διάφορες ομάδες.

Νέες μελέτες είναι απαραίτητες, προκειμένου να διευκρινιστεί περαιτέρω η ιδιαίτερη σημασία αυτών των αυτοαντισωμάτων στην ΠΧΚ, με ενδιαφέρουσες πιθανές διαγνωστικές ή / και θεραπευτικές προοπτικές.

SUMMARY

Primary Biliary Cirrhosis (PBC) is a chronic cholestatic liver disease of unknown aetiology and autoimmune origin, characterized by progressive destruction of small intrahepatic bile ducts, affecting mainly middle-aged women. Hallmark for the serological diagnosis of PBC is the detection of anti-mitochondrial antibodies (AMA).

3 diagnostic criteria are currently in use for the disease: detection of AMA by immunofluorescence (IFL) techniques, titers $\geq 1:40$, elevated cholestatic liver enzymes for more than 6 months, with exclusion of other aetiologies and compatible liver biopsy.

A special group of the disease is that of patients with early PBC. They are characterized by repetitive AMA positivity ($\geq 1:40$), but normal liver function tests and absence of symptoms. According to the literature, they do have PBC, but their disease has slow progression and rare evolution to portal hypertension or cirrhosis.

Another category of autoantibodies in PBC is the PBC specific anti- nuclear antibodies (ANA). They exhibit remarkable specificity and their detection is of explicit value in the identification of AMA negative PBC patients ($\cong 5\%$ of PBC patients). The antibody against Promyelocytic Leukaemia protein, (anti- PML antibody) belongs to this category. Detected at first place in patients

with Acute Promyelocytic Leukemia, it has also been found in chronic graft-versus-host disease (GVHD).

Serum of patients with PBC is positive for anti- PML antibodies in a percentage between 8,7% - 41,2%, depending on the method applied for their detection, and they are thought to be a prognostic marker of severe disease and bad outcome. They develop Multiple Nuclear Dots (MND) pattern, by IFL on human epithelial (HEp-2) cells. Those antibodies co-exist and correlate with the antibodies against sp- 100 protein (anti- sp100 antibodies).

There is only one more report of anti- PML detection in human liver biopsies. The purpose of our study was:

a) To define the frequency of anti- PML antibodies in liver biopsies of PBC patients and compare it with patients with other liver diseases.

b) To find the correlation of anti- PML antibodies with clinical and laboratory characteristics and with the presence of other autoantibodies in the serum of PBC patients.

c) To investigate the possibility that anti- PML antibodies detection may contribute to the diagnosis of early PBC.

d) To find a possible association between anti- PML presence and PBC prognosis or favorable response to therapy with ursodeoxycholic acid (UDCA).

e) To identify their diagnostic significance and their ability to discriminate PBC from other liver diseases.

Our study found that anti- PML antibodies are detected in a significantly higher proportion of PBC patients (59,5%) against patients with other liver diseases [13,8% in Primary Sclerosing Cholangitis (PSC) patients, 25% in patients with chronic Hepatitis B virus (HBV) infection, 33,3% in patients with chronic Hepatitis C virus (HCV) infection, 11,1% in patients with Non Alcoholic Steatohepatitis (NASH), and only 5% in patients with early PBC]. They are detected in a distinctive and unique manner, across the bile ducts of PBC patients, so that differentiation from other liver diseases is accomplished.

Their detection in liver tissue in 59,5% of PBC patients was much greater than that achieved in serum (8,7% - 41,2%, according to the study). With application of our immunocytochemistry

method we were able to detect patients that no method applied in the serum could detect. Specificity, positive and negative predictive value of our method (79,7%, 62,5% and 77,6% respectively) were sufficient for the discrimination of PBC amongst patients with other liver diseases.

A direct correlation between anti- PML staining and histologic progression of the disease was found. Furthermore, correlation with symptomatic, more severe disease and with disease duration was observed, as well as with biochemical markers of disease severity such as serum bilirubin, albumin, immunoglobulins and alkaline phosphatase. No correlation was found with prognostic markers or models, or scores for the prediction of response to UDCA.

Positive correlation with MND pattern by IFL on HEP-2 cells, with AMA and anti-soluble liver antigen/ liver-pancreas antibodies (anti-SLA/LP) detection in serum was also found while negative correlation with anti-smooth muscle antibodies (aSMA) and parietal cell antibodies (PCA) / gastric parietal cells (GPA) antibodies detection was observed.

Anti- PML antibodies are not sufficiently detected in early PBC patients, and should not be used for this PBC group.

Adoption of PML score made the quantification of our method possible, so that more accurate study could be performed.

New studies should be performed, to further clarify the significance of anti- PML antibodies, with possible diagnostic or therapeutic prospects for PBC in the future.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 2005 Sep 22;353(12):1261-73.
2. Kumagi T, Heathcote EJ. Primary biliary cirrhosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3:1.
3. Addison T GW. On a certain affection of the skin—vitiligoidea—a plana, b tuberosa. *Guy's Hosp Rep*. 1851;7:265.
4. Ahrens EH, Jr., Payne MA, Kunkel HG, Eisenmenger WJ, Blondheim SH. Primary biliary cirrhosis. *Medicine (Baltimore)*. 1950 Dec;29(4):299-364.
5. Dauphinee JA, Sinclair JC. Primary biliary cirrhosis. *Can Med Assoc J*. 1949 Jul;61(1):1-6.
6. Nguyen DL, Juran BD, Lazaridis KN. Primary biliary cirrhosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2010 Oct;24(5):647-54.
7. Rubin E, Schaffner F, Popper H. Primary Biliary Cirrhosis. Chronic Non-Suppurative Destructive Cholangitis. *Am J Pathol*. 1965 Mar;46:387-407.
8. Kumagi T, Onji M. Presentation and diagnosis of primary biliary cirrhosis in the 21st century. *Clin Liver Dis*. 2008 May;12(2):243-59; vii.
9. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S. Serological Tests in Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis. *Lancet*. 1965 Apr 17;1(7390):827-31.
10. Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J, Kloppel W. ATPase-associated antigen (M2): marker antigen for serological diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet*. 1982 Dec 25;2(8313):1423-6.
11. 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 May 15;138(10):3525-31.
12. Yeaman SJ, Fussey SP, Danner DJ, James OF, Mutimer DJ, Bassendine MF. Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens. *Lancet*. 1988 May 14;1(8594):1067-70.
13. SHERLOCK S. Diseases of the Liver and Biliary System. ELEVENTH ed: Blackwell Science Ltd a Blackwell Publishing Company; 2002.
14. Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 1987 Feb 26;316(9):521-8.
15. Prince MI, James OF. The epidemiology of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2003 Nov;7(4):795-819.
16. Hamlyn AN, Sherlock S. The epidemiology of primary biliary cirrhosis: a survey of mortality in England and Wales. *Gut*. 1974 Jun;15(6):473-9.
17. Danielsson A, Boqvist L, Uddenfeldt P. Epidemiology of primary biliary cirrhosis in a defined rural population in the northern part of Sweden. *Hepatology*. 1990 Mar;11(3):458-64.

18. Witt-Sullivan H, Heathcote J, Cauch K, Blendis L, Ghent C, Katz A, et al. The demography of primary biliary cirrhosis in Ontario, Canada. *Hepatology*. 1990 Jul;12(1):98-105.
19. Kim WR, Lindor KD, Locke GR, 3rd, Therneau TM, Homburger HA, Batts KP, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology*. 2000 Dec;119(6):1631-6.
20. 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 Jun;36(6):927-30.
21. 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 Aug;30(2):390-4.
22. Hurlburt KJ, McMahon BJ, Deubner H, Hsu-Trawinski B, Williams JL, Kowdley KV. Prevalence of autoimmune liver disease in Alaska Natives. *Am J Gastroenterol*. 2002 Sep;97(9):2402-7.
23. Lazaridis KN, Talwalkar JA. Clinical epidemiology of primary biliary cirrhosis: incidence, prevalence, and impact of therapy. *J Clin Gastroenterol*. 2007 May-Jun;41(5):494-500.
24. Peters MG, Di Bisceglie AM, Kowdley KV, Flye NL, Luketic VA, Munoz SJ, et al. Differences between Caucasian, African American, and Hispanic patients with primary biliary cirrhosis in the United States. *Hepatology*. 2007 Sep;46(3):769-75.
25. Sood S, Gow PJ, Christie JM, Angus PW. Epidemiology of primary biliary cirrhosis in Victoria, Australia: high prevalence in migrant populations. *Gastroenterology*. 2004 Aug;127(2):470-5.
26. Myers RP, Shaheen AA, Fong A, Burak KW, Wan A, Swain MG, et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a Canadian health region: a population-based study. *Hepatology*. 2009 Dec;50(6):1884-92.
27. Mattalia A, Quaranta S, Leung PS, Bauducci M, Van de Water J, Calvo PL, et al. Characterization of antimitochondrial antibodies in health adults. *Hepatology*. 1998 Mar;27(3):656-61.
28. Ohba K, Omagari K, Kinoshita H, Soda H, Masuda J, Hazama H, et al. Primary biliary cirrhosis among atomic bomb survivors in Nagasaki, Japan. *J Clin Epidemiol*. 2001 Aug;54(8):845-50.
29. 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 Dec;34(6):1083-8.
30. Ala A, Stanca CM, Bu-Ghanim M, Ahmado I, Branch AD, Schiano TD, et al. Increased prevalence of primary biliary cirrhosis near Superfund toxic waste sites. *Hepatology*. 2006 Mar;43(3):525-31.

31. Parikh-Patel A, Gold E, Mackay IR, Gershwin ME. The geoepidemiology of primary biliary cirrhosis: contrasts and comparisons with the spectrum of autoimmune diseases. *Clin Immunol.* 1999 May;91(2):206-18.
32. Bach N, Schaffner F. Familial primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1994 Jun;20(6):698-701.
33. Jones DE, Watt FE, Metcalf JV, Bassendine MF, James OF. Familial primary biliary cirrhosis reassessed: a geographically-based population study. *J Hepatol.* 1999 Mar;30(3):402-7.
34. Tsuji K, Watanabe Y, Van De Water J, Nakanishi T, Kajiyama G, Parikh-Patel A, et al. Familial primary biliary cirrhosis in Hiroshima. *J Autoimmun.* 1999 Aug;13(1):171-8.
35. Abu-Mouch S, Selmi C, Benson GD, Kenny TP, Invernizzi P, Zuin M, et al. Geographic clusters of primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol.* 2003 Jun-Dec;10(2-4):127-31.
36. Selmi C, Mayo MJ, Bach N, Ishibashi H, Invernizzi P, Gish RG, et al. Primary biliary cirrhosis in monozygotic and dizygotic twins: genetics, epigenetics, and environment. *Gastroenterology.* 2004 Aug;127(2):485-92.
37. Underhill J, Donaldson P, Bray G, Doherty D, Portmann B, Williams R. Susceptibility to primary biliary cirrhosis is associated with the HLA-DR8-DQB1*0402 haplotype. *Hepatology.* 1992 Dec;16(6):1404-8.
38. Gregory WL, Mehal W, Dunn AN, Cavanagh G, Chapman R, Fleming KA, et al. Primary biliary cirrhosis: contribution of HLA class II allele DR8. *Q J Med.* 1993 Jun;86(6):393-9.
39. Underhill JA, Donaldson PT, Doherty DG, Manabe K, Williams R. HLA DPB polymorphism in primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1995 Apr;21(4):959-62.
40. Mella JG, Roschmann E, Maier KP, Volk BA. Association of primary biliary cirrhosis with the allele HLA-DPB1*0301 in a German population. *Hepatology.* 1995 Feb;21(2):398-402.
41. Jones DE, Donaldson PT. Genetic factors in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis.* 2003 Nov;7(4):841-64.
42. Juran BD, Lazaridis KN. Genetics and genomics of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis.* 2008 May;12(2):349-65; ix.
43. Poupon R, Ping C, Chretien Y, Corpechot C, Chazouilleres O, Simon T, et al. Genetic factors of susceptibility and of severity in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2008 Dec;49(6):1038-45.
44. 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 Aug;31(2):242-7.

