



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΟΜΩΝΥΜΟ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Διευθυντής Καθηγητής Γ.Ν. Νταλέκος

Διδακτορική Διατριβή

**«Χαρτογράφηση των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων
του αυτοαντιγόνου Ro52
σε anti-SLA/LP θετικούς και αρνητικούς ασθενείς
με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος»**

υπό της

Στέλλας Γκαμπέτα

Ιατρού Παθολόγου

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος
Λάρισα, 2017

© 2017 Στέλλα Γκαμπέτα

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

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (10^η/03-05-2017 ΓΣΕΣ):

- 1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπων)** **Γεώργιος Ν. Νταλέκος,**
Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Π.Θ
- 2^{ος} Εξεταστής** **Αναστάσιος Γερμενής**
Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Ιατρική Σχολή,
Π.Θ
- 3^{ος} Εξεταστής** **Ειρήνη Ι. Ρηγοπούλου**
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας, Ιατρική Σχολή,
Π.Θ
- 4^{ος} Εξεταστής** **Καλλιόπη Ζάχου**
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Π.Θ
- 5^{ος} Εξεταστής** **Νικόλαος Γατσέλης**
Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Π.Θ
- 6^{ος} Εξεταστής** **Δημήτριος Μπόγδανος**
Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων
Νοσημάτων, Ιατρική Σχολή, Π.Θ
- 7^{ος} Εξεταστής** **Γεώργιος Κουκούλης**
Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Ιατρική Σχολή, Π.Θ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Προσωπικά στοιχεία

Όνομα: Στέλλα
Επώνυμο: Γκαμπέτα
Τόπος γέννησης: Λάρισα
Ημερομηνία γεννησης: 12 Οκτωβρίου 1979
Οικογενειακή κατάσταση: Έγγαμη, μητέρα δύο παιδιών
Δ/ση κατοικίας: Σεβαστιανού 2, Ελασσόνα, 40200
E-mail: s_gampeta@yahoo.com

Εκπαίδευση- Έρευνα

- Ιατρική Σχολή Π.Θ (9/1997-7/2003)
- Ειδίκευση στην Παθολογία στην Παθολογική Κλινική Π.Θ (12/2007-10/2012). Τίτλος ειδικότητας Παθολογίας (10/2012).
- Μεταπτυχιακή φοιτήτρια και Υποψήφια Διδάκτωρ στο Ερευνητικό Εργαστήριο παθολογίας του Π.Θ (2004-2015)
- Εκπαίδευση στην παρακολούθηση ασθενών με χρόνια ηπατικά νοσήματα στο Ηπατολογικό Ιατρείο της Παθολογικής Κλινικής του Παν/μιου Θεσσαλίας (1/2013-8/2015)
- 8ο Σχολείο Κλινικής Ηπατολογίας (Διοργάνωση: Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος). Αθήνα και Θεσ/νικη, Οκτώβριος 2014-Ιούνιος 2015
- Honorary Research Fellow. Liver Unit, King's College Hospital London (9/2015-8/2017)

Εργασία

- 10/2003-2/2005 Εκπλήρωση της Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Κ .Υ. Ελασσόνας
- 12/2007-10/2012 Ειδίκευση στην Παθολογική Κλινική του Π.Θ
- 3/2017-σήμερα Επιμελήτρια Β' Παθολογικής Κλινικής Π.Θ

Υποτροφίες

- Υποτροφία του Ινστιτούτου Βιοτεχνολογίας Έρευνας και Τεχνολογίας του Κέντρου Έρευνας, Τεχνολογίας και Ανάπτυξης Θεσσαλίας (Κ.Ε.ΤΕ.Α.Θ.), Λάρισα, 2007 για συμμετοχή στην υλοποίηση του έργου «Μελέτη Ειδικών Ανοσολογικών Δεικτών σε χρόνια νοσήματα του ήπατος».
- Υποτροφία της Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης του Ήπατος, Αθήνα 2015 για μετεκπαίδευση διάρκειας ενός έτους στα «Αυτοάνοσα Νοσήματα του Ήπατος» στο King's College Hospital του Λονδίνου.

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά

1. AG Kaditis, J Finder, EI Alexopoulos, K Starantzis, K Tanou, **S Gampeta**, E Agorogiannis, S Christodoulou, A Pantazidou, K Gourgoulisanis, PA Molyvdas. Sleep disordered breathing in 3,680 Greek children. *Pediatr Pulmonol* 2004 Jun;37(6):499-509.
2. K Zachou, C Liaskos, E Rigopoulou, **S Gabeta**, P Papamichalis, N Gatselis, S Georgiadou, GN Dalekos. Presence of high avidity anticardiolipin antibodies in patients with autoimmune cholestatic liver diseases. *Clin Immunol* 119:203-212, 2006.
3. **S Gabeta**, GL Norman, C Liaskos, PA Papamichalis, T Zografos, A Garagounis, EI Rigopoulou, GN Dalekos. Diagnostic relevance and clinical significance of the new enhanced performance M2 (MIT3) ELISA for the detection of IgG and IgA antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Clin Immunol* 2007 Jul;27(4):378-87.
4. PA Papamichalis, K Zachou, GK Koukoulis, A Veloni, EG Karakosta, L Kypri, I Mamaloudis, **S Gabeta**, EI Rigopoulou, AW Lohse, GN Dalekos. The revised autoimmune hepatitis score in chronic liver diseases including autoimmune hepatitis/overlap syndromes and autoimmune hepatitis with concurrent other liver diseases. *J Autoimmune Dis.* 2007 Jun 29;4:3.
5. **S Gabeta**, GL Norman, N Gatselis, C Liaskos, IgA Anti-b2GPI Antibodies in Patients with Autoimmune Liver Diseases. *J Clin Immunol* 2008 28(5):501-511.
6. SP Georgiadou, K Zachou, C Liaskos, **S Gabeta**, EI Rigopoulou, GN Dalekos. Occult hepatitis B virus infection in patients with autoimmune liver diseases. *Liver Int.* 2009 Mar;29(3):434-42.
7. NK Gatselis, K Zachou, P Papamichalis, GK Koukoulis, **S Gabeta**, GN Dalekos, EI Rigopoulou. Comparison of simplified score with the revised original score for the diagnosis of autoimmune hepatitis: A new or a complementary diagnostic score? *Dig Liver Dis.* 2010 Nov;42(11):807-12.
8. CK Argyraki, **S Gabeta**, K Zachou, M Boulbou, A Polyzos, GN Dalekos. Favourable outcome of life-threatening infectious-related haemophagocytic syndrome after combination treatment with corticosteroids and intravenous immunoglobulin infusions. *Eur J Intern Med.* 2011 Dec;22(6):e155-7.

9. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, G Tzellas, M Speletas, **S Gabeta**, A. Germenis, G.K Koukoulis, G.N Dalekos. IgA antibodies against deamidated gliadin peptides in patients with chronic liver diseases. *Clin Chim Acta*. 2012 Oct 9;413(19-20):1683-8.
10. TA Zografos, N Gatselis, K Zachou, C Liaskos, **S Gabeta**, GK Koukoulis, GN Dalekos. 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.
11. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, **S Gabeta**, P Papamichalis, GK Koukoulis, GN Dalekos. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis-related autoantibodies during the course of the disease. *Autoimmunity*. 2013 Nov;46(7):471-9.
12. K Zachou, A Sarantopoulos, NK Gatselis, T Vassiliadis, **S Gabeta**, A Stefos, A Saitis, P Boura, GN Dalekos. Hepatitis B virus reactivation in hepatitis B virus surface antigen negative patients receiving immunosuppression: A hidden threat. *World J Hepatol*. 2013 Jul 27;5(7):387-92.
13. **K Zachou, S Gampeta, NK Gatselis, K Oikonomou, J Goulis, MN Manoussakis, Y Renaudineau, DP Bogdanos, GN Dalekos. Anti-SLA/LP alone or in combination with anti-Ro52 and fine specificity of anti-Ro52 antibodies in patients with autoimmune hepatitis. Liver Int. 2014 Aug 11.**
14. A Lyberopoulou, G Chachami, NK Gatselis, E Kyrtzopoulou, A Saitis, **S Gabeta**, P Eliades, E Paraskeva, K Zachou, GK Koukoulis, A Mamalaki, GN Dalekos, G Simos. Low Serum Hcpidin in Patients with Autoimmune Liver Diseases. *PLoS One*. 2015 Aug 13;10(8).
15. K Zachou, NK Gatselis, P Arvaniti, **S Gabeta**, EI Rigopoulou, GK Koukoulis, GN Dalekos. A real-world study focused on the long-term efficacy of mycophenolate mofetil as first-line treatment of autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016 May;43(10):1035-47.
16. **S Gabeta**, GW Wong, MA Heneghan. Liver disease in pregnancy: Beyond the guidelines. *Am J Gastroenterol*. 2016 Jul;111(7):1042-3.
17. K Zachou, **S Gabeta**, Z Shums, NK Gatselis, GK Koukoulis, GL Norman, GN Dalekos. COMP serum levels: A new non-invasive biomarker of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis. *Eur J Intern Med*. 2017 Mar;38:83-88.
18. K Zachou, **S Gabeta**, NK Gatselis, GL Norman, GN Dalekos. Cartilage oligomeric matrix protein on the spot for liver fibrosis evaluation: Too early or too late? *Eur J Intern Med*. 2017 May 11.

Συμμετοχή σε ανακοινώσεις συνεδρίων (αναρτημένες ή προφορικές)

1. A Kaditis, E Agorogiannis, S Christodoulou, **S Gampeta**, A Pantazidou, C Starantzis, K Tanou, M Alexopoulos, K Gourgoulisanis, PA Molyvdas. Prevalence and clinical factors associated with disordered breathing in children and adolescents: a population-based survey. 11th European Respiratory Society annual Congress, Berlin 2001.

2. **S Gabeta**, GL Norman, N Gatselis, C Liaskos, PA Papamichalis, A Garagounis, K Zachou, EI Rigoroulou, GN Dalekos. IgA isotype specific anti-b2gpi antibodies in patients with autoimmune liver diseases. 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Milano, April 23- 27, 2008.
3. Ν.Κ. Γατσέλης, Π. Παπαμιχάλης, Κ. Ζάχου, Γ.Κ. Κουκούλης, **Σ. Γκαμπέτα**, Ε.Ι. Ρηγοπούλου, Γ.Ν. Νταλέκος. Σύγκριση του απλοποιημένου συστήματος για τη διάγνωση αυτοανόσου ηπατίτιδας σε σχέση με το αρχικό σύστημα βαθμοποίησης σε ασθενείς με χρόνια ηπατικά νοσήματα. 2ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 18-20 Μαρτίου 2010.
4. Α. Αργυράκη, **Σ. Γκαμπέτα**, Α.Μ. Κουρή, Α. Πολύζος, Ε.Ι. Ρηγοπούλου, Γ.Ν. Νταλέκος. Αιμοφαγοκυτταρικό σύνδρομο και λοιμώδεις παράγοντες. 2ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος. Λάρισα, 18-20 Μαρτίου 2010.
5. Α. Γκαραγκούνης, Χ. Λιάσκος, **Σ. Γκαμπέτα**, Κ. Ζάχου, Ε.Ι. Ρηγοπούλου, Γ.Ν. Νταλέκος. Συχνότητα και σημασία των μη καθιερωμένων αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου 1 (ΑΗ-1).
6. ΝΚ Gatselis, K Zachou, GL Norman, **S Gabeta**, A Stefos, GN Dalekos. "Serial analysis of autoantibodies in patients with primary biliary cirrhosis". 10th Congress of the European Federation of Internal Medicine and 17th Panhellenic Congress of Internal Medicine, Athens, Greece, October 5-8, 2011.
7. ΝΚ Gatselis, K Zachou, G Tzelas, **S Gabeta**, G.K. Koukoulis, A Germenis, GN Dalekos. "Clinical significance of deamidated gliadin peptide antibodies in patients with chronic liver diseases". 10th Congress of the European Federation of Internal Medicine and 17th Panhellenic Congress of Internal Medicine, Athens, Greece, October 5-8, 2011.
8. Ν.Κ. Γατσέλης, Γ. Τζελάς, Κ. Ζάχου, **Σ. Γκαμπέτα**, Γ.Κ. Κουκούλης, Γ.Ν. Νταλέκος. Κλινική σημασία των αντισωμάτων έναντι απαμιδωμένων πεπτιδίων γλιαδίνης σε ασθενής με χρόνια ηπατικά νοσήματα. 3ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 10-12 Μαρτίου 2011.
9. **Σ. Γκαμπέτα**, Κ. Ζάχου, Σ. Γεωργιάδου, Γ. Παπαδάμου, Ε. Ρηγοπούλου, Γ.Ν. Νταλέκος. Αναζωπύρωση λανθάνουσας ηπατίτιδας Β σε ΗΒsAg(-) ασθενείς μετά θεραπεία με rituximab. 3ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 15-18 Μαρτίου 2011.
10. **Σ. Γκαμπέτα**, Κ. Ζάχου, Π. Παπαμιχάλης, Α. Πολύζος, Κ.Π. Μακαρίτσης, Γ.Ν. Νταλέκος. Νόσος Still ενηλίκων: η διαγνωστική πρόκληση του παθολόγου. 3^ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 15-18 Μαρτίου 2011.
11. **Σ. Γκαμπέτα**, Α. Στέφος, Κ. Ζάχου, Α. Πολύζος, Γ.Ν. Νταλέκος. Ενδοφθαλμίτιδα: εξωηπατική εντόπιση ηπατικού αποστήματος οφειλόμενου σε Klebsiella pneumoniae. 4ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Λάρισα, 29-31 Μαρτίου 2012.
12. Ε. Κουμάτι, **Σ. Γκαμπέτα**, Α. Σαϊτής, Α. Στέφος, Κ. Ζάχου, Α. Πολύζος, Ι. Μπιζάκης, Γ.Κ. Κουκούλης, Γ. Ν. Νταλέκος. Ανώδυνη τραχηλική λεμφαδενοπάθεια: παρουσίαση τριών ασθενών. 4ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Λάρισα, 29-31 Μαρτίου 2012.
13. Α. Σαϊτής, **Σ. Γκαμπέτα**, Α. Στέφος, Ν.Κ. Γατσέλης, Κ. Ζάχου, Α. Πολύζος, Κ.Π. Μακαρίτσης, Γ.Ν. Νταλέκος. Χαρακτηριστικά της λοίμωξης από το

- στέλεχος της νέας γρίπης A (H1N1). 4ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 29-31 Μαρτίου 2012.
14. Κ. Ζάχου, **Σ. Γκαμπέτα**, Ν.Κ. Γατσέλης, Α. Οικονόμου, Ε. Εξάρχου, Γ.Ν. Νταλέκος. Κλινική σημασία SLA/LP αντισωμάτων στην αυτοάνοση ηπατίτιδα: Απουσία συσχέτισης με δυσμενέστερη πρόγνωση. 4ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 29-31 Μαρτίου 2012.
 15. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, G Tzelas, **S Gabeta**, M Speletas, GK Koukoulis, GN Dalekos. IgA antibodies against deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase in patients with chronic liver diseases. 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Barcelona, Spain, April 18-22, 2012.
 16. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, **S Gabeta**, GK Koukoulis, GN Dalekos. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis- related autoantibodies during the course of the disease. 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Barcelona, Spain, April 18-22, 2012.
 17. Α.Ι. Σαΐτης, Ν. Γατσέλης, Κ. Ζάχου, Κ. Πολύζος, **Σ. Γκαμπέτα**, Σ. Βαλαής, Γ.Ν. Νταλέκος. Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση στη Θεσσαλία. 5ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας. Λάρισα, 28-30 Μαρτίου 2013.
 18. Ν.Κ. Γατσέλης, Κ. Ζάχου, Α. Σαΐτης, **Σ. Γκαμπέτα**, Γ.Ν. Νταλέκος. Η πρωτοπαθής χολική κίρρωση στη Θεσσαλία. 13ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 9-12 Μαΐου 2013.
 19. Ν.Κ. Γατσέλης, Κ. Ζάχου, Α. Λυμπεροπούλου, Γ. Χαχάμη, Α. Σαΐτης, **Σ. Γκαμπέτα**, Π. Ηλιάδης, Ε. Παρασκευά, Α. Μαμαλάκη, Γ. Σίμος, Γ.Ν. Νταλέκος. Μείωση της παραγωγής επιδίνης σε ασθενείς με αυτοάνοσα ηπατικά νοσήματα. 13ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 9-12 Μαΐου 2013. (2ο βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης).
 20. Κ. Ζάχου, Ν. Γατσέλης, Γ.Κ. Κουκούλης, Α. Σαΐτης, **Σ. Γκαμπέτα**, Κ. Γαλάνης, Ε.Ι. Ρηγοπούλου, Γ.Ν. Νταλέκος. Φυσική ιστορία της αυτοάνοσης ηπατίτιδας στην Ελλάδα: Ο ρόλος της μυκοφαινόλατης. 13ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 9-12 Μαΐου 2013.
 21. K Zachou, N Gatselis, **S Gabeta**, AI Saitis, G Papadamou, EI Rigopoulou, GK Koukoulis, GN Dalekos. Autoimmune hepatitis natural history: a single Greek center experience focused on long-term effect of mycophenolate mofetil as first line treatment. American Association for the Study of Liver Disease, The Liver Meeting 2013. Washington, DC, USA, November 1-5, 2013.
 22. **S Gabeta**, K Zachou, N Gatselis, A Saitis, G Papadamou, E Rigopoulou, GK Koukoulis. Autoimmune hepatitis natural history: A single center experience, focusing on long term follow up of patients treated with mycophenolate mofetil as first line treatment. 6th International Congress of Internal Medicine of Central Greece. Larissa, Greece, March 27-29, 2014.
 23. **S Gabeta**, K Zachou, NK Gatselis, K Oikonomou, I Goulis, DP Bogdanos, GK Koukoulis, GN Dalekos. Clinical significance of anti-SLA/LP alone or in combination with anti-Ro52 in patients with autoimmune hepatitis. 6th International Congress of Internal Medicine of Central Greece. Larissa, Greece, March 27-29, 2014.
 24. **S Gabeta**, K Zachou, NK Gatselis, DP Bogdanos, MN Manoussakis, GK Koukoulis, GN Dalekos. B-cell epitopes of Ro52 autoantigen in anti-SLA/LP-