45. Zappala F, Grove J, Watt FE, Daly AK, Day CP, Bassendine MF, et al. No evidence for involvement of the interleukin-10 -592 promoter polymorphism in genetic susceptibility to primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 1998 May;28(5):820-3.
46. Beuers U, Oude-Elferink RP. New light on anion exchangers in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2008 Dec;49(6):881-3.
47. Gregory WL, Daly AK, Dunn AN, Cavanagh G, Idle JR, James OF, et al. Analysis of HLA-class-II-encoded antigen-processing genes TAP1 and TAP2 in primary biliary cirrhosis. *Q J Med.* 1994 Apr;87(4):237-44.
48. Liu X, Invernizzi P, Lu Y, Kosoy R, Lu Y, Bianchi I, et al. Genome-wide meta-analyses identify three loci associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2010 Aug;42(8):658-60.
49. Hirschfield GM, Liu X, Han Y, Gorlov IP, Lu Y, Xu C, et al. Variants at IRF5-TNPO3, 17q12-21 and MMEL1 are associated with primary biliary cirrhosis. *Nat Genet.* 2010 Aug;42(8):655-7.
50. Filipe-Santos O, Bustamante J, Chapgier A, Vogt G, de Beaucoudrey L, Feinberg J, et al. Inborn errors of IL-12/23- and IFN-gamma-mediated immunity: molecular, cellular, and clinical features. *Semin Immunol.* 2006 Dec;18(6):347-61.
51. Donaldson P, Veeramani S, Baragiotta A, Floreani A, Venturi C, Pearce S, et al. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 single nucleotide polymorphisms and haplotypes in primary biliary cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007 Jun;5(6):755-60.
52. Hirschfield GM, Liu X, Xu C, Lu Y, Xie G, Lu Y, et al. Primary biliary cirrhosis associated with HLA, IL12A, and IL12RB2 variants. *N Engl J Med.* 2009 Jun 11;360(24):2544-55.
53. Juran BD, Atkinson EJ, Schlicht EM, Fridley BL, Lazaridis KN. Primary biliary cirrhosis is associated with a genetic variant in the 3' flanking region of the CTLA4 gene. *Gastroenterology.* 2008 Oct;135(4):1200-6.
54. Walker EJ, Hirschfield GM, Xu C, Lu Y, Liu X, Lu Y, et al. CTLA4/ICOS gene variants and haplotypes are associated with rheumatoid arthritis and primary biliary cirrhosis in the Canadian population. *Arthritis Rheum.* 2009 Apr;60(4):931-7.
55. Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Kikuchi K, Shibuya A, Miyakawa H, et al. Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol.* 2009 Jun;50(6):1202-9.
56. D'Aldebert E, Biyeyeme Bi Mve MJ, Mergey M, Wendum D, Firrincieli D, Coilly A, et al. Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium. *Gastroenterology.* 2009 Apr;136(4):1435-43.
57. Poupon R. Primary biliary cirrhosis: a 2010 update. *J Hepatol.* 2010 May;52(5):745-58.

58. Corpechot C, Barbu V, Chazouilleres O, Poupon R. Fetal microchimerism in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2000 Nov;33(5):696-700.
59. Gershwin ME, Selmi C, Worman HJ, Gold EB, Watnik M, Utts J, et al. Risk factors and comorbidities in primary biliary cirrhosis: a controlled interview-based study of 1032 patients. *Hepatology.* 2005 Nov;42(5):1194-202.
60. Howel D, Fischbacher CM, Bhopal RS, Gray J, Metcalf JV, James OF. An exploratory population-based case-control study of primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 2000 May;31(5):1055-60.
61. Long SA, Quan C, Van de Water J, Nantz MH, Kurth MJ, Barsky D, et al. Immunoreactivity of organic mimeotopes of the E2 component of pyruvate dehydrogenase: connecting xenobiotics with primary biliary cirrhosis. *J Immunol.* 2001 Sep 1;167(5):2956-63.
62. Bruggraber SF, Leung PS, Amano K, Quan C, Kurth MJ, Nantz MH, et al. Autoreactivity to lipoate and a conjugated form of lipoate in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 2003 Dec;125(6):1705-13.
63. Leung PS, Quan C, Park O, Van de Water J, Kurth MJ, Nantz MH, et al. Immunization with a xenobiotic 6-bromohexanoate bovine serum albumin conjugate induces antimitochondrial antibodies. *J Immunol.* 2003 May 15;170(10):5326-32.
64. Leung PS, Park O, Tsuneyama K, Kurth MJ, Lam KS, Ansari AA, et al. Induction of primary biliary cirrhosis in guinea pigs following chemical xenobiotic immunization. *J Immunol.* 2007 Aug 15;179(4):2651-7.
65. Smyk D, Mytilinaiou MG, Rigopoulou EI, Bogdanos DP. PBC triggers in water reservoirs, coal mining areas and waste disposal sites: from Newcastle to New York. *Dis Markers.* 2010;29(6):337-44.
66. Eliasson E, Gardner I, Hume-Smith H, de Waziers I, Beaune P, Kenna JG. Interindividual variability in P450-dependent generation of neoantigens in halothane hepatitis. *Chem Biol Interact.* 1998 Nov 6;116(1-2):123-41.
67. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008 Feb 28;358(9):929-39.
68. Lakehal F, Dansette PM, Becquemont L, Lasnier E, Delelo R, Balladur P, et al. Indirect cytotoxicity of flucloxacillin toward human biliary epithelium via metabolite formation in hepatocytes. *Chem Res Toxicol.* 2001 Jun;14(6):694-701.
69. Walden HR, Kirby JA, Yeaman SJ, Gray J, Jones DE, Palmer JM. Xenobiotic incorporation into pyruvate dehydrogenase complex can occur via the exogenous lipoylation pathway. *Hepatology.* 2008 Dec;48(6):1874-84.

70. Rieger R, Leung PS, Jeddeloh MR, Kurth MJ, Nantz MH, Lam KS, et al. Identification of 2-nonynoic acid, a cosmetic component, as a potential trigger of primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun.* 2006 Aug;27(1):7-16.
71. Wakabayashi K, Yoshida K, Leung PS, Moritoki Y, Yang GX, Tsuneyama K, et al. Induction of autoimmune cholangitis in non-obese diabetic (NOD).1101 mice following a chemical xenobiotic immunization. *Clin Exp Immunol.* 2009 Mar;155(3):577-86.
72. Wakabayashi K, Lian ZX, Leung PS, Moritoki Y, Tsuneyama K, Kurth MJ, et al. Loss of tolerance in C57BL/6 mice to the autoantigen E2 subunit of pyruvate dehydrogenase by a xenobiotic with ensuing biliary ductular disease. *Hepatology.* 2008 Aug;48(2):531-40.
73. Selmi C, Ross SR, Ansari AA, Invernizzi P, Podda M, Coppel RL, et al. Lack of immunological or molecular evidence for a role of mouse mammary tumor retrovirus in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 2004 Aug;127(2):493-501.
74. Selmi C, Balkwill DL, Invernizzi P, Ansari AA, Coppel RL, Podda M, et al. Patients with primary biliary cirrhosis react against a ubiquitous xenobiotic-metabolizing bacterium. *Hepatology.* 2003 Nov;38(5):1250-7.
75. Mattner J, Savage PB, Leung P, Oertelt SS, Wang V, Trivedi O, et al. Liver autoimmunity triggered by microbial activation of natural killer T cells. *Cell Host Microbe.* 2008 May 15;3(5):304-15.
76. Sadamoto T, Joplin R, Keogh A, Mason A, Carman W, Neuberger J. Expression of pyruvate-dehydrogenase complex PDC-E2 on biliary epithelial cells induced by lymph nodes from primary biliary cirrhosis. *Lancet.* 1998 Nov 14;352(9140):1595-6.
77. Xu L, Shen Z, Guo L, Fodera B, Keogh A, Joplin R, et al. Does a betaretrovirus infection trigger primary biliary cirrhosis? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Jul 8;100(14):8454-9.
78. Irie J, Wu Y, Wicker LS, Rainbow D, Nalesnik MA, Hirsch R, et al. NOD.c3c4 congenic mice develop autoimmune biliary disease that serologically and pathogenetically models human primary biliary cirrhosis. *J Exp Med.* 2006 May 15;203(5):1209-19.
79. Johal H, Scott GM, Jones R, Camaris C, Riordan S, Rawlinson WD. Mouse mammary tumour virus-like virus (MMTV-LV) is present within the liver in a wide range of hepatic disorders and unrelated to nuclear p53 expression or hepatocarcinogenesis. *J Hepatol.* 2009 Mar;50(3):548-54.
80. Mason AL, Lindor KD, Bacon BR, Vincent C, Neuberger JM, Wasilenko ST. Clinical Trial: Randomized controlled trial of zidovudine and lamivudine for patients with primary biliary cirrhosis stabilized on ursodiol. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008 Jul 9.
81. Ichiki Y, Selmi C, Shimoda S, Ishibashi H, Gordon SC, Gershwin ME. Mitochondrial antigens as targets of cellular and humoral auto-immunity in primary biliary cirrhosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2005 Apr;28(2):83-91.

82. Harada K, Tsuneyama K, Sudo Y, Masuda S, Nakanuma 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 Mar;33(3):530-6.
83. 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 Mar;40(3):380-4.
84. Leung PS, Park O, Matsumura S, Ansari AA, Coppel RL, Gershwin ME. Is there a relation between *Chlamydia* infection and primary biliary cirrhosis? *Clin Dev Immunol*. 2003 Jun-Dec;10(2-4):227-33.
85. Maddala YK, Jorgensen RA, Angulo P, Lindor KD. Open-label pilot study of tetracycline in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2004 Mar;99(3):566-7.
86. Bogdanos DP, Baum H, Grasso A, Okamoto M, Butler P, Ma Y, et al. Microbial mimics are major targets of crossreactivity with human pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2004 Jan;40(1):31-9.
87. Butler P, Hamilton-Miller J, Baum H, Burroughs AK. Detection of M2 antibodies in patients with recurrent urinary tract infection using an ELISA and purified PBC specific antigens. Evidence for a molecular mimicry mechanism in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis? *Biochem Mol Biol Int*. 1995 Mar;35(3):473-85.
88. O'Donohue J, Workman MR, Rolando N, Yates M, Philpott-Howard J, Williams R. Urinary tract infections in primary biliary cirrhosis and other chronic liver diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1997 Oct;16(10):743-6.
89. Ohno N, Ota Y, Hatakeyama S, Yanagimoto S, Morisawa Y, Tsukada K, et al. A patient with *E. coli*-induced pyelonephritis and sepsis who transiently exhibited symptoms associated with primary biliary cirrhosis. *Intern Med*. 2003 Nov;42(11):1144-8.
90. Shimoda S, Nakamura M, Shigematsu H, Tanimoto H, Gushima T, Gershwin ME, et al. Mimicry peptides of human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant T-cell epitope of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2000 Jun;31(6):1212-6.
91. Bogdanos D, Pust T, Rust C, Vergani D, Beuers U. Primary biliary cirrhosis following *Lactobacillus* vaccination for recurrent vaginitis. *J Hepatol*. 2008 Sep;49(3):466-73.
92. Chuang YH, Ridgway WM, Ueno Y, Gershwin ME. Animal models of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2008 May;12(2):333-47; ix.
93. Salas JT, Banales JM, Sarvide S, Recalde S, Ferrer A, Uriarte I, et al. *Ae2a,b*-deficient mice develop antimitochondrial antibodies and other features resembling primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2008 May;134(5):1482-93.