- positive and –negative patients with autoimmune hepatitis. 6th International Congress of Internal Medicine of Central Greece. Larissa, Greece, March 27-29, 2014.
25. **S Gabeta**, K Zachou, NK Gatselis, A Saitis, GK Koukoulis, GN Dalekos. COMP serum levels: A new non-invasive biomarker of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis. 6th International Congress of Internal Medicine of Central Greece. Larissa, Greece, March 27-29, 2014.
 26. K Zachou, **S Gabeta**, NK Gatselis, K Oikonomou, I Goulis, MN Manoussakis, Y Renaudineau, DP Bogdanos, GN Dalekos. Anti-SLA/LP alone or in combination with anti-Ro52 and fine specificity of anti-Ro52 antibodies in patients with autoimmune hepatitis. Annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. London, UK, April 9-13, 2014.
 27. **S Gabeta**, K Zachou, Z Schums, N Gatselis, GK Koukoulis, GL Norman, GN Dalekos. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels. A new non-invasive biomarker of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis. AASLD, The Liver Meeting, Boston MA, November 14-17, 2014.
 28. N Gatselis, A Lyberopoulou, K Zachou, G Chachami, P Eliades, **S Gabeta**, E Paraskeva, A Mamalaki, GK Koukoulis, GN Dalekos. Down-regulation of hepcidin production in patients with autoimmune liver diseases. AASLD The Liver Meeting, Boston MA, November 14-17, 2014.
 29. K Zachou, N Gatselis, **S Gabeta**, A Saitis, G Koukoulis, GN Dalekos. Long-term outcome of patients with autoimmune hepatitis receiving mycophenolate mofetil (MMF) as first line treatment. European Association for the Study of the Liver (EASL) International Liver Congress 2015. Vienna, Austria, April 22 - 26, 2015.
 30. Κ. Ζάχου, Ν. Γατσέλης, **Σ. Γκαμπέτα**, Α. Σαΐτης, Π. Αρβανίτη, Ε. Ρηγοπούλου, Γ. Κουκούλης, Γ. Νταλέκος. Mycophenolate mofetil (MMF) ως θεραπεία πρώτης γραμμής στην ΑΗ ηπατίτιδα (ΑΗ): Αποτελέσματα μακροχρόνιας παρακολούθησης. 14^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Κως, 7-10 Μαΐου 2015.
 31. E Gonsalkorala, M Cannon, TY Lim, **S Gabeta**, L Penna, MA Heneghan. Stage of fibrosis and AST Platelet Ratio Index (APRI) as predictors of length of gestation in women with chronic liver disease (EASL) International Liver Congress 2015. Amsterdam, Netherlands, April 19-23, 2017.
 32. TY Lim, E Gonsalkorala, M Cannon, **S Gabeta**, L Penna, MA Heneghan. Albumin-bilirubin grade allows accurate prediction of live births in patients with liver disease. (EASL) International Liver Congress 2015. Amsterdam, Netherlands, April 19-23, 2017.
 33. **Σ. Γκαμπέτα**, Κ. Ζάχου, Ζ. Shums, Ν.Κ. Γατσέλης, Γ. Κουκούλης, GL Norman, Γ.Ν Νταλέκος Ολιγομερική πρωτεΐνη της θεμέλιας ουσίας των χόνδρων (COMP): ένας νέος μη επεμβατικός ορολογικός δείκτης της ίνωσης στις χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες. 15^ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο. Λάρισα 25-27 Μαΐου 2017.

Περίληψεις εργασιών (abstracts) που έχουν δημοσιευθεί σε διεθνή περιοδικά

1. **S Gabeta**, GL Norman, N Gatselis, C Liaskos, PA Papamichalis, A Garagounis, K Zachou, EI Rigopoulou and GN Dalekos. IgA isotype specific anti-b2GPI antibodies in patients with autoimmune liver diseases. *J Hepatol* 2008; 48 (Suppl 2): 330.
2. N Gatselis, K Zachou, GL Norman, **S Gabeta**, A Stefos, GN Dalekos. Serial analysis of autoantibodies in patients with primary biliary cirrhosis. *Eur J Intern Med* 2011; 22 (Suppl 1): 101.
3. N Gatselis, K Zachou, G Tzelas, **S Gabeta**, GK Koukoulis, A Germenis, GN Dalekos. Clinical significance of deamidated gliadin peptide antibodies in patients with chronic liver diseases. *Eur J Intern Med* 2011; 22 (Suppl 1): 34.
4. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, G Tzelas, **S Gabeta**, M Speletas, GK Koukoulis, GN Dalekos. IgA antibodies against deamidated gliadin peptides and tissue-transglutaminase in patients with chronic liver diseases. *J Hepatol* 2012; 56 (Suppl 2): S383
5. NK Gatselis, K Zachou, GL Norman, **S Gabeta**, GK Koukoulis, GN Dalekos. Clinical significance of the fluctuation of primary biliary cirrhosis- related autoantibodies during the course of the disease. *J Hepatol* 2012; 56 (Suppl 2): S368-369
6. K Zachou, NK Gatselis, **S Gabeta**, AI Saitis, G Papadamou, EI Rigopoulou, GN Dalekos. Autoimmune hepatitis natural history: a single Greek center experience focused on long-term effect of mycophenolate mofetil as first line treatment. *Hepatology* 2013; 58 (Suppl1).
7. **K Zachou, S Gabeta, NK Gatselis, K Oikonomou, I Goulis, MN Manoussakis, Y Renaudineau, DP Bogdanos, GN Dalekos. Anti-SLA/LP alone or in combination with anti-Ro52 and fine specificity of anti-Ro52 antibodies in patients with autoimmune hepatitis. J Hepatol 2014.**
8. **S Gabeta**, K Zachou, Z Schums, N Gatselis, GK Koukoulis, GL Norman, GN Dalekos. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) serum levels. A new non-invasive biomarker of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis. *Hepatology* 2014; 60 (Suppl 4).
9. N Gatselis, A Lyberopoulou, K Zachou, G Chachami, P Eliades, **S Gabeta**, E Paraskeva, A Mamalaki, GK Koukoulis, GN Dalekos. Down-regulation of hepcidin production in patients with autoimmune liver diseases. *Hepatology* 2014; 60 (Suppl 4).

«Χαρτογράφηση των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων
του αυτοαντιγόνου Ro52
σε anti-SLA/LP θετικούς και αρνητικούς ασθενείς
με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος»

Στέλλα Γκαμπέτα

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2017

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Γεώργιος Νταλέκος**, Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή, Π.Θ
(Επιβλέπων)
2. **Ειρήνη Ι. Ρηγοπούλου** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογίας, Ιατρική
Σχολή, Π.Θ
3. **Αναστάσιος Γερμενής**, Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Ιατρική
Σχολή, Π.Θ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ- ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η Αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) είναι μια σχετικά σπάνια χρόνια ηπατική νόσος που προσβάλλει συνηθέστερα γυναίκες. Χαρακτηρίζεται από υπεργαμμασφαιριναιμία, κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα στον ορό, παρουσία συγκεκριμένων HLA, ιστολογική εικόνα περιπυλαίας ηπατίτιδας και καλή ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή. Η αιτιοπαθογένειά της δεν είναι πλήρως γνωστή και η διάγνωσή της είναι σχετικά δύσκολη, αφού δεν υπάρχει ένας και μόνος δείκτης αυτής.

Τα anti-SLA/LP είναι ειδικά αυτοαντισώματα της νόσου, τα οποία, ωστόσο, απαντώνται σε ποσοστό μόλις 10-30% των ασθενών με ΑΗ. Η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με σοβαρή κλινική και ιστολογική εικόνα και πτωχή πρόγνωση. Έχει βρεθεί ότι στην πλειοψηφία τους οι anti-SLA/LP(+) ασθενείς εμφανίζουν παράλληλα τα αυτοαντισώματα anti-Ro52, η κλινική σημασία των οποίων δεν είναι ξεκάθαρη. Η συχνή συνύπαρξη των παραπάνω αυτοαντισωμάτων θα μπορούσε να υποδηλώνει έναν κοινό παθογενετικό μηχανισμό στην ΑΗ.

Στην παρούσα εργασία εκτιμήθηκε η συχνότητα και η κλινική σημασία των anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων σε μια μεγάλη σειρά ασθενών με ΑΗ. Επιπλέον, ελέγχθηκαν οι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι του αυτοαντιγόνου Ro52 στο πλαίσιο της αναζήτησης πιθανού παθογενετικού ρόλου του στην ΑΗ.

Η συγκεκριμένη μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όσους βοήθησαν και στήριξαν αυτή την προσπάθεια. Ιδιαίτερως ευχαριστώ τον Καθηγητή Παθολογίας κ. Γεώργιο Νταλέκο, δάσκαλό μου στην Παθολογία και την Ηπατολογία για την εμπιστοσύνη του να εκπαιδευτώ στο Εργαστήριο του. Μού έδωσε έτσι τη δυνατότητα να γνωρίσω διάφορες εργαστηριακές τεχνικές, αλλά κυρίως να μάθω να εργάζομαι με επιμονή, υπομονή, να πιστεύω στην έρευνα, τη μελέτη και τη διαρκή εκπαίδευση ως απαραίτητα στοιχεία στην άσκηση της Ιατρικής. Ευχαριστώ, επίσης, τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, την Αναπληρώτρια

Καθηγήτρια Παθολογίας κ . Ειρήνη Ρηγοπούλου και τον Καθηγητή Εργαστηριακής Ανοσολογίας κ . Αναστάσιο Γερμενή για τις χρήσιμες παρατηρήσεις τους κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων κ. Δημήτριο Μπόγδανο για την καθοδήγησή του στο σχεδιασμό και την εκτέλεση των πειραμάτων και τις πολύτιμες συμβουλές του κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Είμαι ιδιαίτερος ευγνώμων στην Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας κ . Καλλιόπη Ζάχου για την πολύτιμη βοήθειά της κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων και τις παρατηρήσεις της κατά τη συγγραφή της εργασίας.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους ιατρούς κ.κ. Χρήστο Λιάσκο και Ηλία Σπύρου καθώς και την παρασκευάστρια του Ερευνητικού Εργαστηρίου Παθολογίας του Π.Θ κ. Ελένη Εξάρχου για τη βοήθεια τους κατά την εκτέλεση των πειραμάτων. Ευχαριστώ ακόμη τον Επίκουρο Καθηγητή Παθολογίας κ . Νικόλαο Γατσέλη και όλους τους ιατρούς της Παθολογικής Κλινικής του Π.Θ, που βοήθησαν στη συλλογή των δειγμάτων. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παθολογίας του ΕΚΠΑ κ.Μενέλαο Μανουσάκη και τον Καθηγητή Ανοσολογίας του Παν/μιου της Βρετάνης Yves Renaudineau για τη ν παραχώρηση δειγμάτων ασθενών με σύνδρομο Sjögren.

Τέλος, ευχαριστώ την οικογένεια μου, τους γονείς μου, τον σύζυγό μου και τα παιδιά μου για την αμέριστη υποστήριξη και την πλήρη κατανόηση που επέδειξαν σε όλο το διάστημα της εκπόνησης της διατριβής.

Στέλλα Γκαμπέτα

*Η στερνή, η πιο ιερή μορφή της θεωρίας
είναι η πράξη.
Ν.Καζαντζάκης*

Στον Βασίλη

Στον Γιώργο και στον Τηλέμαχο

ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ

ALP	αλκαλική φωσφατάση
ALT	αλανινική αμινοτρανσφεράση
AMA	αντιμιτοχονδριακά αντισώματα
ANA	αντιπυρηνικά αντισώματα
ANCA	αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων
anti-LC	αντισώματα έναντι κυτοσολίων ήπατος
anti-LKM	αντισώματα έναντι μικροσωμίων ήπατος-νεφρού
anti-LM	αντισώματα έναντι μικροσολίων ήπατος
anti-SLA/LP	αντισώματα έναντι του διαλυτού αντιγόνου ήπατος/ ήπατος-παγκρέατος
APCs	αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα
APECED	σύνδρομο αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας, καντινίασης και εξωδερματικής δυστροφίας
ASGPR	υποδοχέας ασιαλογλυκοπρωτεΐνης
AST	ασπαρτική αμινοτρανσφεράση
BCR	υποδοχέας των B-λεμφοκυττάρων
CD	σύμπλεγμα διαφοροποίησης
CMV	κυτταρομεγαλοϊός
CR	πλήρης ανταπόκριση
CTLA-4	κυτταροτοξικό λεμφοκυτταρικό αντιγόνο 4
CYP	κυτόχρωμα
DC	δενδριτικά κύτταρα
EBV	ιός Epstein-Barr
ELISA	ανοσοπροσοφητική μέθοδος στερεάς φάσης
ERCP	ενδοσκοπική χολαγγειοπαγκρεατογραφία
GWAS	μελέτη σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος
HBV	ιός της ηπατίτιδας B
HCV	ιός της ηπατίτιδας C
HLA	ανθρώπινο λευκοκυτταρικό αντιγόνο
HSV	ιός του απλού έρπητα
IAIHG	διεθνής ομάδα μελέτης της αυτοανόσου ηπατίτιδας
IFN	ιντερφερόνη

IgA	ανοσοσφαιρίνη τάξης A
IgG	ανοσοσφαιρίνη τάξης G
IgM	ανοσοσφαιρίνη τάξης M
IIF	έμμεσος ανοσοφθορισμός
IL	ιντερλευκίνη
MHC	μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας
MRCP	μαγνητική παλίνδρομη χολαγγειοπαγκρεατογραφία
NK	κύτταρα φυσικοί φονείς
NKT	φυσικοί φονείς T-λεμφοκύτταρα
PDC	πυρροβική δευδρογενάση
PR	μερική ανταπόκριση
pSS	πρωτοπαθές σύνδρομο Sjogren
PT	χρόνος προθρομβίνης
RF	ρευματοειδής παράγοντας
RNP	ριβονουκλεοπρωτίνη
RR	αρχική ανταπόκριση- μετέπειτα υποτροπή
SMA	αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών
SS	σύνδρομο Sjogren
sSS	δευτεροπαθές σύνδρομο Sjogren
Tc	T- κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα
TCR	υποδοχέας των T-λεμφοκυττάρων
TGF	μετασχηματικός αυξητικός παράγοντας
Th	T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα
TLRs	υποδοχείς τύπου Toll
TNF	παράγοντας νέκρωσης των όγκων
Tregs	T-ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα
UC	ελκώδης κολίτιδα
ULN	ανώτερο φυσιολογικό όριο
αα	αμινοξέα
γGT	γ-γλουταμινική τρανσφεράση
ΙΦΕΝ	ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες
ΠΣΧ	πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα
ΠΧΧ	πρωτοπαθής χολική χολαγγειίτιδα
ΣΕΛ	συστηματικός ερυθματώδης λύκος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ	4
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	20
1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ	21
1.1 Ανοσιακή απόκριση	21
1.2 Ανοχή- αυτοανοσία.....	28
1.3 Επίτοποι	34
1.4 Αυτοάνοσα νοσήματα.....	38
2 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΑΗ).....	39
2.1 Εισαγωγή- γενικά στοιχεία.....	39
2.2 Ιστορική αναδρομή	42
2.3 Επιδημιολογία	43
2.4 Αιτιοπαθογένεια	47
2.4.1 Γενετική βάση.....	47
2.4.2 Μοριακή μίμηση	51
2.4.3 Διαταραχές της ανοσιακής απόκρισης	53
2.4.4 Χυμική ανοσία	56
2.4.5 Πειραματικά μοντέλα αυτοάνοσης ηπατίτιδας.....	57
2.5 Κλινική εικόνα	59
2.6 Φυσική ιστορία.....	63
2.7 Αυτοάνοση ηπατίτιδα σε ειδικές καταστάσεις.....	64
2.7.1 Εγκυμοσύνη	64
2.7.2 Ηλικιωμένοι	65
2.7.3 Μεταμόσχευση ήπατος	66
2.7.4 Φάρμακα-Λοιμώξεις.....	67
2.8 Εργαστηριακά ευρήματα	68
2.9 Αυτοαντιγόνα και αυτοαντισώματα στην ΑΗ-1	70
2.9.1 Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)	70
2.9.2 Αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών (SMA).....	71
2.9.3 Αντισώματα έναντι διαλυτού αντιγόνου ήπατος-παγκρέατος (anti-SLA/LP).....	73
2.9.4 Αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA)	73
2.10 Αυτοαντιγόνα και αυτοαντισώματα στην ΑΗ-2	74
2.10.1 Αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος- νεφρού τύπου 1 (anti-LKM1)	74
2.10.2 Αντισώματα κατά κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (anti-LC1)	77
2.11 Σύνδρομο αυτοάνοσης ενδοκρινοπάθειας, καντιντίασης και εξωδερματικής δυστροφίας (APECED).....	78
2.12 Προβλήματα στην ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων.....	79
2.13 Άλλα αυτοαντισώματα	80
2.14 Ιστολογική εικόνα.....	82
2.15 Εναλλακτικές μορφές ΑΗ.....	86
2.15.1 Εναλλακτική μορφή ΑΗ και ΠΧΧ.....	86

2.15.2	Εναλλακτική μορφή ΑΗ και ΠΣΧ	87
2.15.3	IgG-4 σχετιζόμενη ΑΗ	88
2.16	Διάγνωση της ΑΗ	89
2.17	Θεραπεία ΑΗ.....	94
2.17.1	Κλασικά θεραπευτικά σχήματα	95
2.17.2	Παρενέργειες.....	96
2.17.3	Νεότερα σχήματα	97
3	Άλλα αυτοάνοσα ηπατικά νοσήματα.....	101
3.1	Πρωτοπαθής Χολική Χολαγγειίτιδα (ΠΧΧ)	101
3.2	Πρωτοπαθής Σκληρυντική Χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ)	104
4	ΣΥΝΔΡΟΜΟ SJÖGREN (SS)	107
4.1	Εισαγωγή- γενικά στοιχεία.....	107
4.2	Ιστορική αναδρομή	108
4.3	Επιδημιολογία.....	109
4.4	Αιτιοπαθογένεια	111
4.4.1	Γενετικοί παράγοντες	111
4.4.2	Περιβαλλοντικοί και ορμονικοί παράγοντες.....	112
4.4.3	Διαταραχή της ανοσιακής απόκρισης	113
4.5	Κλινική εικόνα	115
4.6	Εργαστηριακά ευρήματα- Αυτοαντισώματα.....	119
4.7	Διάγνωση.....	122
4.8	Θεραπεία.....	125
5	Anti-SLA/LP και anti-Ro52	127
5.1	anti-SLA/LP.....	127
5.2	anti-Ro52.....	130
5.3	Δομή και λειτουργία του Ro52	131
5.4	Αντιγονικοί επίτοποι του Ro52.....	135
5.5	Συνύπαρξη anti-SLA/LP και anti-Ro52 αντισωμάτων.	138
	<i>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</i>	140
6	ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΚΟΠΟΣ	141
7	ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	143
7.1	Ασθενείς.....	143
7.2	Μέθοδοι	148
7.2.1	Προσδιορισμός των αυτοαντισωμάτων.....	149
7.2.2	Χαρτογράφηση των επιτόπων του Ro52	157
7.3	Στατιστική επεξεργασία.....	164
8	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	165
8.1	Αντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP.	165
8.2	Κλινική σημασία των anti-SLA/LP αυτοαντισωμάτων.	166
8.2.1	Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών	166
8.2.2	Ανταπόκριση στη θεραπεία των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών	170

8.2.3	Έκβαση των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών.....	173
8.3	Αντιδραστικότητα έναντι του Ro52	174
8.4	Κλινική σημασία των anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων	174
8.4.1	Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών.....	175
8.4.2	Ανταπόκριση στη θεραπεία των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών	179
8.4.3	Έκβαση των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών	181
8.5	Συνδυασμένη αντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP και του Ro52.	183
8.6	Κλινική σημασία της συνδυασμένης αντιδραστικότητας έναντι SLA/LP και Ro52.	184
8.6.1	Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων	187
8.6.2	Ανταπόκριση στη θεραπεία αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων.....	188
8.6.3	Έκβαση των ασθενών αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων.....	189
8.7	Αντιγονικοί επίτοποι της πρωτεΐνης Ro52.	191
8.8	Σύγκριση των επιτόπων του Ro52 με αυτούς τους SLA/LP	205
9	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	207
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	216
	ΠΕΡΙΛΗΨΗ	260
	SUMMARY.....	263

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

1.1 Ανοσιακή απόκριση

Ο όρος «**ανοσία**» περιλαμβάνει το σύνολο των μηχανισμών που χρησιμοποιεί ο ανθρώπινος οργανισμός, προκειμένου να προστατευτεί από εξωτερικούς παράγοντες, όπως μικρόβια, ιοί, παράσιτα, μύκητες καθώς επίσης τα προϊόντα τους. Διακρίνεται σε δύο σκέλη τη φυσική (έμφυτη) και την επίκτητη, που επικοινωνούν και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με μοριακά και βιοχημικά μονοπάτια (1-4).

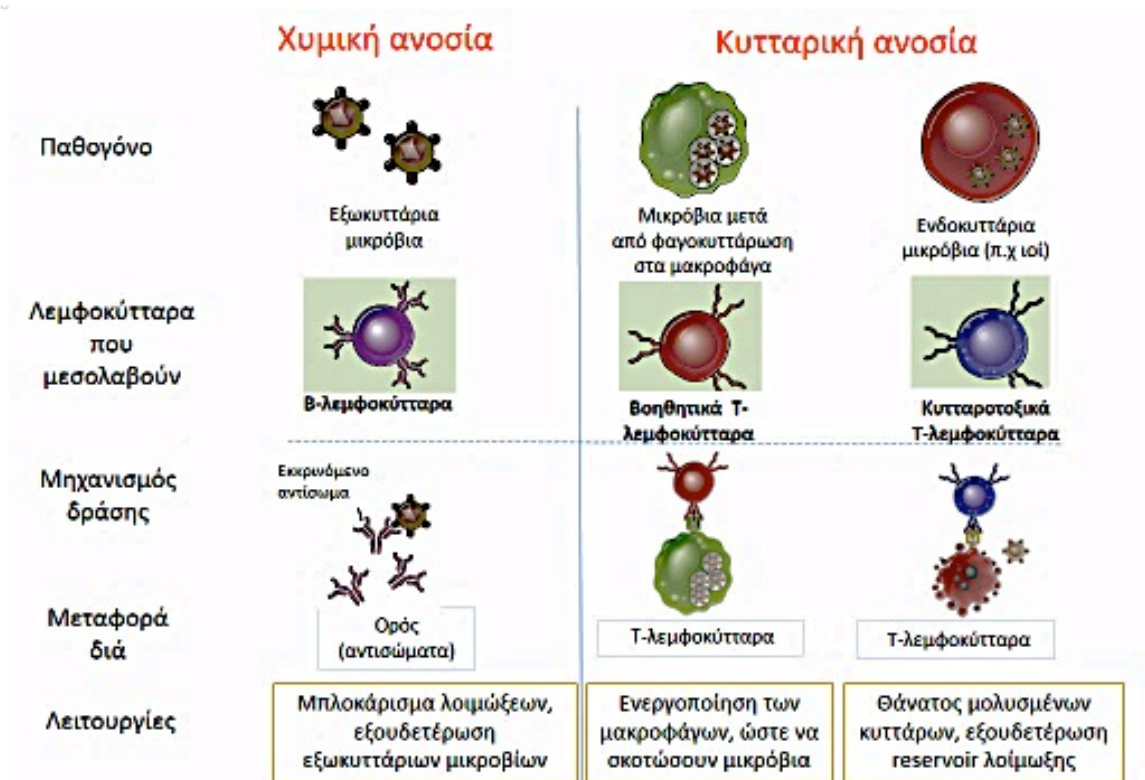
Η **φυσική ανοσία** (innate immunity) είναι παρούσα από τη γέννηση, συνιστά την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των παθογόνων και δεν προϋποθέτει προηγούμενη έκθεση σε αυτά (5). Περιλαμβάνει μη ειδικούς φυσικούς και χημικούς φραγμούς, όπως το δέρμα και τα επιθήλια, κυτταρικά και διαλυτά στοιχεία. Στα κύτταρα της φυσικής ανοσίας ανήκουν τα φαγοκύτταρα (ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα/μακροφάγα), ηωσινόφιλα, βασεόφιλα, μαστοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα- DC και τα κύτταρα φυσικοί φονείς (Natural Killer cells- NK). Ακόμη συμμετέχουν πρωτεΐνες του αίματος, όπως το σύστημα του συμπληρώματος, υποδοχείς αναγνώρισης μοριακών προτύπων (Pattern recognition receptors-PRRs), μεταξύ των οποίων οι υποδοχείς τύπου Toll (Toll-like receptors-TLRs) και διάφορες κυτταροκίνες. Η φυσική ανοσία αφορά κυρίως στην προστασία από μικρόβια και εκδηλώνεται άμεσα μετά την είσοδο του εισβολέα στον οργανισμό, ενώ στερείται ειδικότητας και μνήμης (6).

Η **επίκτητη ή ειδική ανοσία** (adaptive immunity) είναι εξελικτικά ανώτερη και εκδηλώνεται πιο όψιμα μετά την είσοδο του παθογόνου. Χαρακτηρίζεται από εξαιρετική ειδικότητα έναντι μικροβιακών ή μη παραγόντων και την παρουσία ανοσολογικής μνήμης. Η τελευταία ιδιότητα έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη αμυντική ικανότητα σε μελλοντική επαφή του οργανισμού με τα ίδια παθογόνα. Κάθε μόριο, το οποίο δυνητικά μπορεί να προκαλέσει την εκδήλωση ειδικής ανοσιακής απάντησης καλείται *αντιγόνο*. Η ειδική ανοσολογική απόκριση περιλαμβάνει την αρχική φάση της αναγνώρισης του αντιγόνου, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λεμφοκυτταρικών κλώνων, την ενεργοποίηση ανοσοδραστικών μηχανισμών και την καταστροφή του αντιγόνου μέσω παραγωγής αντισωμάτων ή ενεργοποίησης κατάλληλων κυττάρων.

Κύριο ρόλο στην επίκτητη ανοσία διαδραματίζουν τα Β - και Τ - λεμφοκύτταρα (7), ενώ συμμετέχουν επίσης τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (Antigen-presenting cells-APCs). Βασικά στοιχεία της αποτελούν οι υποδοχείς των Β- και Τ-λεμφοκυττάρων (B cell antigen receptors-BCR και T cell antigen receptors-TCR αντίστοιχα) καθώς και τα αντισώματα. Χαρακτηριστικά της είναι η προσαρμοστικότητα, η ποικιλομορφία-ετερογένεια και η ικανότητα διάκρισης του ίδιου από το μη ίδιο. Αναλόγως δε των κυττάρων που ενεργοποιούνται και της ικανότητάς τους να αναγνωρίζουν διαφορετικούς τύπους αντιγόνων, διακρίνεται σε δύο επιμέρους κατηγορίες, τη χυμική και την κυτταρική (εικόνα 1).

Η **χυμική ανοσία** (humoral immunity) αφορά στην ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων και την παραγωγή από αυτά αντισωμάτων και αποτελεί τον

κύριο μηχανισμό άμυνας έναντι εξωκυττάριων μικροβίων και των τοξινών τους. Τα Β-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν τα αντιγόνα, συμπεριλαμβανομένων των επιφανειακών και παράγουν αντισώματα που συνδέονται στα προαναφερθέντα μικρόβια ή τοξίνες, τα οποία και τελικά καταστρέφουν.



Εικόνα 1. Τύποι της επίκτητης ανοσίας. Στη χυμική, τα Β-λεμφοκύτταρα εκκρίνουν αντισώματα, περιορίζοντας τη λοίμωξη από εξωκυττάρια μικρόβια. Στην κυτταρική ανοσία, τα βοηθητικά Τ-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούν τα μακροφάγα να σκοτώσουν τα μικρόβια που έχουν φαγοκυτταρώσει ή τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα καταστρέφουν απευθείας τα μολυσμένα κύτταρα. [Από το: Abbas, Lichtman & Pillai, Cellular and Molecular Immunology, 8th edition, 2014, σελ 4, (2)].

Πιο αναλυτικά, η ωρίμανση των Β-λεμφοκυττάρων συντελείται στο μυελό των οστών και στη μεμβράνη τους φέρουν ένα μοναδικό υποδοχέα (BCR) για τη δέσμευση του αντιγόνου, συνηθέστερα ένα μεμβρανικό μόριο αντισώματος.

Τα αντισώματα είναι γλυκοπρωτεΐνες, αποτελούμενες από δύο πανομοιότυπες ελαφρές και δύο βαριές αλυσίδες που συγκρατούνται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η επαφή του κατάλληλου αντιγόνου με το μεμβρανικό αντίσωμα έχει ως αποτέλεσμα τη δέσμευσή του και τον γρήγορο πολλαπλασιασμό του κυττάρου. Το προγονικό Β-κύτταρο διαφοροποιείται σε Β-κύτταρα μνήμης ή δραστικά Β-κύτταρα, δηλαδή πλασματοκύτταρα. Τα μεν Β-κύτταρα μνήμης ζουν περισσότερο και εκφράζουν το ίδιο συνδεδεμένο με τη μεμβράνη αντίσωμα. Τα πλασματοκύτταρα έχουν βραχύτερη διάρκεια ζωής, αλλά μπορούν να εκκρίνουν σε μεγάλες ποσότητες αντισώματα (8, 9).

Κύριοι πρωταγωνιστές της **κυτταρικής ανοσίας** (cell-mediated immunity) είναι τα Τ-λεμφοκύτταρα (10). Ενδοκυττάρια παθογόνα, όπως ιοί και ορισμένα βακτήρια επιβιώνουν εντός των φαγοκυττάρων ή άλλων κυττάρων του ξενιστή και συνεπώς τα κυκλοφορούντα αντισώματα δεν έχουν πρόσβαση σε αυτά. Τα Τ-λεμφοκύτταρα δεν παράγουν αντισώματα, αλλά αναγνωρίζουν αντιγόνα των ενδοκυττάρων μικροβίων με σκοπό την καταστροφή είτε των μικροβίων εντός των μακροφάγων ή των μολυσμένων κυττάρων.

Τα Τ-λεμφοκύτταρα προέρχονται επίσης από τον μυελό των οστών, αλλά ωριμάζουν στο θύμο. Τα ώριμα Τ-λεμφοκύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους τον αντίστοιχο υποδοχέα (TCR) για τη σύνδεση με τα αντιγόνα (11). Ωστόσο, ο TCR διαφέρει από τον αντίστοιχο υποδοχέα των Β-λεμφοκυττάρων. Αφενός μεν είναι συνδεδεμένος στην κυτταρική μεμβράνη και

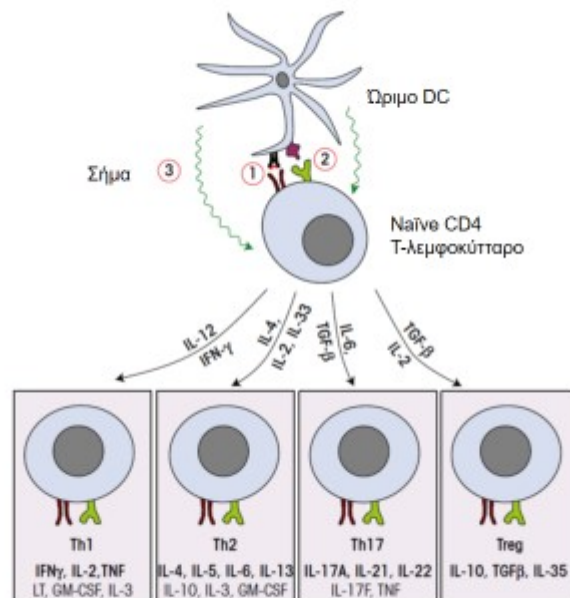
συνεπώς μη διαλυτός και αφετέρου η σύνδεσή του με το αντιγόνο απαιτεί την παρουσία μορίων του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (Major histocompatibility complex-MHC). Επιπλέον, είναι γνωστό ότι πρόκειται για διαμεμβρανικό μόριο, ετεροδιμερές, αποτελούμενο συνήθεστερα από α/β αλυσίδες ή γ/δ αλυσίδες.

Τα Τ-λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε Τ-βοηθητικά (Helper T cells- T_H) και Τ-κυτταροτοξικά (Cytotoxic T cells- T_C), που εκφράζουν αντίστοιχα τις CD4 και CD8 μεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες (Clusters of differentiation-CD) στην επιφάνειά τους. Η παρουσίαση των αντιγόνων στα Τ-λεμφοκύτταρα γίνεται μέσω μορίων του MHC. Η αναγνώριση ενός συμπλόκου αντιγόνου-MHC τάξης II μορίου από το T_H κύτταρο οδηγεί στην ενεργοποίησή του και έκκριση κυτταροκινών. Οι τελευταίες είναι σημαντικές για την ενεργοποίηση των Β-λεμφοκυττάρων, των T_C , των μακροφάγων, καθώς και άλλων κυττάρων που συμμετέχουν στην ανοσολογική απόκριση (12-14).