94. Yoshida K, Yang GX, Zhang W, Tsuda M, Tsuneyama K, Moritoki Y, et al. Deletion of interleukin-12p40 suppresses autoimmune cholangitis in dominant negative transforming growth factor beta receptor type II mice. *Hepatology*. 2009 Nov;50(5):1494-500.
95. Pulickal AS, Hambleton S, Callaghan MJ, Moore CE, Goulding J, Goodsall A, et al. Biliary cirrhosis in a child with inherited interleukin-12 deficiency. *J Trop Pediatr*. 2008 Aug;54(4):269-71.
96. Fanning PA, Jonsson JR, Clouston AD, Edwards-Smith C, Balderson GA, Macdonald GA, et al. Detection of male DNA in the liver of female patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2000 Nov;33(5):690-5.
97. Invernizzi P, De Andreis C, Sirchia SM, Battezzati PM, Zuin M, Rossella F, et al. Blood fetal microchimerism in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol*. 2000 Dec;122(3):418-22.
98. Rubbia-Brandt L, Philippeaux MM, Chavez S, Mentha G, Borisch B, Hadengue A. FISH for Y chromosome in women with primary biliary cirrhosis: lack of evidence for leukocyte microchimerism. *Hepatology*. 1999 Sep;30(3):821-2.
99. Tanaka A, Lindor K, Gish R, Batts K, Shiratori Y, Omata M, et al. Fetal microchimerism alone does not contribute to the induction of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1999 Oct;30(4):833-8.
100. Invernizzi P, Miozzo M, Battezzati PM, Bianchi I, Grati FR, Simoni G, et al. Frequency of monosomy X in women with primary biliary cirrhosis. *Lancet*. 2004 Feb 14;363(9408):533-5.
101. Invernizzi P, Miozzo M, Oertelt-Prigione S, Meroni PL, Persani L, Selmi C, et al. X monosomy in female systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Sep;1110:84-91.
102. Miozzo M, Selmi C, Gentilin B, Grati FR, Sirchia S, Oertelt S, et al. Preferential X chromosome loss but random inactivation characterize primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Aug;46(2):456-62.
103. Coppel RL, McNeilage LJ, Surh CD, Van de Water J, Spithill TW, Whittingham S, et al. Primary structure of the human M2 mitochondrial autoantigen of primary biliary cirrhosis: dihydrolipoamide acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Oct;85(19):7317-21.
104. Van de Water J, Fregeau D, Davis P, Ansari A, Danner D, Leung P, et al. Autoantibodies of primary biliary cirrhosis recognize dihydrolipoamide acetyltransferase and inhibit enzyme function. *J Immunol*. 1988 Oct 1;141(7):2321-4.
105. Van de Water J, Cooper A, Surh CD, Coppel R, Danner D, Ansari A, et al. Detection of autoantibodies to recombinant mitochondrial proteins in patients with primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med*. 1989 May 25;320(21):1377-80.

106. Shigematsu H, Shimoda S, Nakamura M, Matsushita S, Nishimura Y, Sakamoto N, et al. Fine specificity of T cells reactive to human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant autoantigen in primary biliary cirrhosis: implications for molecular mimicry and cross-recognition among mitochondrial autoantigens. *Hepatology*. 2000 Nov;32(5):901-9.
107. Davis PA, Leung P, Manns M, Kaplan M, Munoz SJ, Gorin FA, et al. M4 and M9 antibodies in the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis: epitopes or epiphenomena? *Hepatology*. 1992 Nov;16(5):1128-36.
108. Nishio A, Coppel R, Ishibashi H, Gershwin ME. The pyruvate dehydrogenase complex as a target autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2000 Aug;14(4):535-47.
109. Palmer JM, Yeaman SJ, Bassendine MF, James OF. M4 and M9 autoantigens in primary biliary cirrhosis--a negative study. *J Hepatol*. 1993 Jun;18(2):251-4.
110. Lleo A, Shimoda S, Ishibashi H, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis: apotopes and epitopes. *J Gastroenterol*. 2011 Jan;46 Suppl 1:29-38.
111. Matsumura S, Van De Water J, Leung P, Odin JA, Yamamoto K, Gores GJ, et al. Caspase induction by IgA antimitochondrial antibody: IgA-mediated biliary injury in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2004 May;39(5):1415-22.
112. Van de Water J, Ansari A, Prindiville T, Coppel RL, Ricalton N, Kotzin BL, et al. Heterogeneity of autoreactive T cell clones specific for the E2 component of the pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis. *J Exp Med*. 1995 Feb 1;181(2):723-33.
113. Kita H, Matsumura S, He XS, Ansari AA, Lian ZX, Van de Water J, et al. Quantitative and functional analysis of PDC-E2-specific autoreactive cytotoxic T lymphocytes in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest*. 2002 May;109(9):1231-40.
114. Gershwin ME, Ansari AA, Mackay IR, Nakanuma Y, Nishio A, Rowley MJ, et al. Primary biliary cirrhosis: an orchestrated immune response against epithelial cells. *Immunol Rev*. 2000 Apr;174:210-25.
115. Van Norstrand MD, Malinchoc M, Lindor KD, Therneau TM, Gershwin ME, Leung PS, et al. Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: relationship of levels of autoantibodies to disease progression. *Hepatology*. 1997 Jan;25(1):6-11.
116. Invernizzi P, Crosignani A, Battezzati PM, Covini G, De Valle G, Larghi A, et al. Comparison of the clinical features and clinical course of antimitochondrial antibody-positive and -negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1997 May;25(5):1090-5.
117. Krams SM, Surh CD, Coppel RL, Ansari A, Ruebner B, Gershwin ME. Immunization of experimental animals with dihydrolipoamide acetyltransferase, as a purified recombinant

- polypeptide, generates mitochondrial antibodies but not primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1989 Mar;9(3):411-6.
118. Kim WR, Poterucha JJ, Jorgensen RA, Batts KP, Homburger HA, Dickson ER, et al. Does antimitochondrial antibody status affect response to treatment in patients with primary biliary cirrhosis? Outcomes of ursodeoxycholic acid therapy and liver transplantation. *Hepatology*. 1997 Jul;26(1):22-6.
 119. Kita H, Naidenko OV, Kronenberg M, Ansari AA, Rogers P, He XS, et al. Quantitation and phenotypic analysis of natural killer T cells in primary biliary cirrhosis using a human CD1d tetramer. *Gastroenterology*. 2002 Oct;123(4):1031-43.
 120. Shimoda S, Van de Water J, Ansari A, Nakamura M, Ishibashi H, Coppel RL, et al. Identification and precursor frequency analysis of a common T cell epitope motif in mitochondrial autoantigens in primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest*. 1998 Nov 15;102(10):1831-40.
 121. Tsuneyama K, Van de Water J, Leung PS, Cha S, Nakanuma Y, Kaplan M, et al. 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 Apr;21(4):1031-7.
 122. Odin JA, Huebert RC, Casciola-Rosen L, LaRusso NF, Rosen A. Bcl-2-dependent oxidation of pyruvate dehydrogenase-E2, a primary biliary cirrhosis autoantigen, during apoptosis. *J Clin Invest*. 2001 Jul;108(2):223-32.
 123. Allina J, Hu B, Sullivan DM, Fiel MI, Thung SN, Bronk SF, et al. T cell targeting and phagocytosis of apoptotic biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun*. 2006 Dec;27(4):232-41.
 124. Allina J, Stanca CM, Garber J, Hu B, Sautes-Fridman C, Bach N, et al. Anti-CD16 autoantibodies and delayed phagocytosis of apoptotic cells in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun*. 2008 Jun;30(4):238-45.
 125. Van de Water J, Turchany J, Leung PS, Lake J, Munoz S, Surh CD, et al. Molecular mimicry in primary biliary cirrhosis. Evidence for biliary epithelial expression of a molecule cross-reactive with pyruvate dehydrogenase complex-E2. *J Clin Invest*. 1993 Jun;91(6):2653-64.
 126. Howard MJ, Fuller C, Broadhurst RW, Perham RN, Tang JG, Quinn J, et al. Three-dimensional structure of the major autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1998 Jul;115(1):139-46.
 127. Matsumura S, VDWJ, Leung P, Odin JA, Yamamoto K, Gores GJ, Mostov K, Ansari AA, Coppel RL, Shiratori Y, Gershwin ME. Caspase induction by IgA antimitochondrial antibody: IgA-mediated biliary injury in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2004;39:1415-22.

128. Charlotte F, L'Hermine A, Martin N, Geleyn Y, Nollet M, Gaulard P, et al. Immunohistochemical detection of bcl-2 protein in normal and pathological human liver. *Am J Pathol.* 1994 Mar;144(3):460-5.
129. Celli A, Que FG. Dysregulation of apoptosis in the cholangiopathies and cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis.* 1998;18(2):177-85.
130. Celli A, Que FG, Gores GJ, LaRusso NF. Glutathione depletion is associated with decreased Bcl-2 expression and increased apoptosis in cholangiocytes. *Am J Physiol.* 1998 Oct;275(4 Pt 1):G749-57.
131. Harada K, Nakanuma Y. Molecular mechanisms of cholangiopathy in primary biliary cirrhosis. *Med Mol Morphol.* 2006 Jun;39(2):55-61.
132. 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 May 30;324(22):1548-54.
133. Degott C, Zafrani ES, Callard P, Balkau B, Poupon RE, Poupon R. Histopathological study of primary biliary cirrhosis and the effect of ursodeoxycholic acid treatment on histology progression. *Hepatology.* 1999 Apr;29(4):1007-12.
134. Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Sata M, Tanikawa K. Nuclear DNA fragmentation and expression of Bcl-2 in primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1997 May;25(5):1077-84.
135. Afford SC, Ahmed-Choudhury J, Randhawa S, Russell C, Youster J, Crosby HA, et al. CD40 activation-induced, Fas-dependent apoptosis and NF-kappaB/AP-1 signaling in human intrahepatic biliary epithelial cells. *Faseb J.* 2001 Nov;15(13):2345-54.
136. Alvaro D, Mancino MG, Glaser S, Gaudio E, Marzioni M, Francis H, et al. Proliferating cholangiocytes: a neuroendocrine compartment in the diseased liver. *Gastroenterology.* 2007 Jan;132(1):415-31.
137. Alvaro D, Mancino MG. New insights on the molecular and cell biology of human cholangiopathies. *Mol Aspects Med.* 2008 Feb-Apr;29(1-2):50-7.
138. Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest.* 2007 Mar;117(3):539-48.
139. Kinnman N, Hultcrantz R, Barbu V, Rey C, Wendum D, Poupon R, et al. PDGF-mediated chemoattraction of hepatic stellate cells by bile duct segments in cholestatic liver injury. *Lab Invest.* 2000 May;80(5):697-707.
140. Kinnman N, Francoz C, Barbu V, Wendum D, Rey C, Hultcrantz R, et al. The myofibroblastic conversion of peribiliary fibrogenic cells distinct from hepatic stellate cells is stimulated by platelet-derived growth factor during liver fibrogenesis. *Lab Invest.* 2003 Feb;83(2):163-73.

141. Jhandier MN, Kruglov EA, Lavoie EG, Seigny J, Dranoff JA. Portal fibroblasts regulate the proliferation of bile duct epithelia via expression of NTPDase2. *J Biol Chem*. 2005 Jun 17;280(24):22986-92.
142. Kruglov EA, Nathanson RA, Nguyen T, Dranoff JA. Secretion of MCP-1/CCL2 by bile duct epithelia induces myofibroblastic transdifferentiation of portal fibroblasts. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Apr;290(4):G765-71.
143. Jung Y, McCall SJ, Li YX, Diehl AM. Bile ductules and stromal cells express hedgehog ligands and/or hedgehog target genes in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 May;45(5):1091-6.
144. Omenetti A, Porrello A, Jung Y, Yang L, Popov Y, Choi SS, et al. Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans. *J Clin Invest*. 2008 Oct;118(10):3331-42.
145. Omenetti A, Syn WK, Jung Y, Francis H, Porrello A, Witek RP, et al. Repair-related activation of hedgehog signaling promotes cholangiocyte chemokine production. *Hepatology*. 2009 Aug;50(2):518-27.
146. Tsikrikoni A, Kyriakou DS, Rigopoulou EI, Alexandrakis MG, Zachou K, Passam F, et al. 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 Mar;42(3):393-9.
147. Levine RA, Hall RC. Cyclic AMP in secretin choleresis. Evidence for a regulatory role in man and baboons but not in dogs. *Gastroenterology*. 1976 Apr;70(4):537-44.
148. Alpini G, Baiocchi L, Glaser S, Ueno Y, Marzioni M, Francis H, et al. Ursodeoxycholate and tauroursodeoxycholate inhibit cholangiocyte growth and secretion of BDL rats through activation of PKC alpha. *Hepatology*. 2002 May;35(5):1041-52.
149. Fitz JG. Regulation of cholangiocyte secretion. *Semin Liver Dis*. 2002 Aug;22(3):241-9.
150. Fiorotto R, Spirli C, Fabris L, Cadamuro M, Okolicsanyi L, Strazzabosco M. Ursodeoxycholic acid stimulates cholangiocyte fluid secretion in mice via CFTR-dependent ATP secretion. *Gastroenterology*. 2007 Nov;133(5):1603-13.
151. Medina JF, Martinez A, Vazquez JJ, Prieto J. Decreased anion exchanger 2 immunoreactivity in the liver of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1997 Jan;25(1):12-7.
152. Melero S, Spirli C, Zsemberly A, Medina JF, Joplin RE, Duner E, et al. Defective regulation of cholangiocyte Cl⁻/HCO₃⁻ and Na⁺/H⁺ exchanger activities in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2002 Jun;35(6):1513-21.
153. Shibao K, Hirata K, Robert ME, Nathanson MH. Loss of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors from bile duct epithelia is a common event in cholestasis. *Gastroenterology*. 2003 Oct;125(4):1175-87.

154. Spirli C, Nathanson MH, Fiorotto R, Duner E, Denson LA, Sanz JM, et al. Proinflammatory cytokines inhibit secretion in rat bile duct epithelium. *Gastroenterology*. 2001 Jul;121(1):156-69.
155. Sakisaka S, Kawaguchi T, Taniguchi E, Hanada S, Sasatomi K, Koga H, et al. Alterations in tight junctions differ between primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 2001 Jun;33(6):1460-8.
156. Spirli C, Fabris L, Duner E, Fiorotto R, Ballardini G, Roskams T, et al. Cytokine-stimulated nitric oxide production inhibits adenylyl cyclase and cAMP-dependent secretion in cholangiocytes. *Gastroenterology*. 2003 Mar;124(3):737-53.
157. Prieto J, Garcia N, Marti-Climent JM, Penuelas I, Richter JA, Medina JF. Assessment of biliary bicarbonate secretion in humans by positron emission tomography. *Gastroenterology*. 1999 Jul;117(1):167-72.
158. Wong JH, Xia L, Ng TB. A review of defensins of diverse origins. *Curr Protein Pept Sci*. 2007 Oct;8(5):446-59.
159. Tuin A, Huizinga-Van der Vlag A, van Loenen-Weemaes AM, Meijer DK, Poelstra K. On the role and fate of LPS-dephosphorylating activity in the rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Feb;290(2):G377-85.
160. Sasatomi K, Noguchi K, Sakisaka S, Sata M, Tanikawa K. Abnormal accumulation of endotoxin in biliary epithelial cells in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol*. 1998 Sep;29(3):409-16.
161. Ballot E, Bandin O, Chazouilleres O, Johanet C, Poupon R. Immune response to lipopolysaccharide in primary biliary cirrhosis and autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2004 Mar;22(2):153-8.
162. Zollner G, Wagner M, Fickert P, Silbert D, Gumhold J, Zatloukal K, et al. Expression of bile acid synthesis and detoxification enzymes and the alternative bile acid efflux pump MRP4 in patients with primary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2007 Sep;27(7):920-9.
163. Zollner G, Fickert P, Silbert D, Fuchsbichler A, Marschall HU, Zatloukal K, et al. Adaptive changes in hepatobiliary transporter expression in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2003 Jun;38(6):717-27.
164. Zollner G, Fickert P, Zenz R, Fuchsbichler A, Stumptner C, Kenner L, et al. Hepatobiliary transporter expression in percutaneous liver biopsies of patients with cholestatic liver diseases. *Hepatology*. 2001 Mar;33(3):633-46.
165. Nakanuma Y, Saito K, Unoura M. Semiquantitative assessment of cholestasis and lymphocytic piecemeal necrosis in primary biliary cirrhosis: a histologic and immunohistochemical study. *J Clin Gastroenterol*. 1990 Jun;12(3):357-62.

166. Popper H, Paronetto F, Schaffner F. Immune processes in the pathogenesis of liver disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1965 Jun 30;124(2):781-99.
167. Portmann B, Popper H, Neuberger J, Williams R. Sequential and diagnostic features in primary biliary cirrhosis based on serial histologic study in 209 patients. *Gastroenterology.* 1985 Jun;88(6):1777-90.
168. Corpechot C, Carrat F, Poupon R, Poupon RE. Primary biliary cirrhosis: incidence and predictive factors of cirrhosis development in ursodiol-treated patients. *Gastroenterology.* 2002 Mar;122(3):652-8.
169. Scheuer P. Primary biliary cirrhosis. *Proc R Soc Med.* 1967 Dec;60(12):1257-60.
170. Ludwig J. New concepts in biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1987 Nov;7(4):293-301.
171. Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996 Nov 21;335(21):1570-80.
172. MacSween RN. Mallory's ('alcoholic') hyaline in primary biliary cirrhosis. *J Clin Pathol.* 1973 May;26(5):340-2.
173. Vaux DJ, Watt F, Grime GW, Takacs J. Hepatic copper distribution in primary biliary cirrhosis shown by the scanning proton microprobe. *J Clin Pathol.* 1985 Jun;38(6):653-8.
174. Kowdley KV, Knox TA, Kaplan MM. Hepatic copper content is normal in early primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *Dig Dis Sci.* 1994 Nov;39(11):2416-20.
175. Mayo MJ. Natural history of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis.* 2008 May;12(2):277-88; viii.
176. Sherlock S, Scheuer PJ. The presentation and diagnosis of 100 patients with primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med.* 1973 Sep 27;289(13):674-8.
177. Long RG, Scheuer PJ, Sherlock S. Presentation and course of asymptomatic primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 1977 Jun;72(6):1204-7.
178. Balasubramaniam K, Grambsch PM, Wiesner RH, Lindor KD, Dickson ER. Diminished survival in asymptomatic primary biliary cirrhosis. A prospective study. *Gastroenterology.* 1990 Jun;98(6):1567-71.
179. Tornay AS, Jr. Primary biliary cirrhosis: natural history. *Am J Gastroenterol.* 1980 Mar;73(3):223-6.
180. Metcalf JV, Mitchison HC, Palmer JM, Jones DE, Bassendine MF, James OF. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet.* 1996 Nov 23;348(9039):1399-402.
181. Mitchison HC, Bassendine MF, Hendrick A, Bennett MK, Bird G, Watson AJ, et al. Positive antimitochondrial antibody but normal alkaline phosphatase: is this primary biliary cirrhosis? *Hepatology.* 1986 Nov-Dec;6(6):1279-84.
182. Ishibashi H, Komori A, Shimoda S, Ambrosini YM, Gershwin ME, Nakamura M. Risk factors and prediction of long-term outcome in primary biliary cirrhosis. *Intern Med.* 2011;50(1):1-10.

183. Prince M, Chetwynd A, Newman W, Metcalf JV, James OF. Survival and symptom progression in a geographically based cohort of patients with primary biliary cirrhosis: follow-up for up to 28 years. *Gastroenterology*. 2002 Oct;123(4):1044-51.
184. Springer J, Cauch-Dudek K, O'Rourke K, Wanless IR, Heathcote EJ. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: a study of its natural history and prognosis. *Am J Gastroenterol*. 1999 Jan;94(1):47-53.
185. Prince MI, Chetwynd A, Craig WL, Metcalf JV, James OF. Asymptomatic primary biliary cirrhosis: clinical features, prognosis, and symptom progression in a large population based cohort. *Gut*. 2004 Jun;53(6):865-70.
186. Ghent CN, Bloomer JR, Klatskin G. Elevations in skin tissue levels of bile acids in human cholestasis: relation to serum levels and toprritus. *Gastroenterology*. 1977 Nov;73(5):1125-30.
187. Bergasa NV, Talbot TL, Alling DW, Schmitt JM, Walker EC, Baker BL, et al. A controlled trial of naloxone infusions for the pruritus of chronic cholestasis. *Gastroenterology*. 1992 Feb;102(2):544-9.
188. Koulentaki M, Ioannidou D, Stefanidou M, Maraki S, Drigiannakis I, Dimoulios P, et al. Dermatological manifestations in primary biliary cirrhosis patients: a case control study. *Am J Gastroenterol*. 2006 Mar;101(3):541-6.
189. Gatselis NK, Stefos A, Gioti C, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Primary biliary cirrhosis and Henoch-Schonlein purpura: report of two cases and review of the literature. *Liver Int*. 2007 Mar;27(2):280-3.
190. Gatselis NK, Zachou K, Dalekos GN. Early primary biliary cirrhosis: a new association with erythema nodosum of unknown origin. *Gastroenterol Res Pract*. 2010.
191. Laurin JM, DeSotel CK, Jorgensen RA, Dickson ER, Lindor KD. The natural history of abdominal pain associated with primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 1994 Oct;89(10):1840-3.
192. Christensen E, Crowe J, Doniach D, Popper H, Ranek L, Rodes J, et al. Clinical pattern and course of disease in primary biliary cirrhosis based on an analysis of 236 patients. *Gastroenterology*. 1980 Feb;78(2):236-46.
193. Fleming CR, Dickson ER, Hollenhorst RW, Goldstein NP, McCall JT, Baggenstoss AH. Pigmented corneal rings in a patient with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1975 Jul;69(1):220-5.
194. Sherlock S. Primary biliary cirrhosis: clarifying the issues. *Am J Med*. 1994 Jan 17;96(1A):27S-33S.
195. Dickson ER, Grambsch PM, Fleming TR, Fisher LD, Langworthy A. Prognosis in primary biliary cirrhosis: model for decision making. *Hepatology*. 1989 Jul;10(1):1-7.