Η έκκριση κυτταροκινών καθορίζει διαφορετικούς τύπους ανοσολογικής απόκρισης των T_H κυττάρων (εικόνα 2) (15). Στην $Th1$ απόκριση εκκρίνονται πρωτίστως IL-2 και IFN- γ και ευνοείται η μεσολαβούμενη από κύτταρα (μακροφάγα και κυτταροτοξικά κύτταρα) απάντηση κυρίως έναντι ενδοκυττάρων παθογόνων και ιών (1). Στην $Th2$, εκκρίνονται κυρίως οι IL-4, -5, -6 και -10, αναστέλλεται η $Th1$ απάντηση, ευνοείται η χυμική ανοσία, με παραγωγή αντισωμάτων και κατ' επέκταση η άμυνα έναντι εξωκυττάρων παθογόνων. Η $Th17$ απόκριση όπου εκκρίνονται κυρίως IL-17, IL-21 και IL-22 αφορά τόσο στην άμυνα έναντι εξωκυττάρων παθογόνων όσο και απέναντι σε μυκητιασικές λοιμώξεις. Μια άλλη υποομάδα T_H κυττάρων είναι τα Τ-

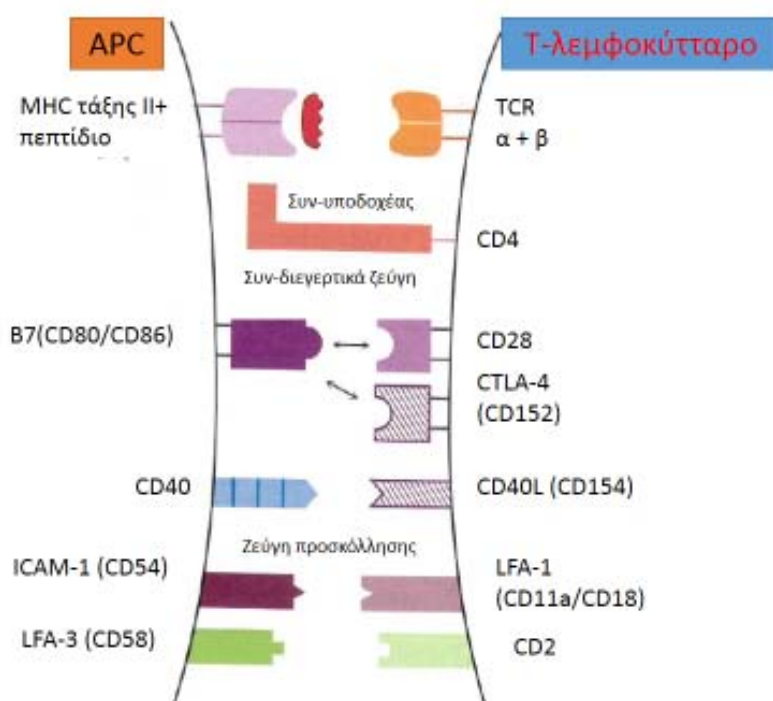
ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Tregs) που αποτελούν ρυθμιστές της ανοσολογικής απάντησης (παράγραφος 1.2).

Η αναγνώριση ενός συμπλόκου αντιγόνου-MHC μορίου από το Tc κύτταρο, οδηγεί στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή του σε δραστικό κυτταροτοξικό T-λεμφοκύτταρο (CTL). Τα τελευταία δεν εκκρίνουν κυτταροκίνες, αλλά έχουν κυτταροτοξική δράση, περιορίζοντας τη μόλυνση από ιούς και καρκινικά κύτταρα, ενώ έχει αναγνωριστεί πιθανή συμμετοχή τους σε περιπτώσεις απόρριψης του μοσχεύματος.



Εικόνα 2: Διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων. Τα naïve T_H-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται και διαφοροποιούνται σε διακριτές υποομάδες. Οι κυτταροκίνες που παράγονται από τα DC (σήμα 1, 2) ή άλλα κύτταρα της φυσικής ανοσίας (σήμα 3) κατευθύνουν την περαιτέρω διαφοροποίηση των T-λεμφοκυττάρων. [Από το Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM, Roitt's Essential Immunology, 12th edition, 2011, σελ 239, (1)].

Τα APCs είναι εξειδικευμένα για την παρουσίαση του αντιγόνου στα λεμφοκύτταρα (16). Πρόκειται για μακροφάγα ή DC, που χαρακτηριστικά εκφράζουν μόρια MHC τάξης II στη μεμβράνη τους ή παράγουν ένα συν-διεγερτικό σήμα (ICAM-1-LFA-1, CD80/CD86-CD28, LFA-3- CD2) απαραίτητο για την ενεργοποίηση των T_H - κυττάρων (εικόνα 3).



Εικόνα 3: Αλληλεπιδράσεις στην επιφάνεια των APCs και των T-λεμφοκυττάρων οδηγούν στην ενεργοποίησή τους, την παραγωγή κυτταροκινών και τον πολλαπλασιασμό τους. [Από το Coico R, Sunshine G, Immunology, 6th edition, 2009, σελ 143, (15)].

Συνοπτικά, η επίκτητη ανοσία χρησιμοποιεί τους ακόλουθους τρεις βασικούς μηχανισμούς για την εξουδετέρωση των μικροβίων:

- Τα εκκρινόμενα αντισώματα συνδέονται σε εξωκυττάρια μικρόβια, μπλοκάρουν τη μόλυνση και άλλων κυττάρων του ξενιστή, προάγουν τη φαγοκυττάρωση και την καταστροφή τους.
- Τα φαγοκύτταρα ενσωματώνουν τα μικρόβια και στη συνέχεια τα σκοτώνουν με τη βοήθεια των T-λεμφοκυττάρων.
- Τα CTL καταστρέφουν τα μικρόβια που είναι απροσπέλαστα στα αντισώματα.

Η εξαιρετική ειδικότητα και ποικιλομορφία τόσο των BCR όσο και των TCR είναι αποτέλεσμα του τυχαίου συνδυασμού πολλών γονιδίων, υπεύθυνων για την κωδικοποίηση των θέσεων δέσμευσης του αντιγόνου. Θεωρητικά, θα μπορούσαν να δημιουργηθούν περισσότεροι από 10^{15} πιθανοί συνδυασμοί υποδοχέων για διάφορα αντιγόνα, μεταξύ των οποίων και ορισμένα αυτοαντιγόνα (self-antigens). Τα αντίστοιχα T -λεμφοκύτταρα καλούνται αυτοαντιδραστικά (auto-reactive).

1.2 Ανοχή- αυτοανοσία

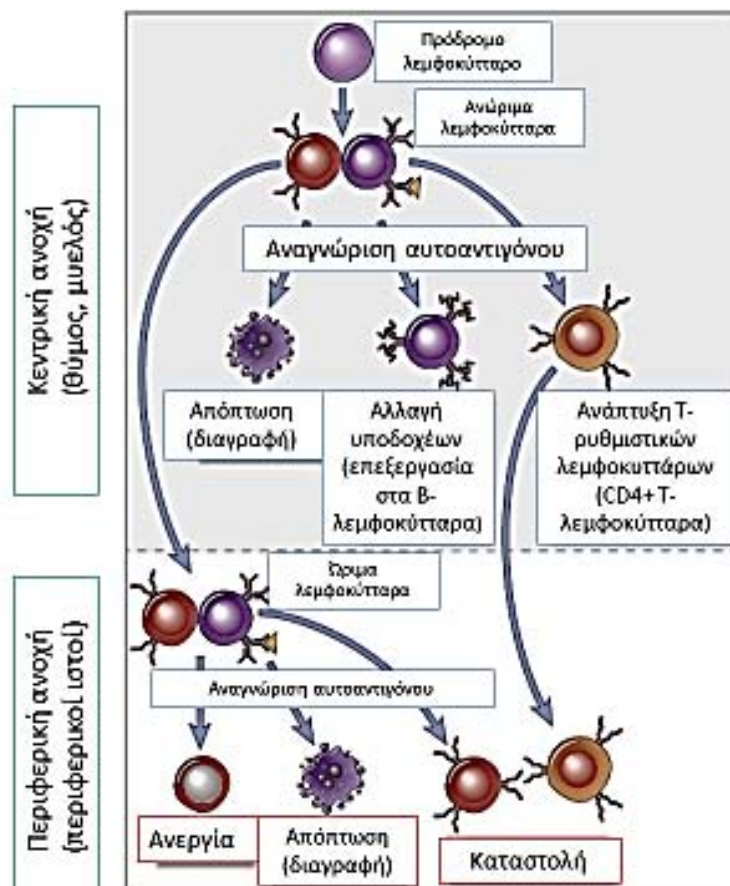
Ανοσολογική **ανοχή** καλείται η ικανότητα του οργανισμού να περιορίζει τη δράση των αυτοαντιδραστικών κυττάρων και η απουσία απόκρισης έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων ή ομάδων αυτών. Φυσιολογικά ο οργανισμός μπορεί να διακρίνει τα «ίδια» από τα ξένα αντιγόνα, κάτι που αποτελεί σημαντικό γνώρισμα της ανοχής (self-tolerance). Η απώλειά της έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση **αυτοανοσίας**, δηλαδή ανοσολογικής απόκρισης έναντι των «ιδίων» στοιχείων του οργανισμού και κατ' επέκταση **αυτοάνοσων νοσημάτων** (17).

Η ανοσολογική ανοχή επιτυγχάνεται όταν λειτουργούν επιτυχώς και συνεργικά ορισμένοι μηχανισμοί (πίνακας 1), με στόχο την προστασία έναντι των «ίδιων» αντιγόνων, χωρίς όμως να παρεμποδίζεται η δράση έναντι των παθογόνων (18). Διακρίνεται σε κεντρική και περιφερική, αναλόγως του επιπέδου στο οποίο παρατηρείται. Η κεντρική ανοχή αφορά σε μηχανισμούς που περιορίζουν τη δράση αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων στο θύμο ή το μυελό των οστών. Ωριμα αυτοαντιδραστικά λεμφοκύτταρα που δεν περιορίζονται κεντρικά, μπορεί να εξοντώνονται ή να απενεργοποιούνται στην περιφέρεια (εικόνα 4).

Πίνακας 1. Επίπεδα ανοσοανοχής ⁽¹⁷⁾

Είδος ανοχής	Μηχανισμός	Θέση
Κεντρική ανοχή	Διαγραφή Επεξεργασία	Θύμος Μυελός των οστών
Περιορισμός του αντιγόνου	Φυσικοί φραγμοί στην πρόσβαση των αυτοαντιγόνων στα λεμφικά όργανα	Περιφερικά όργανα (π.χ θυρεοειδής, πάγκρεας)
Περιφερική ανεργία	Απενεργοποίηση κυττάρων με ασθενή σηματοδότηση και χωρίς συν-διέγερση	Δευτερογενής λεμφικός ιστός
Ρυθμιστικά κύτταρα	Καταστολή μέσω κυτταροκινών και ενδοκυττάριας σηματοδότησης	Δευτερογενής λεμφικός ιστός και θέσεις φλεγμονής
Λειτουργική απόκλιση	Διαφοροποίηση σε Treg, περιορισμός της έκκρισης φλεγμονωδών κυτταροκινών	Δευτερογενής λεμφικός ιστός και θέσεις φλεγμονής
Κυτταρικός θάνατος επαγόμενος από την ενεργοποίηση κυττάρων	Απόπτωση	Δευτερογενής λεμφικός ιστός και θέσεις φλεγμονής

Όσον αφορά τα T-λεμφοκύτταρα, τα CD4+ φαίνεται να ρυθμίζουν αποτελεσματικά τόσο την κυτταρική όσο και τη χυμική ανοσιακή απόκριση έναντι πρωτεϊνικών αντιγόνων, προάγοντας την ανοσολογική ανοχή, όπως επιβεβαιώνεται σε πειραματικά μοντέλα. Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσής τους στο θύμο (κεντρικά), πολλά ανώριμα T-λεμφοκύτταρα που συνδέονται ισχυρά



Εικόνα 4: Κεντρική και περιφερική ανοχή σε αυτοαντιγόνα. Ανώριμα λεμφοκύτταρα που αναγνωρίζουν τα αυτοαντιγόνα στο επίπεδο των λεμφικών οργάνων υφίστανται διαγραφή (απόπτωση), αλλαγή της ειδικότητας του υποδοχέα ή εξελίσσονται σε ρυθμιστικά κύτταρα (κεντρική ανοχή). Περιφερική ανοχή: ώριμα αυτοαντιδραστικά λεμφοκύτταρα μπορεί να καταστούν ανενεργά, να διαγραφούν ή να κατασταλούν από τα ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα. [Από το: Abbas, Lichtman & Pillai, Cellular and Molecular Immunology, 8th edition, 2014, σελ 316, (2)].

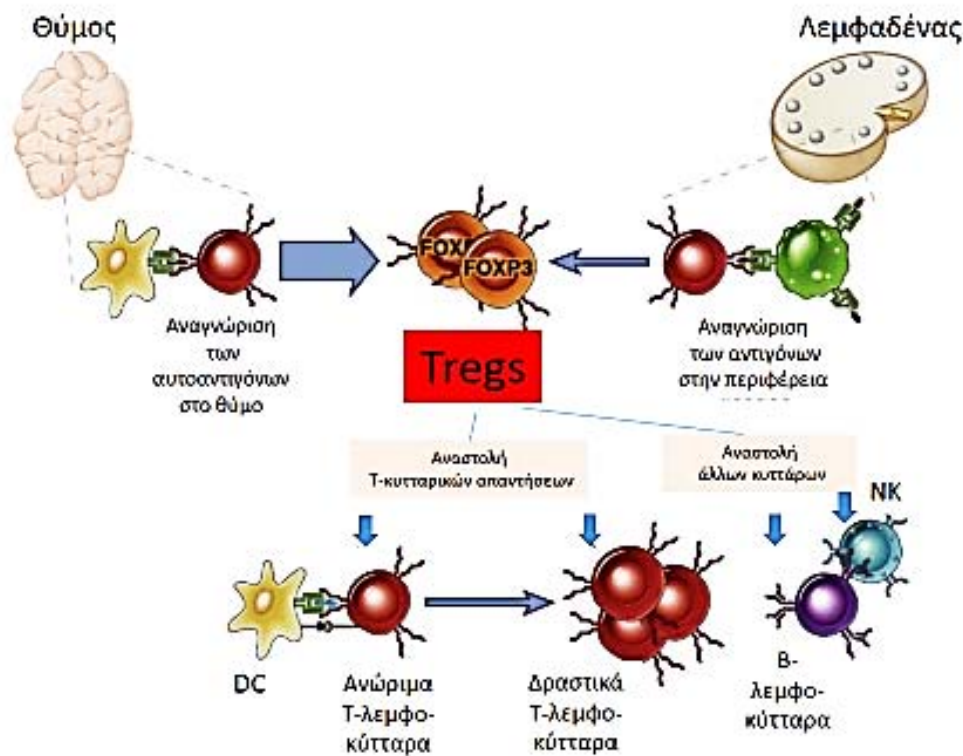
με τα αυτοαντιγόνα υφίστανται αρνητική επιλογή (negative selection) και αποπίπτουν ή διαφοροποιούνται σε Tregs (19). Οι μηχανισμοί περιφερικής ανοχής περιλαμβάνουν την ανεργία (κατάσταση λειτουργικής έλλειψης αντιδραστικότητας), την καταστολή από τα Tregs και τη διαγραφή (απόπτωση- κυτταρικό θάνατο) (20).

Τα Tregs, που στην επιφάνειά τους εκφράζουν τα CD4, CD25 και FOXP3 μόρια (21), φαίνεται ότι συμβάλλουν στη διατήρηση της ανοσολογικής ανοχής, την καταστολή της αυτοάνοσης απόκρισης και τελικά στην ομοιόσταση (22-28). Θεωρείται ότι καταστέλλουν τις ανοσολογικές απαντήσεις σε πολλαπλά επίπεδα, τόσο κατά την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων στα λεμφικά όργανα όσο και στη δραστική τους φάση στους ιστούς. Ταυτόχρονα εμποδίζουν την ενεργοποίηση των B-λεμφοκυττάρων, καθώς επίσης τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των NK (εικόνα 5).

Στην πλειοψηφία τους τα παραπάνω CD4+ T-λεμφοκύτταρα εκφράζουν υψηλά επίπεδα της α-αλύσου (CD25) του υποδοχέα της IL-2. Απαραίτητος για την ανάπτυξή τους είναι επίσης ο μεταγραφικός παράγοντας FOXP3 (Forkhead Box P3). Έχει δειχθεί σε ποντίκια ότι μεταλλάξεις του γονιδίου του προκαλούν την απουσία CD25+ Tregs και ανάπτυξη πολυσυστηματικής αυτοανοσίας (29).

Αντίστοιχα, στον άνθρωπο, μεταλλαγές του γονιδίου FOXP3 σχετίζονται με την εμφάνιση του συνδρόμου IPEX (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (30). Πρόκειται για σπάνια διαταραχή του ανοσοποιητικού συστήματος με ενδοκρινοπάθεια (διαβήτη και θυρεοειδίτιδα), φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και δερματίτιδα-έκζεμα.