196. Moteki S, Leung PS, Coppel RL, Dickson ER, Kaplan MM, Munoz S, et al. Use of a designer triple expression hybrid clone for three different lipoyl domain for the detection of antimitochondrial autoantibodies. *Hepatology*. 1996 Jul;24(1):97-103.
197. Iannuzzi C, Cozzolino G, Negro G. Elective cholecystectomy in selected cirrhotic patients. *Acta Chir Belg*. 1993 Jul-Aug;93(4):147-50.
198. Jahn CE, Schaefer EJ, Taam LA, Hoofnagle JH, Lindgren FT, Albers JJ, et al. Lipoprotein abnormalities in primary biliary cirrhosis. Association with hepatic lipase inhibition as well as altered cholesterol esterification. *Gastroenterology*. 1985 Dec;89(6):1266-78.
199. Crippin JS, Lindor KD, Jorgensen R, Kottke BA, Harrison JM, Murtaugh PA, et al. Hypercholesterolemia and atherosclerosis in primary biliary cirrhosis: what is the risk? *Hepatology*. 1992 May;15(5):858-62.
200. Gregory WL, Game FL, Farrer M, Idle JR, Laker MF, James OF. Reduced serum lipoprotein(a) levels in patients with primary biliary cirrhosis. *Atherosclerosis*. 1994 Jan;105(1):43-50.
201. Simon JB, Poon RW. Lipoprotein-X levels in extrahepatic versus intrahepatic cholestasis. *Gastroenterology*. 1978 Aug;75(2):177-80.
202. Poupon RE, Ouguerram K, Chretien Y, Verneau C, Eschwege E, Magot T, et al. Cholesterol-lowering effect of ursodeoxycholic acid in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1993 Apr;17(4):577-82.
203. Poupon RE, Balkau B, Guehot J, Heintzmann F. Predictive factors in ursodeoxycholic acid-treated patients with primary biliary cirrhosis: role of serum markers of connective tissue. *Hepatology*. 1994 Mar;19(3):635-40.
204. Zachou K, Rigopoulou E, Liaskos C, Patsiaoura K, Makri E, Stathakis N, et al. Primary biliary cirrhosis presented as peripheral eosinophilia in asymptomatic women with or without elevated alkaline phosphatase. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Apr;16(4):425-8.
205. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol*. 2009 Aug;51(2):237-67.
206. Howard MJ et al. Three-dimensional structure of the major autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1998;115:139-46.
207. Gershwin ME, Mackay IR. Primary biliary cirrhosis: paradigm or paradox for autoimmunity. *Gastroenterology*. 1991 Mar;100(3):822-33.
208. James SP, Hoofnagle JH, Strober W, Jones EA. NIH conference: Primary biliary cirrhosis: a model autoimmune disease. *Ann Intern Med*. 1983 Oct;99(4):500-12.
209. Lindgren S, Eriksson S. IgM in primary biliary cirrhosis. Physicochemical and complement activating properties. *J Lab Clin Med*. 1982 May;99(5):636-45.

210. Nouri-Aria KT, Hegarty JE, Neuberger J, Eddleston AL, Williams R. In vitro studies on the mechanism of increased serum IgM levels in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol*. 1985 Aug;61(2):297-304.
211. Thomas HC, Holden R, Jones JV, Peacock DB. Immune response to phi X 174 in man. 5. Primary and secondary antibody production in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 1976 Nov;17(11):844-8.
212. Lindgren S, Johnson U. Complement activation in primary biliary cirrhosis: an in vitro model. *J Lab Clin Med*. 1985 Apr;105(4):432-5.
213. James SP, Jones EA, Hoofnagle JH, Strober W. Circulating activated B cells in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol*. 1985 Jul;5(4):254-60.
214. James SP, Jones EA, Schafer DF, Hoofnagle JH, Varma RR, Strober W. Selective immunoglobulin A deficiency associated with primary biliary cirrhosis in a family with liver disease. *Gastroenterology*. 1986 Feb;90(2):283-8.
215. Hall S, Axelsen PH, Larson DE, Bunch TW. Systemic lupus erythematosus developing in patients with primary biliary cirrhosis. *Ann Intern Med*. 1984 Mar;100(3):388-9.
216. Weller TH, Coons AH. Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1954 Aug-Sep;86(4):789-94.
217. Vergani D, Alvarez F, Bianchi FB, Cancado EL, Mackay IR, Manns MP, et al. Liver autoimmune serology: a consensus statement from the committee for autoimmune serology of the International Autoimmune Hepatitis Group. *J Hepatol*. 2004 Oct;41(4):677-83.
218. Meda F, Zuin M, Invernizzi P, Vergani D, Selmi C. Serum autoantibodies: a road map for the clinical hepatologist. *Autoimmunity*. 2008 Feb;41(1):27-34.
219. Abe M, Onji M. Natural history of primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res*. 2008 Jul;38(7):639-45.
220. Oertelt S, Rieger R, Selmi C, Invernizzi P, Ansari AA, Coppel RL, et al. A sensitive bead assay for antimitochondrial antibodies: Chipping away at AMA-negative primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Mar;45(3):659-65.
221. Neuberger J, Thomson R. PBC and AMA--what is the connection? *Hepatology*. 1999 Jan;29(1):271-6.
222. O'Brien C, Joshi S, Feld JJ, Guindi M, Dienes HP, Heathcote EJ. Long-term follow-up of antimitochondrial antibody-positive autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008 Aug;48(2):550-6.
223. Chung L, Utz PJ. Antibodies in scleroderma: direct pathogenicity and phenotypic associations. *Curr Rheumatol Rep*. 2004 Apr;6(2):156-63.
224. Nardi N, Brito-Zeron P, Ramos-Casals M, Aguilo S, Cervera R, Ingelmo M, et al. Circulating auto-antibodies against nuclear and non-nuclear antigens in primary Sjogren's

- syndrome: prevalence and clinical significance in 335 patients. *Clin Rheumatol*. 2006 May;25(3):341-6.
225. Ramos-Casals M, Pares A, Jara LJ, Solans R, Vinas O, Vazquez P, et al. Antimitochondrial antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: description of 18 cases and review of the literature. *J Viral Hepat*. 2005 Nov;12(6):648-54.
 226. Montano-Loza AJ, Carpenter HA, Czaja AJ. Frequency, behavior, and prognostic implications of antimitochondrial antibodies in type 1 autoimmune hepatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2008 Oct;42(9):1047-53.
 227. 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 May;92(2):308-16.
 228. Zografos TA, Gatselis N, Zachou K, Liaskos C, Gabeta S, Koukoulis GK, et al. Primary biliary cirrhosis-specific autoantibodies in first degree relatives of Greek primary biliary cirrhosis patients. *World J Gastroenterol*. 2012 Sep 14;18(34):4721-8.
 229. Lazaridis KN, Juran BD, Boe GM, Slusser JP, de Andrade M, Homburger HA, et al. Increased prevalence of antimitochondrial antibodies in first-degree relatives of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Sep;46(3):785-92.
 230. Gatselis NK, Zachou K, Norman GL, Gabeta S, Papamichalis P, Koukoulis GK, et al. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis-related autoantibodies during the course of the disease. *Autoimmunity*. 2013 Nov;46(7):471-9.
 231. Luettig B, Boeker KH, Schoessler W, Will H, Loges S, Schmidt E, et al. The antinuclear autoantibodies Sp100 and gp210 persist after orthotopic liver transplantation in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 1998 May;28(5):824-8.
 232. Benson GD, Kikuchi K, Miyakawa H, Tanaka A, Watnik MR, Gershwin ME. Serial analysis of antimitochondrial antibody in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol*. 2004 Jun;11(2):129-33.
 233. Tanaka A, Nezu S, Uegaki S, Mikami M, Okuyama S, Kawamura N, et al. The clinical significance of IgA antimitochondrial antibodies in sera and saliva in primary biliary cirrhosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Jun;1107:259-70.
 234. Selmi C, Zuin M, Gershwin ME. The unfinished business of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2008 Sep;49(3):451-60.
 235. Rigopoulou EI, Davies ET, Bogdanos DP, Liaskos C, Mytilinaiou M, Koukoulis GK, et al. Antimitochondrial antibodies of immunoglobulin G3 subclass are associated with a more severe disease course in primary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2007 Nov;27(9):1226-31.

236. Muratori P, Muratori L, Gershwin ME, Czaja AJ, Pappas G, MacCariello S, et al. 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both? *Clin Exp Immunol*. 2004 Jan;135(1):154-8.
237. Liu B, Shi XH, Zhang FC, Zhang W, Gao LX. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis: a subset of primary biliary cirrhosis. *Liver Int*. 2008 Feb;28(2):233-9.
238. Hirschfield GM, Heathcote EJ. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis*. 2008 May;12(2):323-31; viii-ix.
239. Zhang FK, Jia JD, Wang BE. Clinical evaluation of serum antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2004 May;3(2):288-91.
240. Mendes F, Lindor KD. Antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2008 Jun;37(2):479-84, viii.
241. Dahnrich C, Pares A, Caballeria L, Rosemann A, Schlumberger W, Probst C, et al. New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clin Chem*. 2009 May;55(5):978-85.
242. Gabeta S, Norman GL, Liaskos C, Papamichalis PA, Zografos T, Garagounis A, et al. Diagnostic relevance and clinical significance of the new enhanced performance M2 (MIT3) ELISA for the detection of IgA and IgG antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol*. 2007 Jul;27(4):378-87.
243. Muratori L, Granito A, Muratori P, Pappas G, Bianchi FB. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *Clin Liver Dis*. 2008 May;12(2):261-76; vii.
244. Hu CJ, Zhang FC, Li YZ, Zhang X. Primary biliary cirrhosis: what do autoantibodies tell us? *World J Gastroenterol*. 2010 Aug 7;16(29):3616-29.
245. Watt FE, James OF, Jones DE. Patterns of autoimmunity in primary biliary cirrhosis patients and their families: a population-based cohort study. *Qjm*. 2004 Jul;97(7):397-406.
246. Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil SH, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. *Hepatology*. 1987 Nov-Dec;7(6):1333-9.
247. Vergani D, Bogdanos DP. Positive markers in AMA-negative PBC. *Am J Gastroenterol*. 2003 Feb;98(2):241-3.
248. Gregorio GV, Portmann B, Reid F, Donaldson PT, Doherty DG, McCartney M, et al. Autoimmune hepatitis in childhood: a 20-year experience. *Hepatology*. 1997 Mar;25(3):541-7.
249. Worman HJ, Courvalin JC. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *Autoimmun Rev*. 2003 Jun;2(4):211-7.

250. Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wesierska-Gadek J. Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2005 Aug;25(3):298-310.
251. Muratori L, Muratori P, Granito A, Ferrari R, Veronesi L, Lenzi M, et al. The Western immunoblotting pattern of anti-mitochondrial antibodies is independent of the clinical expression of primary biliary cirrhosis. *Dig Liver Dis.* 2005 Feb;37(2):108-12.
252. Rigopoulou EI, Dalekos GN. Molecular diagnostics of primary biliary cirrhosis. *Expert Opin Med Diagn.* 2008 Jun;2(6):621-34.
253. Heseltine L, Turner IB, Fussey SP, Kelly PJ, James OF, Yeaman SJ, et al. Primary biliary cirrhosis. Quantitation of autoantibodies to purified mitochondrial enzymes and correlation with disease progression. *Gastroenterology.* 1990 Dec;99(6):1786-92.
254. Miyakawa H, Tanaka A, Kikuchi K, Matsushita M, Kitazawa E, Kawaguchi N, et al. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens. *Hepatology.* 2001 Aug;34(2):243-8.
255. Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol.* 2008 Jun 7;14(21):3374-87.
256. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2003 Feb;98(2):431-7.
257. Bernstein RM, Callender ME, Neuberger JM, Hughes GR, Williams R. Anticentromere antibody in primary biliary cirrhosis. *Ann Rheum Dis.* 1982 Dec;41(6):612-4.
258. Parveen S, Morshed SA, Nishioka M. High prevalence of antibodies to recombinant CENP-B in primary biliary cirrhosis: nuclear immunofluorescence patterns and ELISA reactivities. *J Gastroenterol Hepatol.* 1995 Jul-Aug;10(4):438-45.
259. Vazquez-Abad D, Rothfield NF. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Int Rev Immunol.* 1995;12(2-4):145-57.
260. Yan SM, Zeng XF, Zhao Y, Dong Y. [A clinical analysis of primary Sjogren's syndrome with anticentromere antibodies]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 2008 Apr;47(4):296-9.
261. Vlachoyiannopoulos PG, Drosos AA, Wiik A, Moutsopoulos HM. Patients with anticentromere antibodies, clinical features, diagnoses and evolution. *Br J Rheumatol.* 1993 Apr;32(4):297-301.
262. Nakano M, Ohuchi Y, Hasegawa H, Kuroda T, Ito S, Gejyo F. Clinical significance of anticentromere antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2000 Jun;27(6):1403-7.

263. Salliot C, Gottenberg JE, Bengoufa D, Desmoulins F, Miceli-Richard C, Mariette X. Anticentromere antibodies identify patients with Sjogren's syndrome and autoimmune overlap syndrome. *J Rheumatol*. 2007 Nov;34(11):2253-8.
264. Chan HL, Lee YS, Hong HS, Kuo TT. Anticentromere antibodies (ACA): clinical distribution and disease specificity. *Clin Exp Dermatol*. 1994 Jul;19(4):298-302.
265. Klein R, Berg PA. Anti-M9 antibodies in sera from patients with primary biliary cirrhosis recognize an epitope of glycogen phosphorylase. *Clin Exp Immunol*. 1990 Jul;81(1):65-71.
266. Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, et al. Anti-gp210 and anti-centromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Jan;45(1):118-27.
267. Ruffatti A, Arslan P, Floreani A, De Silvestro G, Calligaro A, Naccarato R, et al. Nuclear membrane-staining antinuclear antibody in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol*. 1985 Sep;5(5):357-61.
268. Invernizzi P, Podda M, Battezzati PM, Crosignani A, Zuin M, Hitchman E, et al. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol*. 2001 Mar;34(3):366-72.
269. Rigopoulou EI, Davies ET, Pares A, Zachou K, Liaskos C, Bogdanos DP, et al. Prevalence and clinical significance of isotype specific antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Gut*. 2005 Apr;54(4):528-32.
270. Muratori P, Granito A, Ferri S, Pappas G, Volta U, Menichella R, et al. Multiple nuclear dots and rim-like/membranous IgG isotypes in primary biliary cirrhosis. *Autoimmunity*. 2009 Mar;42(3):224-7.
271. Lassoued K, Brenard R, Degos F, Courvalin JC, Andre C, Danon F, et al. Antinuclear antibodies directed to a 200-kilodalton polypeptide of the nuclear envelope in primary biliary cirrhosis. A clinical and immunological study of a series of 150 patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1990 Jul;99(1):181-6.
272. 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 Jul;86(1):279-85.
273. Worman HJ. Nuclear envelope protein autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res*. 2007 Oct;37 Suppl 3:S406-11.
274. Gao L, Tian X, Liu B, Zhang F. The value of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Med*. 2008 Mar;8(1):9-15.
275. Bauer A, Habior A. Measurement of gp210 autoantibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal*. 2007;21(4):227-31.

276. Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, et al. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2005 Mar;42(3):386-92.
277. Nakamura M, Komori A, Ito M, Kondo H, Aiba Y, Migita K, et al. Predictive role of anti-gp210 and anticentromere antibodies in long-term outcome of primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res.* 2007 Oct;37 Suppl 3:S412-9.
278. Nakamura M, Takii Y, Ito M, Komori A, Yokoyama T, Shimizu-Yoshida Y, et al. Increased expression of nuclear envelope gp210 antigen in small bile ducts in primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun.* 2006 Mar;26(2):138-45.
279. Davis LI, Blobel G. Nuclear pore complex contains a family of glycoproteins that includes p62: glycosylation through a previously unidentified cellular pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Nov;84(21):7552-6.
280. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E. Autoantibodies against nucleoporin p62 constitute a novel marker of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology.* 1996 Mar;110(3):840-7.
281. Wesierska-Gadek J, Klima A, Komina O, Ranftler C, Invernizzi P, Penner E. Characterization of autoantibodies against components of the nuclear pore complexes: high frequency of anti-p62 nucleoporin antibodies. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Aug;1109:519-30.
282. Wesierska-Gadek J PE, Hitchman E, Sauermann G. Antibodies to nuclear lamins in autoimmune liver disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 1988;49:107-15.
283. Miyachi K, Hankins RW, Matsushima H, Kikuchi F, Inomata T, Horigome T, et al. Profile and clinical significance of anti-nuclear envelope antibodies found in patients with primary biliary cirrhosis: a multicenter study. *J Autoimmun.* 2003 May;20(3):247-54.
284. Salina D, Bodoor K, Enarson P, Raharjo WH, Burke B. Nuclear envelope dynamics. *Biochem Cell Biol.* 2001;79(5):533-42.
285. Wesierska-Gadek J, Penner E, Hitchman E, Sauermann G. Antibodies to nuclear lamins in autoimmune liver disease. *Clin Immunol Immunopathol.* 1988 Oct;49(1):107-15.
286. Fisher DZ, Chaudhary N, Blobel G. cDNA sequencing of nuclear lamins A and C reveals primary and secondary structural homology to intermediate filament proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986 Sep;83(17):6450-4.
287. Krohne G, Wolin SL, McKeon FD, Franke WW, Kirschner MW. Nuclear lamin LI of *Xenopus laevis*: cDNA cloning, amino acid sequence and binding specificity of a member of the lamin B subfamily. *Embo J.* 1987 Dec 1;6(12):3801-8.
288. Coppo P, Clauvel JP, Bengoufa D, Fuentes V, Gouilleux-Gruart V, Courvalin JC, et al. Autoimmune cytopenias associated with autoantibodies to nuclear envelope polypeptides. *Am J Hematol.* 2004 Nov;77(3):241-9.

289. Dieude M, Senecal JL, Rauch J, Hanly JG, Fortin P, Brassard N, et al. Association of autoantibodies to nuclear lamin B1 with thromboprotection in systemic lupus erythematosus: lack of evidence for a direct role of lamin B1 in apoptotic blebs. *Arthritis Rheum.* 2002 Oct;46(10):2695-707.
290. Konstantinov K, von Mikecz A, Buchwald D, Jones J, Gerace L, Tan EM. Autoantibodies to nuclear envelope antigens in chronic fatigue syndrome. *J Clin Invest.* 1996 Oct 15;98(8):1888-96.
291. Senecal JL, Ichiki S, Girard D, Raymond Y. Autoantibodies to nuclear lamins and to intermediate filament proteins: natural, pathologic or pathogenic? *J Rheumatol.* 1993 Feb;20(2):211-9.
292. Nesher G, Margalit R, Ashkenazi YJ. Anti-nuclear envelope antibodies: Clinical associations. *Semin Arthritis Rheum.* 2001 Apr;30(5):313-20.
293. 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 Jan;23(1):57-61.
294. Courvalin JC, Lassoued K, Worman HJ, Blobel G. Identification and characterization of autoantibodies against the nuclear envelope lamin B receptor from patients with primary biliary cirrhosis. *J Exp Med.* 1990 Sep 1;172(3):961-7.
295. Guldner HH, Szosteki C, Grotzinger T, Will H. IFN enhance expression of Sp100, an autoantigen in primary biliary cirrhosis. *J Immunol.* 1992 Dec 15;149(12):4067-73.
296. Szosteki C, Krippner H, Penner E, Bautz FA. Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol.* 1987 Apr;68(1):108-16.
297. Fusconi M, Cassani F, Govoni M, Caselli A, Farabegoli F, Lenzi M, et al. Anti-nuclear antibodies of primary biliary cirrhosis recognize 78-92-kD and 96-100-kD proteins of nuclear bodies. *Clin Exp Immunol.* 1991 Feb;83(2):291-7.
298. Thurston TL, Ryzhakov G, Bloor S, von Muhlinen N, Randow F. The TBK1 adaptor and autophagy receptor NDP52 restricts the proliferation of ubiquitin-coated bacteria. *Nat Immunol.* 2009 Nov;10(11):1215-21.
299. Morriswood B, Ryzhakov G, Puri C, Arden SD, Roberts R, Dendrou C, et al. T6BP and NDP52 are myosin VI binding partners with potential roles in cytokine signalling and cell adhesion. *J Cell Sci.* 2007 Aug 1;120(Pt 15):2574-85.
300. Granito A, Yang WH, Muratori L, Lim MJ, Nakajima A, Ferri S, et al. PML nuclear body component Sp140 is a novel autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2010 Jan;105(1):125-31.

301. Bernstein RM, Neuberger JM, Bunn CC, Callender ME, Hughes GR, Williams R. Diversity of autoantibodies in primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol.* 1984 Mar;55(3):553-60.
302. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostecki C, Grotzinger T, Will H. Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Immunol.* 1995 Aug;42(2):257-68.
303. Szostecki 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 Oct;36(4):555-64.
304. Pawlotsky JM, Andre C, Metreau JM, Beaugrand M, Zafrani ES, Dhumeaux D. Multiple nuclear dots antinuclear antibodies are not specific for primary biliary cirrhosis. *Hepatology.* 1992 Jul;16(1):127-31.
305. Wichmann I, Montes-Cano MA, Respaliza N, Alvarez A, Walter K, Franco E, et al. Clinical significance of anti-multiple nuclear dots/Sp100 autoantibodies. *Scand J Gastroenterol.* 2003 Sep;38(9):996-9.
306. Milkiewicz P, Buwaneswaran H, Coltescu C, Shums Z, Norman GL, Heathcote EJ. Value of autoantibody analysis in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009 Dec;7(12):1355-60.
307. Manuel Lucena J, Montes Cano M, Luis Caro J, Respaliza N, Alvarez A, Sanchez-Roman J, et al. Comparison of two ELISA assays for anti-Sp100 determination. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Aug;1109:203-11.
308. Bogdanos DP, Baum H, Butler P, Rigopoulou EI, Davies ET, Ma Y, et al. Association between the primary biliary cirrhosis specific anti-sp100 antibodies and recurrent urinary tract infection. *Dig Liver Dis.* 2003 Nov;35(11):801-5.
309. Reineke EL, Kao HY. Targeting promyelocytic leukemia protein: a means to regulating PML nuclear bodies. *Int J Biol Sci.* 2009;5(4):366-76.
310. Spector DL. Nuclear domains. *J Cell Sci.* 2001 Aug;114(Pt 16):2891-3.
311. Borden KL. Pondering the promyelocytic leukemia protein (PML) puzzle: possible functions for PML nuclear bodies. *Mol Cell Biol.* 2002 Aug;22(15):5259-69.
312. Wiesmeijer K, Molenaar C, Bekeer IM, Tanke HJ, Dirks RW. Mobile foci of Sp100 do not contain PML: PML bodies are immobile but PML and Sp100 proteins are not. *J Struct Biol.* 2002 Oct-Dec;140(1-3):180-8.
313. Lallemand-Breitenbach V, Zhu J, Puvion F, Koken M, Honore N, Doubeikovsky A, et al. Role of promyelocytic leukemia (PML) sumolation in nuclear body formation, 11S proteasome recruitment, and As2O3-induced PML or PML/retinoic acid receptor alpha degradation. *J Exp Med.* 2001 Jun 18;193(12):1361-71.