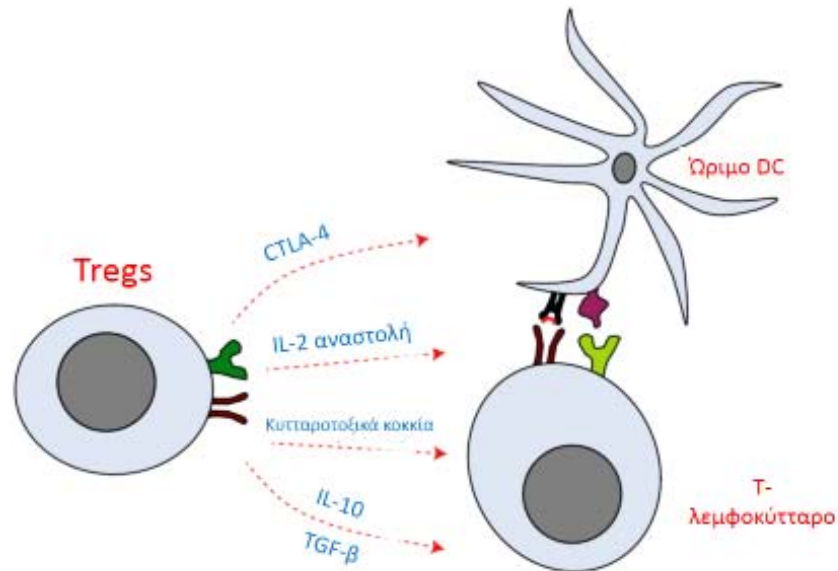
Συνηθέστερα το σύνδρομο εκδηλώνεται στη νεογνική ηλικία, με υπολειπόμενη ανάπτυξη, εμφάνιση κυτταροπενιών, σοβαρών τροφικών αλλεργιών, νεφρίτιδας και υπέρμετρης αντίδρασης στις λοιμώξεις (31).



Εικόνα 5: Ενεργοποίηση και δράση των Tregs. Η αναγνώριση των αυτοαντιγόνων στο θύμο ή και στα περιφερικά λεμφικά όργανα προάγει τα Tregs, η ανάπτυξη και επιβίωση των οποίων εξαρτώνται από την IL-2 και τον παράγοντα FOXP3. Στην περιφέρεια τα Tregs καταστέλλουν την ενεργοποίηση και τη δράση άλλων κυττάρων. [Από το: Abbas, Lichtman & Pillai, Cellular and Molecular Immunology, 8th edition, 2014, σελ 322, (2)].

Συνοπτικά, η δράση των Tregs στα σημεία της φλεγμονής επιτελείται μέσω άμεσης κυτταρικής επαφής, που οδηγεί στην καταστροφή κυτταροτοξικών κυττάρων, αναστολής παραγωγής κυτταροκινών όπως η IL-2 από τα κυτταροτοξικά κύτταρα ή και μέσω απευθείας έκκρισης μεσολαβητών

της φλεγμονής όπως είναι ο μετασχηματικός αυξητικός παράγοντας-β (Transforming growth factor β-TGF-β) και η IL-10 (εικόνα 6).



Εικόνα 6: Μηχανισμοί καταστολής μεσολαβούμενοι από τα Tregs. [Από το Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM, Roitt's Essential Immunology, 12th edition, 2011, σελ 243, (1)].

Η ανοσολογική ανοχή σε επίπεδο B -λεμφοκυττάρων αφορά θυμοανεξάρτητα αυτοαντιγόνα, κυρίως πολυσακχαρίδες και λιπίδια και λιγότερο πρωτεϊνικά αντιγόνα. Η κεντρική ανοχή σχετίζεται με την κλωνική διαγραφή τους, τη λειτουργική απενεργοποίησή τους (ανεργία) ή την επεξεργασία (αλλαγή της ειδικότητας) του υποδοχέα τους. Στους περιφερικούς ιστούς τα ώριμα B -λεμφοκύτταρα που αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα απουσία T_H κυττάρων φαίνεται να καθίστανται ανενεργά ή να υφίστανται αποπτωτικό θάνατο.

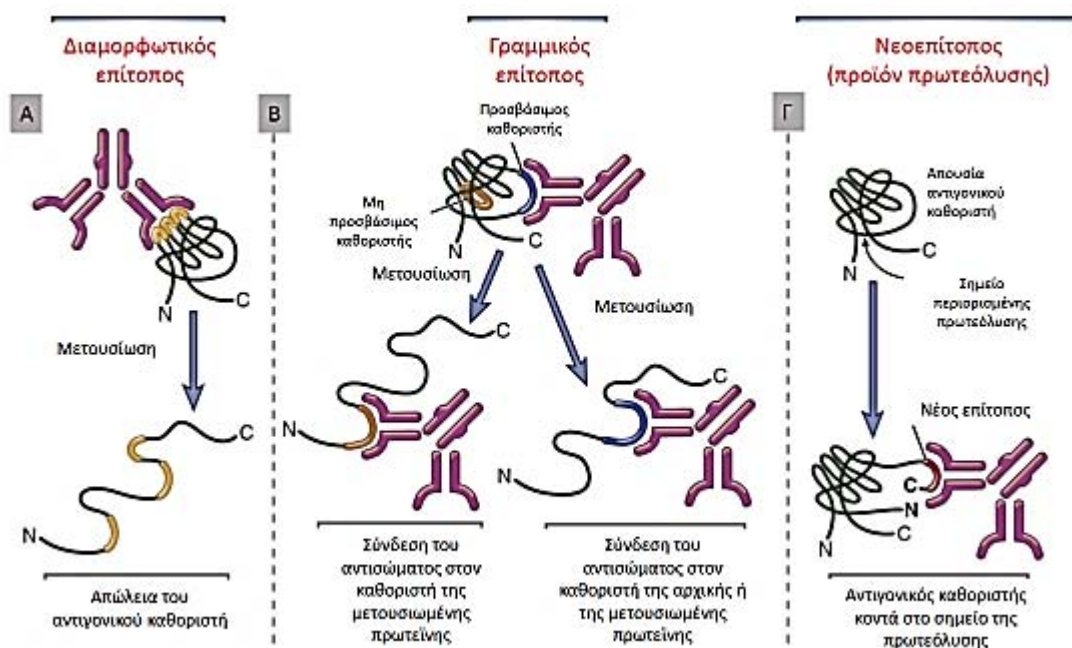
1.3 Επίτοποι

Τα λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν μικρά τμήματα των αντιγόνων, τους **επιτόπους** ή **αντιγονικούς καθοριστές**. Πρόκειται για τις ανοσολογικά ενεργές περιοχές του αντιγόνου που προσδένονται στους ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς των λεμφοκυττάρων ή στα εκκρινόμενα αντισώματα. Οι επίτοποι που αναγνωρίζονται από τα Β-λεμφοκύτταρα συχνά διαφέρουν από εκείνους των Τ-λεμφοκυττάρων. Τα Β-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν τους επιτόπους μόνα τους, ενώ τα Τ-λεμφοκύτταρα κατόπιν παρουσίασης από APCs και σε συνδυασμό με μόρια MHC και συνεπώς εμφανίζουν διαφορετικές ιδιότητες (4).

Συνοπτικά, για τους Β-λεμφοκυτταρικούς επιτόπους, το μέγεθός τους καθορίζεται από τις αντίστοιχες περιοχές σύνδεσης αντιγόνου στα αντισώματα που φέρουν στην επιφάνειά τους. Για τις φυσικές πρωτεΐνες, οι επίτοποι αποτελούνται από υδρόφιλα αμινοξέα στην επιφάνεια των μορίων, με αποτέλεσμα η περιοχή που θα λειτουργήσει ως επίτοπος να εξαρτάται από το πόσο υδρόφιλη είναι και κατά πόσο είναι προσιτή στα αντισώματα (4).

Ακόμη, στις πρωτεΐνες, οι αντιγονικοί επίτοποι μπορεί να αφορούν την πρωτοταγή, δευτεροταγή, τριτοταγή ή και τεταρτοταγή δομή τους. Οι επίτοποι που σχηματίζονται από μια συνεχή σειρά αμινοξέων (πρωτοταγής δομή) ονομάζονται **γραμμικοί**. Αυτοί που διαμορφώνονται αναλόγως της δομής της πρωτεΐνης στο χώρο καλούνται **στερεοτακτικοί** ή **διαμορφωτικοί**. Η μετουσίωση των πρωτεϊνών δεν μεταβάλλει τους γραμμικούς, αλλά καταστρέφει τους διαμορφωτικούς επιτόπους. Αλλαγή στη στερεοδομή της πρωτεΐνης μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία νεοεπιτόπων (εικόνα 7) (32).

Επιπλέον, οι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι τείνουν να εντοπίζονται στις πιο εύκαμπτες περιοχές του αντιγόνου. Από το σύνολο των πιθανών επιτόπων μιας πρωτεΐνης ελάχιστοι τελικά έχουν ικανή ανοσογονική δράση. Είναι δυνατό οι διάφοροι αυτοί επίτοποι να διαφέρουν μεταξύ των διαφόρων ειδών, αλλά και μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους. Οι ισχυρά ανοσογονικοί επίτοποι ενός μορίου ονομάζονται ανοσοεπικρατητικοί ή κυρίαρχοι (immunodominant).



Εικόνα 7: Φύση των αντιγονικών καθοριστών (επιτόπων). Οι επίτοποι (πορτοκαλί, κόκκινο και μπλε χρώμα) εξαρτώνται από την αναδίπλωση της πρωτεΐνης ή την αρχική της δομή. Ορισμένοι εξ αυτών είναι προ βάσιμοι μόνο στην αρχική μορφή της πρωτεΐνης και χάνονται στη μετουσίωση αυτής (Α), κάποιοι είναι προσβάσιμοι και δεν εξαρτώνται από τη μετουσίωση (Β), ενώ ορισμένοι μπορεί να δημιουργηθούν μετά από αλλαγές της δομής (Γ) της πρωτεΐνης. [Από το: Abbas, Lichtman & Pillai, Cellular and Molecular Immunology, 8th edition, 2014, σελ 101, (2)].

Όσον αφορά τις ιδιότητες των T-λεμφοκυτταρικών επιτόπων, ως τέτοιοι αναγνωρίζονται κυρίως ολιγομερή πεπτίδια, μετά τη σύνδεση τους με τον TCR και μόρια MHC. Πρόκειται για αμφίφιλα πεπτίδια με υδρόφιλα και υδρόφοβα αμινοξέα. Σε μεγάλο βαθμό, οι κυρίαρχοι T-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι εξαρτώνται από τα MHC μόρια του οργανισμού.

Η μελέτη των B-λεμφοκυτταρικών επιτόπων είναι χρήσιμη για πολλούς λόγους (33). Καταρχάς η γνώση συγκεκριμένων επιτόπων επιτρέπει στη συνέχεια την ανάπτυξη μεθόδων για την ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων με μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα. Πολλές από τις υπάρχουσες διαγνωστικές τεχνικές στηρίζονται στη χρήση ανασυνδυασμένων ή κεκαθαρμένων ανθρώπινων αυτοαντιγόνων. Κατ' αυτό τον τρόπο αφενός αυξάνεται το κόστος και αφετέρου ελαττώνεται η επαναληψιμότητα τους. Εναλλακτικά, η χρήση συνθετικών πεπτιδικών αναλόγων που αντιστοιχούν σε γνωστούς επιτόπους, επιτρέπει την ανάπτυξη διαγνωστικών τεχνικών χαμηλότερου κόστους και μεγαλύτερης σταθερότητας.

Ακόμη, η μελέτη των B-λεμφοκυτταρικών επιτόπων συμβάλλει στη συσχέτιση της κλινικής εικόνας μιας δεδομένης νόσου με την παρουσία αυτοαντισωμάτων. Η ίδια η φύση του αντιγόνου μπορεί να καθορίζει την αυτοάνοση απόκριση. Έτσι, η γνώση των μοριακών του χαρακτηριστικών μπορεί να καθορίζει την κλινική του σημασία. Η διαφορετική παρουσίαση των αντιγόνων και οι διαφορετικοί επίτοποι μπορεί να αντικατοπτρίζονται στις αποκρίσεις των λεμφοκυττάρων και τελικά στην επαγωγή αυτοαντισωμάτων. Η έρευνα των B-λεμφοκυτταρικών επιτόπων βοηθά επίσης στη μελέτη της δομής των αντιγόνων, που αναγνωρίζονται από τα αντισώματα. Η ίδια η δομή

των αυτοαντιγόνων μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για τη λειτουργία τους. Συνολικά, η μελέτη των επιτόπων μπορεί να συνεισφέρει στην κατανόηση της αυτοανοσίας, των μηχανισμών που τήν πυροδοτούν και της παραγωγής αυτοαντισωμάτων .

Διάφορες μέθοδοι ανίχνευσης των αντιγονικών καθοριστών (χαρτογράφηση των επιτόπων-epitope mapping) έχουν αναπτυχθεί έως σήμερα. Ανεξάρτητα της μεθόδου που χρησιμοποιείται για κάθε αντιγόνο, μπορεί να υπάρχει μεγάλη απόκλιση των αποτελεσμάτων. Μεταξύ των τεχνικών αντιγονικής χαρτογράφησης που έχουν αναπτυχθεί περιλαμβάνονται η χρήση προϊόντων ενζυμικής πέψης, ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών και συνθετικών πεπτιδίων (34). Η χρήση συνθετικών πεπτιδίων για τη χαρτογράφηση των αντιγονικών επιτόπων παρέχει ορισμένα σημαντικά πλεονεκτήματα:

- μπορεί να καθοριστεί με ακρίβεια το μήκος του επιτόπου κι ταυτόχρονα να εκτιμηθεί η συμμετοχή καθενός αμινοξέος ξεχωριστά
- η πεπτιδική σύνθεση είναι μια μέθοδος που μπορεί να ελεγχθεί καλύτερα συγκριτικά με την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών
- τα συνθετικά πεπτίδια είναι σταθερά μόρια που μπορεί με κατάλληλη χημική επεξεργασία να χρησιμοποιηθούν σε διάφορες μεθόδους (ELISA κ.ά)

Περιορισμό στη χρήση των συνθετικών πεπτιδίων αποτελεί αφενός το υψηλό τους κόστος και αφετέρου ορισμένα τεχνικά ζητήματα. Έτσι, ανεξάρτητα του μήκους τους μπορεί να προκαλούν μη ειδική δέσμευση. Αντίστοιχα, μεγάλα μεγέθη πεπτιδίων μπορεί να προκαλέσουν την ανάδειξη διαμορφωτικών επιτόπων.

1.4 Αυτοάνοσα νοσήματα

Τα αυτοάνοσα νοσήματα μπορεί να είναι συστηματικά, όπως ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ) είτε οργανοειδικά, όπως η θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Σε κάθε περίπτωση εμπλέκονται διαφορετικοί υπεύθυνοι δραστηριοί μηχανισμοί, όπως η παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων, κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων ή αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων (35). Ακόμη, τα αυτοάνοσα νοσήματα είναι συνήθως χρόνια και προοδευτικά εξελισσόμενα.

Η γενετική προδιάθεση, αλλά και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως οι λοιμώξεις ή το τοπικό ιστικό τραύμα μπορεί να συμβάλλουν στην εμφάνιση της αυτοανοσίας (1-5). Διάφορα γονίδια ευθύνονται για την διακοπή των μηχανισμών ανοσολογικής ανοχής. Ιδιαίτερο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζουν συγκεκριμένα ανθρώπινα λευκοκυτταρικά αντιγόνα (Human leucocyte antigens -HLA), αλλά και πολυμορφισμοί κυτταροκινών και υποδοχέων. Αντίστοιχα η λοίμωξη ή η νέκρωση των ιστών συνεπάγεται τη συσσώρευση αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων και την ιστική βλάβη. Υπό αυτές τις συνθήκες μπορεί να διαφοροποιείται η παρουσίαση των αντιγόνων στο ανοσοποιητικό σύστημα, με συνέπεια την απώλεια της ανοχής και την ενεργοποίηση αυτοαντιδραστικών λεμφοκυττάρων. Ένας ακόμη μηχανισμός που έχει προταθεί στην εμφάνιση αυτοανοσίας είναι η μοριακή μίμηση, όπου οι δομικές ομοιότητες μεταξύ μικροβιακών παραγόντων και αυτοαντιγόνων, ευθύνονται για την ενεργοποίηση των αυτοαντιδραστικών κυττάρων (17).

2 ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΗΠΑΤΙΤΙΔΑ (ΑΗ)

2.1 Εισαγωγή- γενικά στοιχεία

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) αποτελεί μια σχετικά σπάνια, χρόνια ηπατική νόσο αγνώστου αιτιολογίας που προσβάλλει συνηθέστερα γυναίκες (αναλογία γυναικών/άνδρες 4-5:1). Χαρακτηρίζεται από τρανσαμινασαιμία, διάχυτη υπεργαμμασφαιριναιμία και κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα στον ορό, HLA DR3 ή DR4, περιπυλαία ηπατίτιδα στη βιοψία ήπατος και ευνοϊκή ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία (36, 37).

Η ΑΗ περιγράφηκε αρχικά ως νόσος των νεαρών κοριτσιών (ηλικίας 5-20 ετών) με συνοδές ενδοκρινολογικές διαταραχές. Ωστόσο, νεότερες μελέτες δείχνουν ότι οι ασθενείς, συμπεριλαμβανομένων και ανδρών προσβάλλονται σε ηλικία 50-70 ετών (38, 39). Έτσι, το κλασικό πρότυπο της ΑΗ έχει καταρριφθεί και σήμερα θεωρείται ότι εμφανίζεται και στα δύο φύλα και μάλιστα σε κάθε ηλικία (40). Ο επιπολασμός υπολογίζεται σε 10-17 ασθενείς/10⁵ κατοίκους στη ΒΔ Ευρώπη, με ετήσια επίπτωση της τάξης των 0,7-1,9/10⁵ κατοίκων (41).

Η παθογένειά της δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, ενώ έχουν ενοχοποιηθεί τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Συνοπτικά, σε άτομα με γενετική προδιάθεση, πιθανώς μέσω ενεργοποίησης μηχανισμών μοριακής μίμησης και διαταραχής των Tregs, σπάει η ανοσολογική ανοχή και ξεκινά η αυτοάνοση «επίθεση» έναντι των ίδιων αντιγόνων του ήπατος (42, 43).

Η μεγάλη ετερογένεια των κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων της νόσου σε συνδυασμό με την απουσία ενός απλού ειδικού ορολογικού δείκτη καθιστά τη διάγνωσή της δύσκολη (44). Έτσι, η Διεθνής Ομάδα Μελέτης της ΑΗ (International Autoimmune Hepatitis Group- IAIHG) έχει προτείνει κατά καιρούς διάφορα συστήματα διαγνωστικών κριτηρίων (45-47). Στην πραγματικότητα, απαιτείται αυξημένη κλινική υποψία καθώς η ΑΗ πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στη διαφοροδιάγνωση κάθε ασθενούς με διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας.

Βάσει της παρουσίας αυτοαντισωμάτων στον ορό των ασθενών, έχουν αναγνωριστεί δύο ή τρεις τύποι ΑΗ (44, 48). Ο τύπος 1 (ΑΗ-1) χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων (antinuclear antibodies-ANA) και/ή αντισωμάτων έναντι λείων μυικών ινών (anti-smooth muscle antibodies-SMA). Στον τύπο 2 (ΑΗ-2), διαπιστώνονται αντισώματα έναντι μικροσωμίων ήπατος- νεφρού τύπου 1 (anti-liver kidney microsomal type 1 antibody- anti-LKM1) ή λιγότερο συχνά (30%) τύπου 3 (anti-LKM3) ή/και έναντι κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (anti-liver cytosol type 1 antibody- anti-LC1). Οι δύο κύριοι ορολογικοί τύποι της νόσου οδηγούν τελικά στην εκδήλωση διαφορετικών κλινικών φαινοτύπων (πίνακας 2) (49). Η ανακάλυψη των αντισωμάτων έναντι διαλυτού αντιγόνου ήπατος/ ήπατος παγκρέατος (anti-soluble liver antigen/liver pancreas (anti-SLA/LP) οδήγησε στο χαρακτηρισμό ενός τρίτου τύπου ΑΗ (ΑΗ-3). Ωστόσο, οι διαφορές μεταξύ ΑΗ -1 και ΑΗ -2 είναι περισσότερο εμφανείς συγκριτικά με την ΑΗ -1 και ΑΗ -3 και η τελευταία υποδιαίρεση είναι υπό αμφισβήτηση.

Πίνακας 2. Κλινικά, ορολογικά και γενετικά χαρακτηριστικά ασθενών με ΑΗ-1 και ΑΗ-2.

Τύπος ΑΗ	ΑΗ-1	ΑΗ-2
Χαρακτηριστικά αυτοαντισώματα	ANA,SMA,p-ANCA, anti-F-actin, anti-a-actinin, anti-SLA/LP, anti-ASGPR	anti-LMK1, anti-LKM-3, anti-LC1, anti-ASGPR
Γεωγραφική κατανομή	Παγκόσμια	Παγκόσμια (σπάνια στη Β.Αμερική)
Ηλικία προσβολής	Οποιαδήποτε ηλικία	Κυρίως παιδιά και νεαροί ενήλικες
Γενετική προδιάθεση	Γυναικείο φύλο HLA DR3, DR4 και DR13	Γυναικείο φύλο HLA DR3 και DR7
Κλινική εικόνα	Ποικίλη	Σοβαρή
Ιστολογική εικόνα	Ευρύ φάσμα (ήπια ευρήματα έως κίρρωση)	Προχωρημένη
Αποτυχία αγωγής	Σπάνια	Συχνή
Υποτροπή μετά τη διακοπή της θεραπείας	Πιθανή	Συχνή
Ανάγκη για μακρά διάρκεια θεραπείας	Πιθανή	Πολύ συχνή

Η ΑΗ αποτελεί μια προοδευτική νόσο που οδηγεί σε κίρρωση και αυξημένη θνητότητα, όταν αφεθεί χωρίς θεραπεία. Αξίζει να σημειωθεί ότι αποτέλεσε το πρώτο νόσημα, για το οποίο η αξία της θεραπευτικής παρέμβασης με τη χρήση κορτικοστεροειδών εκτιμήθηκε σε ελεγχόμενες κλινικές μελέτες. Έτσι, ήδη από την δεκαετία του '60 έγινε σαφές ότι η παρέμβαση με ανοσοκατασταλτική αγωγή βελτιώνει την κλινικοεργαστηριακή εικόνα των ασθενών και παρατείνει την επιβίωσή τους. Συνεπώς η έγκαιρη

διάγνωση της νόσου και η άμεση θεραπευτική παρέμβαση καθίσταται επιβεβλημένη (44).

2.2 Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη αναφορά ΑΗ ανήκει στον Σουηδό Jan Gösta Waldenström, ο οποίος ήδη από το 1950 κατέγραψε μια σειρά έξι ασθενών με το νόσημα (50). Πιο συγκεκριμένα, περιέγραψε νεαρές γυναίκες που έπασχαν από σοβαρή μορφή χρόνιας ηπατίτιδας, ενώ ταυτόχρονα εμφάνιζαν σταγονοειδή ακμή, τηλεαγγειεκτασίες, αμηνόρροια και υπερσφαιριναιμία με υπολευκωματιναιμία στον ορό.

Σχεδόν ταυτόχρονα ο Henry George Kunkel περιέγραψε μια αγνώστου αιτιολογίας ηπατική νόσο σε νεαρές γυναίκες με εκσεσημασμένη υπερσφαιριναιμία και συνοδά συμπτώματα, όπως πυρετό, αρθραλγίες ή και αρθρίτιδα. Ακολούθησε η αναγνώριση σε μια ομάδα ασθενών κυττάρων λύκου (51) και ANA, γεγονός που αποδόθηκε στην απώλεια της ανοσολογικής ανοχής. Έτσι, το 1956 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά ο όρος «λυκοειδής ηπατίτιδα» (lupoid hepatitis) από τον Ian Mackay (52-54). Ωστόσο, η χρήση της συγκεκριμένης ονομασίας δημιούργησε αρκετή σύγχυση στην επιστημονική κοινότητα και μια δεκαετία αργότερα εγκαταλείφθηκε.

Παράλληλα, στις αρχές της δεκαετίας του 1960 δ'ιαπιστώθηκε η ανταπόκριση των ασθενών στη χρήση των κορτικοστεροειδών, η οποία τεκμηριώθηκε μεταγενέστερα με αρκετές κλινικές μελέτες (55, 56). Τα

κορτικοστεροειδή αποτελούν μέχρι και σήμερα τη βάση της θεραπείας της νόσου (44, 57, 58).

Τα επόμενα χρόνια, η ΑΗ αναγνωρίστηκε ως ξεχωριστή νοσολογική οντότητα που ονομάστηκε «χρόνια ενεργός αυτοάνοση ηπατίτιδα», όρος που χρησιμοποιήθηκε έως τα τέλη της δεκαετίας του '80 (59, 60). Δεδομένου ότι η νόσος χαρακτηρίζεται από υφέσεις, είτε αυτόματες είτε στα πλαίσια της θεραπείας και κατά συνέπεια δεν είναι πάντοτε ενεργή, αποφασίστηκε σε συναντήσεις ειδικών (Brighton, UK, 1992 και Los Angeles, US, 1994) η χρήση της ονομασίας «αυτοάνοση ηπατίτιδα» ως η πλέον κατάλληλη.

Το 1993 η IAIHG καθιέρωσε ένα περιγραφικό πακέτο κριτηριων καθώς και ένα βαθμονομημένο διαγνωστικό σύστημα για τη διάγνωση του νοσήματος (45), που στη συνέχεια το 1999 τροποποίησε (46), ώστε με τη χρήση κλινικών, εργαστηριακών και ιστολογικών παραμέτρων να επιτυγχάνεται η επιλογή σχετικά ομοιογενούς δείγματος για ερευνητικούς σκοπούς. Τέλος, το 2008 η IAIHG εισήγαγε ένα νέο απλοποιημένο score (47), για τη διάγνωση της ΑΗ προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ευρύτερα στην κλινική πράξη

2.3 Επιδημιολογία

Η ΑΗ αποτελεί μια νόσο με παγκόσμια κατανομή που προσβάλλει παιδιά και ενήλικες και των δύο φύλων και κάθε εθνικότητας. Όπως προαναφέρθηκε, το κλασσικό πρότυπο της εμφάνισης της νόσου σε νεαρά κορίτσια, έχει πλέον καταρριφθεί (41, 61) .

Όσον αφορά το φύλο, διαπιστώνεται σαφής γυναικεία υπεροχή (4-5:1), χωρίς να αποκλείεται η εμφάνιση της νόσου σε άνδρες. Υπάρχουν μάλιστα μελέτες που περιγράφουν ότι το ποσοστό των ανδρών με ΑΗ μπορεί να φθάνει έως και το 25-30% (62). Ως προς την ηλικία εμφάνισης της ΑΗ, έχει καταγραφεί ένα διφασικό πρότυπο κατανομής της. Διαπιστώνεται μια πρώτη αιχμή εμφάνισής της κατά την παιδική και εφηβική ηλικία και μια δεύτερη από την 4^η έως την 6^η δεκαετία της ζωής (63). Ταυτόχρονα, υπάρχει πληθώρα αναφορών εμφάνισης της νόσου σε άτομα ηλικίας άνω των 65 ετών ακόμη δε και σε υπερήλικες (64-67). Έτσι, πρακτικά, θεωρείται νόσος όλων των ηλικιών (38).

Η ακριβής συχνότητα της ΑΗ δεν είναι γνωστή, ενώ φαίνεται να διαφοροποιείται αναλόγως της χώρας και της εθνικότητας. Μάλιστα τα τελευταία χρόνια καταγράφεται μια αυξητική τάση παγκοσμίως (68-70). Η σχετική δυσκολία στη διάγνωση της νόσου μπορεί αφενός να οδηγήσει στην υποεκτίμηση της πραγματικής συχνότητάς της, ενώ από την άλλη, καταγραφές προερχόμενες από τριτοβάθμια κέντρα αναφοράς ενδεχομένως την υπερεκτιμούν. Επιπλέον, αρκετές επιδημιολογικές μελέτες είναι σχετικά παλιές, περιλαμβάνουν ασθενείς πριν την ορολογική διάγνωση της ηπατίτιδας C (HCV), ενώ δε χρησιμοποιούν τα διαγνωστικά κριτήρια για την ομαδοποίηση των ασθενών.

Στην Ευρώπη, η ΑΗ απαντάται σε περίπου 10-17/10⁵ κατοίκους, δηλαδή εξίσου συχνά με την πρωτοπαθή χολική χολαγγειίτιδα (ΠΧΧ). Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη, καταγράφηκε σε Νορβηγούς ετήσια επίπτωση 1,9/10⁵ κατοίκους και επιπολασμός 16,9/10⁵ πληθυσμού (71, 72). Στο Ηνωμένο

Βασίλειο και σε κέντρο αναφοράς έχει καταγραφεί ετήσια επίπτωση $30/10^5$ κατοίκους (65). Στην Valencia της Ισπανίας καταγράφηκε επιπολασμός της νόσου $11,6/10^5$ κατοίκους και επίπτωση $0,83/10^5$ κατοίκους το 2003 σε μη παιδιατρικό πληθυσμό (73).

Σε περιοχές όπου έχουν γίνει προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες έχει προσδιοριστεί με ακρίβεια μια αρκετά μεγάλη συχνότητα. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε γηγενή πληθυσμό στην Αλάσκα και με την εφαρμογή του τροποποιημένου score της IAHG (74) διαπιστώθηκαν 42,9 περιπτώσεις βέβαιης ΑΗ ανά 10^5 κατοίκους, δηλαδή διπλάσιος αριθμός περιπτώσεων συγκριτικά με την προαναφερθείσα νορβηγική μελέτη. Σε μια επίσης καλά σχεδιασμένη μελέτη που αφορούσε κλειστό πληθυσμό στη Νέα Ζηλανδία αναφέρονται ετήσια επίπτωση 2 και επιπολασμός 24,5 ασθενείς με ΑΗ/ 10^5 πληθυσμού (61).

Πρόσφατα μια μεγάλη μελέτη σε γενικό πληθυσμό στη Δανία έδειξε τον διπλασιασμό των ασθενών με ΑΗ μεταξύ των ετών 1992 και 2012, με τον επιπολασμό της νόσου να ανέρχεται πλέον σε $24/10^5$ κατοίκους. Αντίστοιχα, στην ίδια μελέτη, η συχνότητα στις γυναίκες έφθανε τις $35/10^5$ κατοίκους (75).

Αντίθετα, στην Ασία, η καταγραφόμενη συχνότητα της ΑΗ είναι εξαιρετικά χαμηλή. Οι περισσότερες από τις μελέτες προέρχονται από την Ιαπωνία και αναφέρουν ετήσια επίπτωση μόλις $0,08-0,15/10^5$ πληθυσμού, καθιστώντας τη σχετικά σπάνιο αίτιο χρόνιας ηπατοπάθειας και κίρρωσης (76).

Αναφορικά με την εμφάνιση ΑΗ-2 που παρατηρείται κυρίως σε παιδιά και είναι σαφώς σπανιότερη από την ΑΗ -1 (περίπου 10% των συνολικών

περιπτώσεων), δεν υπάρχουν επαρκείς μελέτες. Τα περισσότερα στοιχεία προέρχονται ως επί το πλείστον από κέντρα αναφοράς και κατά συνέπεια οι πληροφορίες είναι ακόμη περισσότερο συγκεχυμένες. Έτσι, στο King's College Hospital του Λονδίνου έχει περιγραφεί την τελευταία δεκαετία αύξηση κατά 7 φορές των παιδιών με ΑΗ, με 400 περίπου νέες περιπτώσεις κατ' έτος και εκ των οποίων τα 2/3 αφορούν ΑΗ-1 και το 1/3 ΑΗ-2 (65).

Αναλόγως της φυλής και της εθνικότητας έχει δειχθεί διαφοροποίηση και στην κλινική έκφραση της νόσου (77-79) Έτσι, στην Αλάσκα παρατηρείται συχνά η οξεία ικτερική μορφή (74). Αντίστοιχα, στη Β. Α. μερική η ΑΗ εμφανίζεται συχνότερα και σε επιθετικότερη μορφή σε όσους έχουν ιθαγενή καταγωγή συγκριτικά με τους μη ιθαγενείς Καυκάσιους (77). Ακόμη, έχει βρεθεί ότι οι Αφροαμερικανοί έχουν μια πιο σοβαρή μορφή ΑΗ και συχνά κίρρωση κατά τη διάγνωση (80). Στην ίδια ομάδα έχει περιγραφεί μεγαλύτερη θεραπευτική αποτυχία και αυξημένη θνητότητα (81).

Ασθενείς ισπανικής καταγωγής εμφανίζουν σοβαρή βιοχημική και ιστολογική εικόνα και υψηλά ποσοστά κίρρωσης κατά τη διάγνωση. Οι μεξικάνοι Mestizos έχουν συχνά εγκατεστημένη κίρρωση κατά τη διάγνωση (82), ενώ οι ασθενείς ασιατικής καταγωγής ή οι μη Ευρωπαίοι Καυκάσιοι (83) εμφανίζουν τα μικρότερα ποσοστά επιβίωσης.

Παρά το γεγονός ότι οι παραπάνω παρατηρήσεις προέρχονται από αναδρομικές μελέτες και κυρίως από κέντρα αναφοράς, φαίνεται η εθνικότητα να έχει αντίκτυπο στην εμφάνιση και την πορεία της νόσου. Ωστόσο, δεν είναι βέβαιο αν οι όποιες διαφορές οφείλονται αποκλειστικά σε γενετικούς, φαρμακολογικούς ή άλλους παράγοντες. Ενδεχομένως, να αντανakλούν το

κοινωνικό και οικονομικό επίπεδο των ασθενών, την καθυστέρηση στη χρήση ιατρικών πόρων και συνεπώς στη διάγνωση και την έκβαση της νόσου.