314. Dyck JA, Maul GG, Miller WH, Jr., Chen JD, Kakizuka A, Evans RM. A novel macromolecular structure is a target of the promyelocyte-retinoic acid receptor oncoprotein. *Cell*. 1994 Jan 28;76(2):333-43.
315. Muratani M, Gerlich D, Janicki SM, Gebhard M, Eils R, Spector DL. Metabolic-energy-dependent movement of PML bodies within the mammalian cell nucleus. *Nat Cell Biol*. 2002 Feb;4(2):106-10.
316. Weis K, Rambaud S, Lavau C, Jansen J, Carvalho T, Carmo-Fonseca M, et al. Retinoic acid regulates aberrant nuclear localization of PML-RAR alpha in acute promyelocytic leukemia cells. *Cell*. 1994 Jan 28;76(2):345-56.
317. Hofmann TG, Will H. Body language: the function of PML nuclear bodies in apoptosis regulation. *Cell Death Differ*. 2003 Dec;10(12):1290-9.
318. Li H, Leo C, Zhu J, Wu X, O'Neil J, Park EJ, et al. Sequestration and inhibition of Daxx-mediated transcriptional repression by PML. *Mol Cell Biol*. 2000 Mar;20(5):1784-96.
319. Zhong S, Salomoni P, Pandolfi PP. The transcriptional role of PML and the nuclear body. *Nat Cell Biol*. 2000 May;2(5):E85-90.
320. Fagioli M, Alcalay M, Tomassoni L, Ferrucci PF, Mencarelli A, Riganelli D, et al. Cooperation between the RING + B1-B2 and coiled-coil domains of PML is necessary for its effects on cell survival. *Oncogene*. 1998 Jun 4;16(22):2905-13.
321. Cohen N, Sharma M, Kentsis A, Perez JM, Strudwick S, Borden KL. PML RING suppresses oncogenic transformation by reducing the affinity of eIF4E for mRNA. *Embo J*. 2001 Aug 15;20(16):4547-59.
322. Everett RD. DNA viruses and viral proteins that interact with PML nuclear bodies. *Oncogene*. 2001 Oct 29;20(49):7266-73.
323. Regad T, Chelbi-Alix MK. Role and fate of PML nuclear bodies in response to interferon and viral infections. *Oncogene*. 2001 Oct 29;20(49):7274-86.
324. Pearson M, Carbone R, Sebastiani C, Cioce M, Fagioli M, Saito S, et al. PML regulates p53 acetylation and premature senescence induced by oncogenic Ras. *Nature*. 2000 Jul 13;406(6792):207-10.
325. Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, et al. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *Embo J*. 2002 May 15;21(10):2383-96.
326. Ferbeyre G, de Stanchina E, Querido E, Baptiste N, Prives C, Lowe SW. PML is induced by oncogenic ras and promotes premature senescence. *Genes Dev*. 2000 Aug 15;14(16):2015-27.
327. Bischof O, Kirsh O, Pearson M, Itahana K, Pelicci PG, Dejean A. Deconstructing PML-induced premature senescence. *Embo J*. 2002 Jul 1;21(13):3358-69.

328. Salomoni P, Pandolfi PP. The role of PML in tumor suppression. *Cell*. 2002 Jan 25;108(2):165-70.
329. Bischof O, Kim SH, Irving J, Beresten S, Ellis NA, Campisi J. Regulation and localization of the Bloom syndrome protein in response to DNA damage. *J Cell Biol*. 2001 Apr 16;153(2):367-80.
330. Carbone R, Pearson M, Minucci S, Pelicci PG. PML NBs associate with the hMre11 complex and p53 at sites of irradiation induced DNA damage. *Oncogene*. 2002 Mar 7;21(11):1633-40.
331. Wang ZG, Ruggero D, Ronchetti S, Zhong S, Gaboli M, Rivi R, et al. PML is essential for multiple apoptotic pathways. *Nat Genet*. 1998 Nov;20(3):266-72.
332. Fogal V, Gostissa M, Sandy P, Zacchi P, Sternsdorf T, Jensen K, et al. Regulation of p53 activity in nuclear bodies by a specific PML isoform. *Embo J*. 2000 Nov 15;19(22):6185-95.
333. Guo A, Salomoni P, Luo J, Shih A, Zhong S, Gu W, et al. The function of PML in p53-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol*. 2000 Oct;2(10):730-6.
334. D'Orazi G, Cecchinelli B, Bruno T, Manni I, Higashimoto Y, Saito S, et al. Homeodomain-interacting protein kinase-2 phosphorylates p53 at Ser 46 and mediates apoptosis. *Nat Cell Biol*. 2002 Jan;4(1):11-9.
335. Hofmann TG, Moller A, Sirma H, Zentgraf H, Taya Y, Droge W, et al. Regulation of p53 activity by its interaction with homeodomain-interacting protein kinase-2. *Nat Cell Biol*. 2002 Jan;4(1):1-10.
336. Le XF, Yang P, Chang KS. Analysis of the growth and transformation suppressor domains of promyelocytic leukemia gene, PML. *J Biol Chem*. 1996 Jan 5;271(1):130-5.
337. Saurin AJ, Borden KL, Boddy MN, Freemont PS. Does this have a familiar RING? *Trends Biochem Sci*. 1996 Jun;21(6):208-14.
338. Jensen K, Shiels C, Freemont PS. PML protein isoforms and the RBCC/TRIM motif. *Oncogene*. 2001 Oct 29;20(49):7223-33.
339. Zuchner D, Sternsdorf T, Szosteki 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 Nov;26(5):1123-30.
340. de The H, Lavau C, Marchio A, Chomienne C, Degos L, Dejean A. The PML-RAR alpha fusion mRNA generated by the t(15;17) translocation in acute promyelocytic leukemia encodes a functionally altered RAR. *Cell*. 1991 Aug 23;66(4):675-84.
341. Koken MH, Puvion-Dutilleul F, Guillemain MC, Viron A, Linares-Cruz G, Stuurman N, et al. The t(15;17) translocation alters a nuclear body in a retinoic acid-reversible fashion. *Embo J*. 1994 Mar 1;13(5):1073-83.

342. Kakizuka A, Miller WH, Jr., Umesono K, Warrell RP, Jr., Frankel SR, Murty VV, et al. Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR alpha with a novel putative transcription factor, PML. *Cell*. 1991 Aug 23;66(4):663-74.
343. Lavau C, Marchio A, Fagioli M, Jansen J, Falini B, Lebon P, et al. The acute promyelocytic leukaemia-associated PML gene is induced by interferon. *Oncogene*. 1995 Sep 7;11(5):871-6.
344. Stadler M C-AM, Koken MH, Venturini L, Lee C, Saib A, Quignon F, Pelicano L, Guillemain MC, Schindler C, et al. Transcriptional induction of the PML growth suppressor gene by interferons is mediated through an ISRE and a GAS element. *Oncogene* 1995;11:2565-73.
345. Grotzinger T, Sternsdorf T, Jensen K, Will H. Interferon-modulated expression of genes encoding the nuclear-dot-associated proteins Sp100 and promyelocytic leukemia protein (PML). *Eur J Biochem*. 1996 Jun 1;238(2):554-60.
346. Heuser M, van der Kuip H, Falini B, Peschel C, Huber C, Fischer T. Induction of the promyelocytic leukaemia gene by type I and type II interferons. *Mediators Inflamm*. 1998;7(5):319-25.
347. de Stanchina E, Querido E, Narita M, Davuluri RV, Pandolfi PP, Ferbeyre G, et al. PML is a direct p53 target that modulates p53 effector functions. *Mol Cell*. 2004 Feb 27;13(4):523-35.
348. Flenghi L, Fagioli M, Tomassoni L, Pileri S, Gambacorta M, Pacini R, et al. Characterization of a new monoclonal antibody (PG-M3) directed against the aminoterminal portion of the PML gene product: immunocytochemical evidence for high expression of PML proteins on activated macrophages, endothelial cells, and epithelia. *Blood*. 1995 Apr 1;85(7):1871-80.
349. Aoto T, Saitoh N, Ichimura T, Niwa H, Nakao M. Nuclear and chromatin reorganization in the MHC-Oct3/4 locus at developmental phases of embryonic stem cell differentiation. *Dev Biol*. 2006 Oct 15;298(2):354-67.
350. Cho Y, Lee I, Maul GG, Yu E. A novel nuclear substructure, ND10: distribution in normal and neoplastic human tissues. *Int J Mol Med*. 1998 Apr;1(4):717-24.
351. Lin HK, Bergmann S, Pandolfi PP. Cytoplasmic PML function in TGF-beta signalling. *Nature*. 2004 Sep 9;431(7005):205-11.
352. Kamitani T, Nguyen HP, Kito K, Fukuda-Kamitani T, Yeh ET. Covalent modification of PML by the sentrin family of ubiquitin-like proteins. *J Biol Chem*. 1998 Feb 6;273(6):3117-20.
353. Ayaydin F, Dasso M. Distinct in vivo dynamics of vertebrate SUMO paralogues. *Mol Biol Cell*. 2004 Dec;15(12):5208-18.
354. Fu J, Wang L, Wang W, Chen Z. [Expression of the Wilms' Tumor Gene WT1 and Detection of Minimal Residual Disease in Acute Leukemia]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2000 Sep;8(3):211-5.

355. Fu C, Ahmed K, Ding H, Ding X, Lan J, Yang Z, et al. Stabilization of PML nuclear localization by conjugation and oligomerization of SUMO-3. *Oncogene*. 2005 Aug 18;24(35):5401-13.
356. Gao C, Ho CC, Reineke E, Lam M, Cheng X, Stanya KJ, et al. Histone deacetylase 7 promotes PML sumoylation and is essential for PML nuclear body formation. *Mol Cell Biol*. 2008 Sep;28(18):5658-67.
357. Weisshaar SR, Keusekotten K, Krause A, Horst C, Springer HM, Gottsche K, et al. Arsenic trioxide stimulates SUMO-2/3 modification leading to RNF4-dependent proteolytic targeting of PML. *FEBS Lett*. 2008 Sep 22;582(21-22):3174-8.
358. Tatham MH, Geoffroy MC, Shen L, Plechanovova A, Hattersley N, Jaffray EG, et al. RNF4 is a poly-SUMO-specific E3 ubiquitin ligase required for arsenic-induced PML degradation. *Nat Cell Biol*. 2008 May;10(5):538-46.
359. Lallemand-Breitenbach V, Jeanne M, Benhenda S, Nasr R, Lei M, Peres L, et al. Arsenic degrades PML or PML-RAR α through a SUMO-triggered RNF4/ubiquitin-mediated pathway. *Nat Cell Biol*. 2008 May;10(5):547-55.
360. Bernardi R, Scaglioni PP, Bergmann S, Horn HF, Vousden KH, Pandolfi PP. PML regulates p53 stability by sequestering Mdm2 to the nucleolus. *Nat Cell Biol*. 2004 Jul;6(7):665-72.
361. Yang S, Kuo C, Bisi JE, Kim MK. PML-dependent apoptosis after DNA damage is regulated by the checkpoint kinase hCds1/Chk2. *Nat Cell Biol*. 2002 Nov;4(11):865-70.
362. Scaglioni PP, Yung TM, Cai LF, Erdjument-Bromage H, Kaufman AJ, Singh B, et al. A CK2-dependent mechanism for degradation of the PML tumor suppressor. *Cell*. 2006 Jul 28;126(2):269-83.
363. Jeon YJ, Choi JS, Lee JY, Yu KR, Kim SM, Ka SH, et al. ISG15 modification of filamin B negatively regulates the type I interferon-induced JNK signalling pathway. *EMBO Rep*. 2009 Apr;10(4):374-80.
364. Okumura F, Zou W, Zhang DE. ISG15 modification of the eIF4E cognate 4EHP enhances cap structure-binding activity of 4EHP. *Genes Dev*. 2007 Feb 1;21(3):255-60.
365. Shah SJ, Blumen S, Pitha-Rowe I, Kitareewan S, Freemantle SJ, Feng Q, et al. UBE1L represses PML/RAR α by targeting the PML domain for ISG15ylation. *Mol Cancer Ther*. 2008 Apr;7(4):905-14.
366. Hayakawa F, Abe A, Kitabayashi I, Pandolfi PP, Naoe T. Acetylation of PML is involved in histone deacetylase inhibitor-mediated apoptosis. *J Biol Chem*. 2008 Sep 5;283(36):24420-5.
367. Lee HR, Kim DJ, Lee JM, Choi CY, Ahn BY, Hayward GS, et al. Ability of the human cytomegalovirus IE1 protein to modulate sumoylation of PML correlates with its functional activities in transcriptional regulation and infectivity in cultured fibroblast cells. *J Virol*. 2004 Jun;78(12):6527-42.