2.4 Αιτιοπαθογένεια

Η παθογένεια της νόσου δεν είναι πλήρως γνωστή και κατανοητή. Σύμφωνα με την επικρατούσα υπόθεση, η ΑΗ αναπτύσσεται σε άτομα με γενετική προδιάθεση υπό την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως ιοί, βακτήρια, χημικές ουσίες ή φάρμακα (84, 85).

Στη συνέχεια, η αυτοανοση επίθεση πραγματοποιείται ενδεχομένως μέσω μοριακής μίμησης, ενώ ευνοείται από τη δυσλειτουργία των Tregs (86-89).

2.4.1 Γενετική βάση

Η κληρονομικότητα στην ΑΗ δεν ακολουθεί το κλασσικό μενδέλειο πρότυπο, αλλά είναι περισσότερο σύνθετη (84). Διάφορα γονίδια ή και συνδυασμοί αυτών σχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ΑΗ. Επιπλέον, φαίνεται να συνδέονται με την κλινική εικόνα, την ανταπόκριση στη θεραπεία και την πρόγνωση της νόσου.

Η συσχέτιση της ΑΗ με συγκεκριμένα HLA του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας που φάνηκε σε παλιότερες ανοσογενετικές μελέτες επιβεβαιώνεται και σε πρόσφατες μελέτες σύνδεσης ολόκληρου του γονιδιώματος (Genome-wide association studies- GWAS) (90-92). Τα **HLA** κωδικοποιούνται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 και ιδιαίτερη

σημασία έχουν τα μόρια τάξης II, που ανευρίσκονται στην εξω επιφάνεια των APCs. Δεδομένου ότι η αντιγονοπαρουσίαση στα CD4 λεμφοκύτταρα επιτελείται διά των μορίων αυτών, εμμέσως υποδηλώνεται και ο ρόλος τους στην ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων και την παθογένεση της νόσου.

Οι ισχυρότερες συσχετίσεις αφορούν το γενετική θέση HLA-DRB1, με τα αλληλία που κωδικοποιούν τα μόρια **HLA-DR3** (DRB1*0301) και **DR4** (DRB1*0401) να επικρατούν μεταξύ των ασθενών με AH στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική (93). Μάλιστα η συσχέτιση είναι τόσο ισχυρή, ώστε να αποτελούν μέρος των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της νόσου. Στην Ιαπωνία, την Αργεντινή και το Μεξικό επικρατούν τα αλληλία DRB1*0405 και DRB1*0404, ενώ το αλληλίο DRB1*1301 συναντάται στην Αργεντινή (94).

Ακόμη, τα HLA φαίνεται να συνδέονται με τις κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, τη θεραπευτική ανταπόκριση και τη συνολική πρόγνωση (95). Έτσι, ο απλότυπος DRB1*0301 απαντάται συχνά στους Βορειοευρωπαίους ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται στη θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Σε μια μετα-ανάλυση από τη Λατινική Αμερική φάνηκε ότι τα HLA-DQ2 και HLA-DR52 προδιαθέτουν στην ανάπτυξη AH. Αντίθετα, ως προστατευτικά αλληλία αναγνωρίστηκαν τα HLA-DR5 and HLA-DQ3 (90, 96, 97).

Σε μελέτες στο Ηνωμένο Βασίλειο και τη Βραζιλία, η εμφάνιση της AH-2 έχει συνδεθεί με την παρουσία απλότυπων **DR3** (DRB1*0301) και **DR7** (DRB1*0701) (98). Διαφορετικοί απλότυποι έχουν συσχετιστεί με διαφορετικό ορολογικό προφίλ και κλινική εικόνα στην AH-2. Για παράδειγμα, οι ασθενείς

που φέρουν το HLA-DR7 αλληλίο φαίνεται να εκδηλώνουν πιο επιθετική νόσο με χειρότερη πρόγνωση.

Υπάρχουν ακόμη μελέτες με πολυμορφισμούς γονιδίων εκτός του MHC που συνδέονται με επιρρέπεια στην εμφάνιση ΑΗ. Οι τελευταίοι αφορούν κυρίως το κύτταροτοξικό λευκοκυτταρικό αντιγόνο-4 (CTLA-4), το γονίδιο που προάγει τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων α (TNF-α) ή τον Fas.

Το **CTLA-4** είναι ένα μόριο προσκόλλησης που ρυθμίζει αρνητικά τις απόκριση των Τ-λεμφοκυττάρων (99). Το υπεύθυνο γονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 2q33. Η αλλαγή μιας βάσης αδενίνης σε γουανίνη στη θέση 49 στο εξόνιο 1 έχει περιγραφεί σε διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα. Οι Agarwal και συν (99) έδειξαν ότι ο γονότυπος CTLA-4 GG είναι συχνός στους Βορειοευρωπαίους Καυκάσιους ασθενείς με ΑΗ-1, εύρημα το οποίο ωστόσο δεν επιβεβαιώθηκε σε ασθενείς από τη Βραζιλία (100).

Μια αντικατάσταση βάσης (γουανίνη σε αδενίνη) στη θέση 308 στο γονίδιο του **TNF**, της πρώτης κυτταροκίνης, που περιγράφεται στις φλεγμονώδεις διαδικασίες, ανευρίσκεται συχνότερα στους ασθενείς με ΑΗ-1 συγκριτικά με τους υγιείς και συνδέεται με πτωχή ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή σε Βορειοευρωπαίους, αλλά όχι στους Ιάπωνες (101).

Παρόμοια, πολυμορφισμοί του **Fas**, ενός μορίου της υπεροικογένειας των TNF υποδοχέων (TNFRSF6) με σημαντικό ρόλο στην απόπτωση, μελετήθηκαν στην ΑΗ (102). Βρέθηκε λοιπόν ότι η αντικατάσταση αδενοσίνης από γουανίνη στη θέση 670 του γονιδίου που προάγει τον Fas δεν διαφέρει ως προς τη συχνότητα μεταξύ των ασθενών με ΑΗ και υγιών μαρτύρων.

Ωστόσο, η παρουσία του συγκεκριμένου πολυμορφισμού συνδέεται με την παρουσία βαριάς ιστολογικής βλάβης κατά την διάγνωση (103).

Τα τελευταία χρόνια βρίσκονται σε εξέλιξη διάφορες GWAS που βοηθούν στην κατανόηση των αυτοάνοσων νοσημάτων, αναγνωρίζοντας πιθανούς γενετικούς τόπους και μονοπάτια που οδηγούν στην εκδήλωση αυτοάνοσων φαινοτύπων (104). Πρόσφατα, η εφαρμογή GWAS σε 649 ασθενείς με AH-1 στην Ολλανδία (92), επιβεβαίωσε την συσχέτιση της νόσου με τα προαναφερθέντα H LA. Επιπρόσθετα φάνηκε συσχέτιση του HLA DR3 υψηλότερα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης IgG, μικρότερη ηλικία προσβολής και συχνότερη συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων, ενώ το HLA DR4 συσχετιζόταν με μεγαλύτερη ηλικία έναρξης της νόσου, αλλά όχι με την παρουσία άλλων αυτοάνοσων διαταραχών. Επιπλέον, αναγνωρίστηκαν γενετικές συσχετίσεις εκτός του HLA, όπως οι πολυμορφισμοί rs3184504*A του γονιδίου SH2B3 και rs6000782 του CARD10 σε αρκετούς ασθενείς με AH-1.

Περισσότερο ξεκάθαρη είναι η γενετική βάση του συνδρόμου αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας τύπου 1. Πιστεύεται ότι 10-20% των ασθενών με αυτοάνοση πολυενδοκρινοπάθεια, καντιντίαση του δέρματος και δυστροφία του εξωδέρματος (Autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy- APECED) πάσχουν από AH (17, 105, 106). Πρόκειται για μια μονογονιδιακή διαταραχή που κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Το υπεύθυνο γονίδιο **AIRE1** αποτελείται από 14 εξόνια και έχουν περιγραφεί τουλάχιστον 45 διαφορετικές μεταλλάξεις (107). Εξ αυτών, η έλλειψη 13 ζευγών βάσεων στο νουκλεοτίδιο 964 του 8^{ου} εξονίου

ευθύνεται για το 70% των περιπτώσεων APECED στο Ηνωμένο Βασίλειο (108). Το AIRE1 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με δράση μεταφραστικού παράγοντα. Εκφράζεται κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα του μυελού και σε στρωματικά κύτταρα στο θύμο και ευθύνεται για την κλωνική διαγραφή των αυτοαντιδραστικών T-λεμφοκυττάρων. Πιθανότατα δε αυτή η δράση του να συνεπικουρείται από συγκεκριμένα HLA γονίδια (109).

2.4.2 Μοριακή μίμηση

Σε ασθενείς με γενετική προδιάθεση για ανάπτυξη ΑΗ, η ανοσιακή απόκριση σε αυτοαντιγόνα του ήπατος μπορεί να πυροδοτηθεί μέσω μοριακής μίμησης. Σε αυτή την περίπτωση εξωγενή παθογόνα, όπως οι ιοί, μπορεί να διεγείρουν διασταυρούμενη ανοσιακή αντίδραση με «ίδια» κυτταρικά αντιγόνα που έχουν παρόμοια δομή (ομολογία αμινοξέων μεταξύ ίδιων και ξένων αντιγόνων) (110).

Χαρακτηριστικό παράδειγμα μοριακής μίμησης στην ΑΗ αποτελεί το anti-LKM1, του οποίου αντιγόνο-στόχος είναι το κυτόχρωμα P450IID6 (CYP2D6). Το CYP2D6 παρουσιάζει ομολογία με την αλληλουχία των αμινοξέων του ιού της ηπατίτιδας C (HCV), γεγονός που πυροδοτεί την έναρξη της ανοσολογικής απόκρισης και τελικά ποσοστό έως και 10% των ασθενών με HCV λοίμωξη είναι θετικοί για anti-LKM1 (111), χωρίς να εμφανίζουν στοιχεία ΑΗ. Παρόμοια, ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) και ο ιός του απλού έρπητα (HSV) μπορούν να επάγουν αντίστοιχες αυτοάνοσες αντιδράσεις (112).

Σε μια παλιότερη μελέτη, όπου εξετάστηκαν 26 ασθενείς θετικοί για anti-LKM1, φάνηκε ότι οι οροί των ασθενών αυτών αναγνωρίζουν ένα μικρό πεπτίδιο μήκους 8 αμινοξέων με την αλληλουχία DPAQPPRD (CYP2D6 263-270). Ο έλεγχος σε πρωτεϊνικές βιβλιοθήκες ανέδειξε ομολογία της μικρότερης αλληλουχίας PAQPPR με μια πρωτεΐνη του HSV (113). Συνηγορητικά προς αυτό ήταν και τα αποτελέσματα μιας παλιότερης μελέτης δύο ομοζυγωτικών διδύμων. Φάνηκε λοιπόν ότι στη μία εξ αυτών που έπασχε από AH-2 και διαπιστώθηκαν anti-LKM1 στον ορό, καθώς επίσης αντισώματα έναντι του HSV. Αντίθετα, η υγιής αδελφή, η οποία δεν έπασχε από AH, δεν εμφάνιζε anti-LKM1 στον ορό ούτε αντισώματα έναντι του HSV (114).

Παρόμοια, μια ακόμη αλληλουχία του anti-LKM1, που αντιστοιχεί στα αμινοξέα 193-202 (CYP2D6 193-202) φάνηκε να αναγνωρίζεται από ικανό αριθμό ασθενών με AH-2, αλλά και ασθενείς με HCV λοίμωξη και παρουσία anti-LKM1. Εντός αυτής η εξαμερής αλληλουχία RLLDLA εμφανίζει ομολογία αμινοξέων με μια αντίστοιχη του HCV (HCV2985-2990) και του CMV (CMV130-135). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το CYP2D6 εντοπίζεται στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης του ηπατοκυττάρου, γεγονός που συμβάλλει στην άμεση εκδήλωση της κυτταροτοξικότητας εναντίον του ηπατοκυττάρου (115).

Συμπερασματικά, τα anti-LKM εμφανίζουν διασταυρούμενη αντίδραση με τις ομόλογες περιοχές των CYP2D6, HCV, HSV CMV, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ένας μηχανισμός «πολλαπλών χτυπημάτων» για την εμφάνιση των παραπάνω αντισωμάτων και της AH-2. Με άλλα λόγια, πολλαπλή έκθεση στους προαναφερθέντες ιούς μπορεί να δημιουργήσει ικανές συνθήκες για

την εμφάνιση αυτοάνοσης διαταραχής σε μικρό αριθμό ατόμων με γενετική προδιάθεση.

2.4.3 Διαταραχές της ανοσιακής απόκρισης

Το ήπαρ θεωρείται ένα όργανο με μοναδικές ανοσολογικές ιδιότητες (116-118). Η θέση, η ανατομία και η λειτουργία του έχουν ως αποτέλεσμα τη διαρκή έκθεσή του σε ένα μεγάλο φορτίο αντιγόνων, παθογόνων και τοξινών (119). Διαθέτει ένα μεγάλο αριθμό φαγοκυττάρων, APCs και λεμφοκυττάρων (120), ενώ διάφοροι πληθυσμοί, όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα αστεροειδή, τα ηπατοκύτταρα και τα DC συμμετέχουν επίσης στην αντιγονοπαρουσίαση (δράση APCs). Αποτελεί ακόμη θέση παραγωγής κυτταροκινών, συστατικών του συμπληρώματος και πρωτεϊνών οξείας φάσης.

Στην ανοσολογική απάντηση συμμετέχουν κύτταρα της φυσικής (NK, NKT και μακροφάγα) και της επίκτητης ανοσίας (B- και T-λεμφοκύτταρα) (121). Ανοσορρυθμιστικοί μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για την ανοχή (απουσία αντιδραστικότητας) έναντι των ίδιων αντιγόνων. Η ρήξη της ανοσολογικής ανοχής οδηγεί στην αυτοάνοση απόκριση.

Μέχρι σήμερα, διάφοροι μηχανισμοί για την έναρξη της αυτοάνοσης απόκρισης στο ήπαρ έχουν προταθεί (65, 84), αλλά σε κάθε περίπτωση απουσιάζει ένα ξεκάθαρο εναρκτήριο γεγονός. Συνεπώς οι ακριβείς μηχανισμοί που οδηγούν στην εμφάνιση της αυτοάνοσης διαταραχής και κατά συνέπεια της ηπατικής βλάβης δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Πιθανολογείται

ότι είναι αρκετά περίπλοκοι και συμπεριλαμβάνουν τόσο τη φυσική όσο και την επίκτητη ανοσία.

Σε γενικές γραμμές, για την έναρξη της αυτοάνοσης απόκρισης στο ήπαρ, απαιτείται η παρουσία αυτοαντιδραστικών Β - και Τ -λεμφοκυττάρων καθώς επίσης η παρουσίαση των αυτοαντιγόνων στα APCs μέσω μορίων MHC τάξης II (122).

Η ιστολογική εικόνα της περιπυλαίας ηπατίτιδας με διήθηση από λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και μονοκύτταρα/ μακροφάγα που παρατηρείται στους ασθενείς με ΑΗ (123), παραπέμπει ευθέως σε ενεργοποίηση αυτοαντιδραστικών μηχανισμών. Έτσι, με τη χρήση ανοσοϊστοχημείας σε παλιότερες μελέτες χαρακτηρίστηκαν οι πληθυσμοί των κυττάρων που ανευρίσκονται στον ηπατικό ιστό στην ΑΗ. Στην πλειοψηφία τους πρόκειται για Τ -λεμφοκύτταρα (που φέρουν τον ετεροδιμερή αβ-υποδοχέα) και ιδιαίτερα CD4 βοηθητικά Τ -λεμφοκύτταρα και σε μικρότερο βαθμό CD8 κυτταροτοξικά Τ -λεμφοκύτταρα (116). Ακόμη, ανευρίσκονται άλλοι, πλην της Τ -κυτταρικής αρχής, πληθυσμοί, όπως ΝΚ-κύτταρα, μακροφάγα και Β-λεμφοκύτταρα (123).

Σχετικά πρόσφατα, μια μελέτη από την Ιταλία με ανάλυση μικροσυστοιχιών DNA σε μεγάλο αριθμό ασθενών με ΑΗ -1 ανέδειξε μια πιθανή νέα παθογενετική οδό (124). Φάνηκε λοιπόν ότι οι ασθενείς με ΑΗ αναγνωρίζουν συχνότερα συγκριτικά με τους υγιείς ή αυτούς με ιογενείς ηπατίτιδες τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης-4 (IL-4R) και ιδιαίτερα την υπομονάδα (CD124) που εκφράζεται στην εξωτερική πλευρά των ηπατοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων. Τα αντισώματα έναντι αυτών

εξουδετερώνουν τη σύνδεση της IL-4 στον υποδοχέα της και αναστέλλουν τη STAT6 φωσφορυλίωση που ακολουθεί, οδηγώντας σε παρατεταμένη και ανεξέλεγκτη φλεγμονώδη αντίδραση.