368. Kang H, Kim ET, Lee HR, Park JJ, Go YY, Choi CY, et al. Inhibition of SUMO-independent PML oligomerization by the human cytomegalovirus IE1 protein. *J Gen Virol*. 2006 Aug;87(Pt 8):2181-90.
369. Everett RD, Rechter S, Papior P, Tavalai N, Stamminger T, Orr A. PML contributes to a cellular mechanism of repression of herpes simplex virus type 1 infection that is inactivated by ICP0. *J Virol*. 2006 Aug;80(16):7995-8005.
370. Turelli P, Doucas V, Craig E, Mangeat B, Klages N, Evans R, et al. Cytoplasmic recruitment of INI1 and PML on incoming HIV preintegration complexes: interference with early steps of viral replication. *Mol Cell*. 2001 Jun;7(6):1245-54.
371. Bischof O, Nacerddine K, Dejean A. Human papillomavirus oncoprotein E7 targets the promyelocytic leukemia protein and circumvents cellular senescence via the Rb and p53 tumor suppressor pathways. *Mol Cell Biol*. 2005 Feb;25(3):1013-24.
372. Kofod-Olsen E, Ross-Hansen K, Mikkelsen JG, Hollsberg P. Human herpesvirus 6B U19 protein is a PML-regulated transcriptional activator that localizes to nuclear foci in a PML-independent manner. *J Gen Virol*. 2008 Jan;89(Pt 1):106-16.
373. Wang ZG, Delva L, Gaboli M, Rivi R, Giorgio M, Cordon-Cardo C, et al. Role of PML in cell growth and the retinoic acid pathway. *Science*. 1998 Mar 6;279(5356):1547-51.
374. Takahashi Y, Lallemand-Breitenbach V, Zhu J, de The H. PML nuclear bodies and apoptosis. *Oncogene*. 2004 Apr 12;23(16):2819-24.
375. Gurrieri C, Capodici P, Bernardi R, Scaglioni PP, Nafa K, Rush LJ, et al. Loss of the tumor suppressor PML in human cancers of multiple histologic origins. *J Natl Cancer Inst*. 2004 Feb 18;96(4):269-79.
376. Ito K, Bernardi R, Morotti A, Matsuoka S, Saglio G, Ikeda Y, et al. PML targeting eradicates quiescent leukaemia-initiating cells. *Nature*. 2008 Jun 19;453(7198):1072-8.
377. Mytilinaiou MG, Meyer W, Scheper T, Rigopoulou EI, Probst C, Koutsoumpas AL, et al. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta*. 2012 Aug 16;413(15-16):1211-6.
378. Sternsdorf T, Jensen K, Will H. Evidence for covalent modification of the nuclear dot-associated proteins PML and Sp100 by PIC1/SUMO-1. *J Cell Biol*. 1997 Dec 29;139(7):1621-34.
379. Stadler M, Chelbi-Alix MK, Koken MH, Venturini L, Lee C, Saib A, et al. Transcriptional induction of the PML growth suppressor gene by interferons is mediated through an ISRE and a GAS element. *Oncogene*. 1995 Dec 21;11(12):2565-73.

380. Maul GG, Guldner HH, Spivack JG. Modification of discrete nuclear domains induced by herpes simplex virus type 1 immediate early gene 1 product (ICP0). *J Gen Virol.* 1993 Dec;74 (Pt 12):2679-90.
381. Szostecki C, Guldner HH, Will H. Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 1997 Feb;17(1):71-8.
382. Villamor N, Costa D, Aymerich M, Esteve J, Carrio A, Rozman M, et al. Rapid diagnosis of acute promyelocytic leukemia by analyzing the immunocytochemical pattern of the PML protein with the monoclonal antibody PG-M3. *Am J Clin Pathol.* 2000 Nov;114(5):786-92.
383. Falini B, Flenghi L, Fagioli M, Lo Coco F, Cordone I, Diverio D, et al. Immunocytochemical diagnosis of acute promyelocytic leukemia (M3) with the monoclonal antibody PG-M3 (anti-PML). *Blood.* 1997 Nov 15;90(10):4046-53.
384. Aractingi S, de The H, Gluckman E, Le Goue C, Carosela ED. PML is expressed in chronic graft-versus-host disease lesions. *Bone Marrow Transplant.* 1997 Jun;19(11):1125-8.
385. Crosignani A, Battezzati PM, Invernizzi P, Selmi C, Prina E, Podda M. Clinical features and management of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2008 Jun 7;14(21):3313-27.
386. Pares A, Caballeria L, Rodes J. Excellent long-term survival in patients with primary biliary cirrhosis and biochemical response to ursodeoxycholic Acid. *Gastroenterology.* 2006 Mar;130(3):715-20.
387. Lleo A, Invernizzi P, Mackay IR, Prince H, Zhong RQ, Gershwin ME. Etiopathogenesis of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 2008 Jun 7;14(21):3328-37.
388. Saito H, Takahashi A, Abe K, Okai K, Katsushima F, Monoe K, et al. Autoantibodies by line immunoassay in patients with primary biliary cirrhosis. *Fukushima J Med Sci.* 2012;58(2):107-16.
389. Xiao H, Chen JW, Xie X, Liu YM, Li F. [Diagnostic significance of autoantibodies in patients with primary biliary cirrhosis]. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2012 Apr 18;44(2):209-14.
390. 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 Jun;20(6):707-13.
391. Lindor KD, Jorgensen RA, Therneau TM, Malinchoc M, Dickson ER. Ursodeoxycholic acid delays the onset of esophageal varices in primary biliary cirrhosis. *Mayo Clin Proc.* 1997 Dec;72(12):1137-40.
392. Gluud C, Christensen E. Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002(1):CD000551.
393. Krzeski P, Zych W, Kraszewska E, Milewski B, Butruk E, Habior A. Is serum bilirubin concentration the only valid prognostic marker in primary biliary cirrhosis? *Hepatology.* 1999 Oct;30(4):865-9.

394. Lindor KD, Therneau TM, Jorgensen RA, Malinchoc M, Dickson ER. Effects of ursodeoxycholic acid on survival in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 1996 May;110(5):1515-8.
395. Corpechot C, Carrat F, Bahr A, Chretien Y, Poupon RE, Poupon R. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on the natural course of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2005 Feb;128(2):297-303.
396. Kim WR, Wiesner RH, Therneau TM, Poterucha JJ, Porayko MK, Evans RW, et al. Optimal timing of liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 1998 Jul;28(1):33-8.
397. Hintemann C SK, Biesterfeld S, Galle PR, Erthle J, Gerken G, Canbay A, Herzer K. Nuclear proteins in primary biliary cirrhosis as guardians against HCC development. *Z Gastroenterol*. 2013;51:4-23.
398. Ludwig J, Dickson ER, McDonald GS. Staging of chronic nonsuppurative destructive cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis). *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1978 Aug 22;379(2):103-12.
399. Zachou K, Liaskos C, Rigopoulou E, Gabeta S, Papamichalis P, Gatselis N, et al. Presence of high avidity anticardiolipin antibodies in patients with autoimmune cholestatic liver diseases. *Clin Immunol*. 2006 May;119(2):203-12.
400. Poupon R, Chazouilleres O, Poupon RE. Chronic cholestatic diseases. *J Hepatol*. 2000;32(1 Suppl):129-40.
401. 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 May;30(5):956-61.
402. Satra M DG, Kollia P, Vamvakopoulos N, Tsezou A. Telomerase reverse transcriptase mRNA expression in peripheral lymphocytes of patients with chronic HBV and HCV infections. *J Viral Hepat*. 2005;12:488-93.
403. Dalekos GN, Achenbach K, Christodoulou D, Liapi GK, Zervou EK, Sideris DA, et al. Idiopathic dilated cardiomyopathy: lack of association with hepatitis C virus infection. *Heart*. 1998 Sep;80(3):270-5.
404. Satra M, Dalekos GN, Kollia P, Vamvakopoulos N, Tsezou A. Telomerase reverse transcriptase mRNA expression in peripheral lymphocytes of patients with chronic HBV and HCV infections. *J Viral Hepat*. 2005 Sep;12(5):488-93.
405. Dalekos GN, Christodoulou D, Kistis KG, Zervou EK, Hatzis J, Tsianos EV. A prospective evaluation of dermatological side-effects during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1998 Nov;10(11):933-9.
406. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version). *J Hepatol*. 2003 Apr;38(4):533-40.

407. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology*. 2003 May;37(5):1202-19.
408. Nyberg A, Loof L. Primary biliary cirrhosis: clinical features and outcome, with special reference to asymptomatic disease. *Scand J Gastroenterol*. 1989 Jan;24(1):57-64.
409. Myszor M, James OF. The epidemiology of primary biliary cirrhosis in north-east England: an increasingly common disease? *Q J Med*. 1990 Apr;75(276):377-85.
410. 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 Oct 15;1(1):2.
411. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Pares A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008 Jul;48(1):169-76.
412. Chung CS, Hsu YC, Huang SY, Jeng YM, Chen CH. Primary biliary cirrhosis associated with pernicious anemia. *Can Fam Physician*. 2010 Sep;56(9):889-91.
413. Culp KS, Fleming CR, Duffy J, Baldus WP, Dickson ER. Autoimmune associations in primary biliary cirrhosis. *Mayo Clin Proc*. 1982 Jun;57(6):365-70.
414. Jazia EB, Khalifa M, Abdelkader AB, Kaabia N, Ghannouchi N, Braham A, et al. A case of primary biliary cirrhosis associated with pernicious anemia: a case report. *Cases J*. 2010;3:11.
415. Takahashi T, Honma T, Ishizuka K, Fuse I, Asakura H. A female with asymptomatic primary biliary cirrhosis associated with pernicious anemia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Dec;16(12):1420-4.
416. Liaskos C, Norman GL, Moulas A, Garagounis A, Goulis I, Rigopoulou EI, et al. Prevalence of gastric parietal cell antibodies and intrinsic factor antibodies in primary biliary cirrhosis. *Clin Chim Acta*. Mar;411(5-6):411-5.
417. Wirth HP, Meyenberger C, Ammann R, Blum HE. [Parietal cell antibodies in primary biliary cirrhosis: pathogenetic or diagnostic significance?]. *Schweiz Med Wochenschr*. 1994 May 14;124(19):816-20.
418. Baeres M, Herkel J, Czaja AJ, Wies I, Kanzler S, Cancado EL, et al. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut*. 2002 Aug;51(2):259-64.
419. Ma Y, Okamoto M, Thomas MG, Bogdanos DP, Lopes AR, Portmann B, et al. Antibodies to conformational epitopes of soluble liver antigen define a severe form of autoimmune liver disease. *Hepatology*. 2002 Mar;35(3):658-64.
420. 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 Feb;97(2):413-9.

421. Pares A, Rodes J. Natural history of primary biliary cirrhosis. Clin Liver Dis. 2003 Nov;7(4):779-94.