2.4.3.1 T-ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Treg)

Ο ρόλος των ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων (Treg) και ιδιαίτερα αυτών που εκφράζουν τους δείκτες CD4+CD25+FOXP3+ στην επιφάνειά τους θεωρείται πιθανά κεντρικός στην παθογένεση της ΑΗ.

Τα CD4+CD25+ Treg καταστέλλουν αυτοαντιδραστικούς κλώνους μέσω επαφής κυττάρου με κύτταρο και απελευθερώνουν ρυθμιστικές κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη-10 (interleukin-10-IL-10) και ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β (transforming growth factor-beta-TGF-beta). Έχει διαπιστωθεί ότι τα CD4+CD25+ Treg είναι αριθμητικά και λειτουργικά ελαττωμένα κατά τη διάγνωση της ΑΗ συγκριτικά με τους υγιείς. Αντιθέτα, όταν η νόσος βρίσκεται σε ύφεση, ο αριθμός τους αυξάνεται ή μπορεί και να αποκαθίσταται. Ακόμη, έχει περιγραφεί εκτός από την αριθμητική μείωση και λειτουργική διαφοροποίηση των Treg σε ασθενείς με ΑΗ (125, 126).

Υπάρχουν, ωστόσο, μελέτες που χρησιμοποιώντας διαφορετική μεθοδολογία, υποστηρίζουν το αντίθετο, δηλαδή ότι τα Tregs είναι αριθμητικά και λειτουργικά φυσιολογικά στην ΑΗ. (127). Έχει περιγραφεί λοιπόν αυξημένος αριθμός Treg σε επίπεδο ιστού, που μειώνεται ωστόσο σε περιπτώσεις χορήγησης ανοσοκαταστολής. Στην τελευταία περίπτωση δεν

είναι σαφές αν η μείωση του αριθμού των συγκεκριμένων κυττάρων οφείλεται στην χορήγηση ανοκατασταλτικής αγωγής ή στην ίδια την ύφεση της νόσου.

Από τα αντικρουόμενα αποτελέσματα μεταξύ των διαφόρων μελετών, διαφαίνεται λοιπόν η ανάγκη χρήσης ευρέως αποδεκτών δεικτών για την αναγνώριση των Tregs. Η ανάπτυξη κατάλληλων μεθόδων αναγνώρισης των Tregs και της δράσης τους όχι μόνο θα αποσαφηνίσει πλήρως τον πιθανό αιτιοπαθογενετικό τους ρόλο στην ΑΗ (86, 128-131), αλλά πιθανότατα θα προσφέρει και δυνατότητα για νέες θεραπευτικές παρεμβάσεις (126).

2.4.4 Χυμική ανοσία

Ο ρόλος της χυμικής ανοσίας και των αυτοαντισωμάτων στην παθογένεση της ΑΗ φαίνεται ότι είναι εξίσου σημαντικός.

Ήδη σε αρκετά παλιότερες μελέτες διαπιστώθηκε ότι η επιφάνεια των ηπατοκυττάρων των ασθενών με ΑΗ καλύπτεται με ανοσοσφαιρίνες σε μεγαλύτερο βαθμό συγκριτικά με τις ιογενείς ηπατίτιδες ή άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες (132-134). Κατά αυτό τον τρόπο καθίστανται επιρρεπή στην εκδήλωση κυτταροτοξικότητας κατά τη σύνδεση με Fc υποδοχείς των μονοκυττάρων. Ακόμη έχουν βρεθεί υψηλοί τίτλοι αντισωμάτων έναντι της ειδικής πρωτεΐνης της μεμβράνης, του υποδοχέα της ασιανοπρωτεΐνης (ASGPR) και της αλκοολικής δεϋδρογενάσης (ADH).

Εξάλλου τα anti-SLA/LP ανευρίσκονται συχνά και σχεδόν αποκλειστικά σε ασθενείς με ΑΗ και έχει προταθεί ότι χαρακτηρίζουν μια πιο σοβαρή μορφή της νόσου .

Τέλος, τα anti-LKM1 που ανευρίσκονται στην ΑΗ-2 στρέφονται κατά του CYP2D6, που εκφράζεται επίσης στην επιφάνεια των ηπατοκυττάρων (132) και πιθανολογείται ότι έχουν επίσης αιτιοπαθογενετικό ρόλο (115). Η μελέτη των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων του CYP2D6 έχει αναδείξει περιοχές που αναγνωρίζονται από σημαντικό ποσοστό ασθενών. Έτσι, τα αα 193–212 αναγνωρίστηκαν από το 93% των ασθενών, τα αα 257–269 από το 85%, τα αα 321–351 από το 53%, καθώς επίσης τα αα 373–389 και αα 410–429 από το 7% και το 13% των ασθενών αντίστοιχα (112). Χρησιμοποιώντας διαφορετική τεχνική, οι Ma και συν (98) έδειξαν την παρουσία διαμορφωτικών επιτόπων κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο. Επιπλέον, μια μικρή αλληλουχία που αφορούσε τα αα 316–327, δηλαδή στην επιφάνεια του μορίου φάνηκε να συνδέεται με σημαντική βλάβη των ηπατοκυττάρων

2.4.5 Πειραματικά μοντέλα αυτοάνοσης ηπατίτιδας

Σε ένα ιδανικό πειραματικό μοντέλο για την ΑΗ, ένα ξεκάθαρο γεγονός θα πρέπει να οδηγεί σε εκδήλωση χρόνιας φλεγμονής και ίνωσης, όπως δηλαδή συμβαίνει και στην πραγματικότητα στους ασθενείς. Τα παλαιότερα πειραματικά μοντέλα της ΑΗ αναπτύχθηκαν σε ποντικούς ακολουθώντας ιδιαίτερα περίπλοκα πρωτόκολλα. Τα αποτελέσματά τους δεν ήταν ιδιαίτερα σημαντικά ως προς τη βαρύτητα της ηπατίτιδας, της ιστολογικής βλάβης ή την παρουσία αυτοαντισωμάτων ή Τ-λεμφοκυττάρων. Τα πιο πρόσφατα μοντέλα συμβάλλουν περισσότερο στην κατανόηση της παθογένειας της νόσου (135-139).

Σημειώνεται, ωστόσο, ότι τα περισσότερα από τα πειραματικά μοντέλα παρέχουν ορισμένες πληροφορίες για την παθογένεια της AH -2, ενώ τα δεδομένα για την παθογένεια της AH-1, που είναι και η συχνότερη μορφή, απουσιάζουν. Η γνώση των αυτοαντιγόνων-στόχων της AH -2, όπως το CYP2D6 για τα anti-LKM1 και η formiminotransferase cyclodeaminase (FTCD) για τα anti-LC1, επέτρεψε τη δημιουργία πειραματικού μοντέλου με τη χρήση CYP2D6 και CYP2D6/FTCD (140).

Πιο συγκεκριμένα, ανοσοποιήθηκαν ποντίκια του είδους C57BL/6 με πλασμίδιο που περιείχε την αντιγονική περιοχή των ανθρώπινων CYP2D6/FTCD. Ταυτόχρονα χρησιμοποιήθηκε ένα πλασμίδιο DNA που κωδικοποιεί την IL-12. Η ανοσοποίηση ολοκληρώθηκε μετά από τρεις κύκλους με μεσοδιάστημα δύο εβδομάδων. Τα ανοσοποιημένα ποντίκια εμφάνισαν αύξηση της τιμής της ALT 4 και 7 μήνες μετά την ανοσοποίηση και ανέπτυξαν περιπυλαία, πυλαία και λοβιακά διηθήματα στο ήπαρ. Παράλληλα ανέπτυξαν αυτοαντισώματα anti-LKM1 και anti-LC1, ενώ διαπιστώθηκε παρουσία CD4+, CD8+ T -λεμφοκυττάρων και σε μικρότερο βαθμό B-λεμφοκυττάρων 8-10 μήνες αργότερα (141, 142).

Επιπλέον, η μεταφορά *ex vivo* αναπτυγμένων Tregs σε ποντίκια με AH διατήρησε την περιφερική ανοχή, αποκατέστησε την ανοχή στο FTCD και μείωσε την ηπατική φλεγμονή (143).

Σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο (144), η εμφάνιση χρόνιας ηπατίτιδας πυροδοτήθηκε σε ποντίκια από αδenoϊό που εκφράζει το ανθρώπινο CYP2D6. Τα παραπάνω ποντίκια εμφάνισαν διήθηση του ήπατος από λεμφοκύτταρα, εκτεταμένη ίνωση και νέκρωση σε επίπεδο ηπατικού ιστού.

Παράλληλα εμφάνισαν υψηλούς τίτλους anti-LKM1 αντισωμάτων, αφού αναγνώριζαν τον αντιγονικό επίτοπο WDPAQPPRD.

Τέλος, ένα άλλο πειραματικό μοντέλο ΑΗ αναπτύχθηκε με τη χρήση ποντικών με γενετική έλλειψη (knock-out) της σηματοδότησης του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (programmed cell death 1-PD-1) (145). Τα knock-out PD1^{-/-} ποντίκια αποτελούν μοντέλο για την διατακτική μυοκαρδιοπάθεια. Όταν αυτά υποστούν επιπλέον θυμεκτομή σε νεογνική ηλικία, εμφανίζουν απώλεια της PD-1 σηματοδότησης, διαταραχή των Tregs και σοβαρή ηπατίτιδα. Η ηπατίτιδα μοιάζει με την οξεία κεραυνοβόλο ΑΗ, αφού διαπιστώνεται αύξηση των τρανσαμινασών, παρουσία αντιπυρηνικών αυτοαντισωμάτων και ιστική διήθηση από λεμφοκύτταρα με μαζική λοβιακή νέκρωση. Τα ποντίκια πεθαίνουν μεταξύ 10^{ης} και 30^{ης} ημέρας. Η μεταφορά στην ίδια μελέτη Tregs ακόμη και από knock-out PD1^{-/-} αποδείχθηκε σωτήρια, αφού περιορίζει τη βαρύτητα της ηπατίτιδας. Με αυτό τον τρόπο φάνηκε έμμεσα η σημασία των Tregs στην παθογένεση της ΑΗ.

2.5 Κλινική εικόνα

Το κλινικό φάσμα της ΑΗ είναι ευρύ και εκτείνεται από την απουσία συμπτωμάτων έως τη σοβαρή οξεία ηπατίτιδα και την κεραυνοβόλο ηπατική ανεπάρκεια (146-148). Η κλινική δε πορεία της ΑΗ χαρακτηρίζεται από εξάρσεις και υφέσεις, δηλαδή εναλλαγή περιόδων αυξημένης και ελαττωμένης δραστηριότητας. Η έναρξή της εκδηλώνεται με τρεις κλινικές μορφές (38, 48):

α) Ασυμπτωματική μορφή (10% των περιπτώσεων ΑΗ) (146). Αναφέρεται σε πλήρως ασυμπτωματικούς ασθενείς, στους οποίους η διάγνωση τίθεται στα πλαίσια διερεύνησης ευρημάτων χρόνιας ηπατοπάθειας (ερύθημα παλαμών, spiders θωρακικού τοιχώματος, γυναικομαστία ή ηπατοσπληνομεγαλία), ενώ σε αρκετές περιπτώσεις η νόσος διαγιγνώσκεται μετά τη διαπίστωση τρανσαμινασαιμίας σε εξέταση ρουτίνας.

Στα προχωρημένα στάδια κυριαρχούν οι κλινικές εκδηλώσεις της πυλαίας υπέρτασης. Σε ορισμένες μάλιστα περιπτώσεις πρώτη εκδήλωση του νοσήματος μπορεί να είναι κάποια επιπλοκή της πυλαίας υπέρτασης, όπως η κίρσοραγία, σε προηγουμένως «υγιή» άτομα.

β) Ήπια συμπτωματική μορφή. Πρόκειται για την πλέον συχνή, που παρατηρείται έως και στο 60% των περιπτώσεων. Στην πλειοψηφία τους οι ασθενείς εμφανίζουν ύπουλη έναρξη της νόσου, με μη ειδικά συμπτώματα, όπως γενικευμένη αδυναμία, κόπωση, ναυτία, ανορεξία, απώλεια βάρους, αρθραλγίες ή μυαλγίες (38, 48). Χαρακτηριστικά δε τα παραπάνω γενικά συμπτώματα μπορεί να προηγούνται της διάγνωσης κατά πολλά έτη. Ακόμη μπορεί να συνυπάρχει βύθιο άλγος στο δεξιό υποχόνδριο, δεκατική ή μετρίου βαθμού πυρετική κίνηση (έως 38°C) ή αμηνόρροια. Αντικειμενικά μπορεί να διαπιστωθεί υπερτρίχωση, σταγονοειδής ακμή, τηλεαγγειεκτασίες ή ηπατοσπληνομεγαλία, ενώ σε ένα σημαντικό ποσοστό τα οποιαδήποτε ευρήματα απουσιάζουν πλήρως.

γ) Οξεία μορφή ΑΗ (έως και 30% των περιπτώσεων ΑΗ). Η νόσος εκδηλώνεται με εικόνα οξείας ηπατίτιδας και προσομοιάζει με αυτή άλλης αιτιολογίας, όπως οι οξείες ιογενείς ηπατίτιδες. Σπάνια μπορεί να εκδηλωθεί

και ως κεραυνοβόλος ηπατική ανεπάρκεια ιδιαίτερα σε παιδιά (149). Σε ποσοστό που φθάνει το 20% ο ίκτερος μπορεί να απουσιάζει.

Η οξεία εμφάνιση της ΑΗ μπορεί να εκδηλωθεί με δύο τρόπους, είτε ως παρόξυνση χρόνιας νόσου, που μέχρι τότε παρέμενε αδιάγνωστη, είτε ως πραγματική οξεία ΑΗ. Στην τελευταία περίπτωση, αν διενεργηθεί βιοψία ήπατος, απουσιάζουν οι ιστολογικές αλλοιώσεις χρονιότητας.

Σε πολλούς ασθενείς με οξεία ΑΗ-1, τα επίπεδα της ανοσοσφαιρίνης G (IgG) μπορεί να είναι φυσιολογικά και να απουσιάζουν τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) από τον ορό (150, 151), οπότε η διάγνωσή της εύκολα να διαλάθει. Ετσι, στη διαφορική διάγνωση κάθε οξείας ηπατίτιδας και/ή ηπατικής ανεπάρκειας θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η ΑΗ, όπου η καθυστέρηση στη διάγνωση και την έναρξη της ανοσοκατασταλτικής αγωγής συνδέονται με πτωχή πρόγνωση. Αντίθετα, η ταχεία και έγκαιρη έναρξη αγωγής φαίνεται να ανακόπτει την εξέλιξη της νόσου και πιθανώς να μειώνει την ανάγκη για μεταμόσχευση (44, 57).

Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι τα αντικειμενικά ευρήματα ποικίλλουν και εξαρτώνται από το στάδιο της νόσου. Μπορεί να απουσιάζουν τελείως ή να διαπιστώνονται σημεία χρόνιας ηπατοπάθειας ή κίρρωσης και πυλαίας υπέρτασης.

Σημειώνεται ότι ανεξάρτητα από τον τρόπο εκδήλωσης της νόσου, σχεδόν 1/3 των ασθενών είναι ήδη κίρρωτικοί κατά τη στιγμή της διάγνωσης (39, 152), γεγονός που υποδηλώνει μακρό διάστημα υποκλινικής νόσησης. Η παρουσία κίρρωσης κατά τη διάγνωση αποτελεί ανεξάρτητο δυσμενή

προγνωστικό παράγοντα (153). Λόγω της μεγάλης ετερογένειας των κλινικών εκδηλώσεων κατά την εμφάνισή της, όλοι οι ασθενείς με μακρά ή υποτροπιάζουσα ηπατική νόσο θα πρέπει να θεωρούνται ύποπτοι για ΑΗ έως τον πλήρη αποκλεισμό της.

Στο 20% περίπου των ασθενών με ΑΗ συνυπάρχει και κάποιο άλλο αυτοάνοσο νόσημα ή αναπτύσσεται στη διάρκεια της παρακολούθησης (154-158). Έτσι, έχει περιγραφεί συνύπαρξη ΑΗ με αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα (η συχνότερη συνύπαρξη), λεύκη, διαβήτη, ελκώδη κολίτιδα, σύνδρομο Sjögren και κοιλιοκάκη (πίνακας 3). Επιπλέον, θετικό οικογενειακό ιστορικό για άλλα αυτοάνοσα νοσήματα ανευρίσκεται έως και στο 40% των περιπτώσεων (152, 157, 159).

Πίνακας 3. Εξωηπατικές εκδηλώσεις που συνυπάρχουν με ΑΗ (αυτοάνοσες ή ανοσομεσολαβούμενες).

Αυτοάνοση θυροειδίτιδα (Hashimoto)
Λεύκη
Ελκώδης κολίτιδα
Κοιλιοκάκη
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ)
Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Μικτή νόσος του συνδετικού ιστού
Υπερθυροειδισμός (νόσος Graves')
Υποδερματίτιδα
Σύνδρομο Sjögren (SS)
Σπειραματονεφρίτιδα
Ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα
Σύνδρομο αυτοάνοσης πολυενδοκρινοπάθειας τύπου Ι

Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία
Πολυμυοσίτιδα
Ραγοειδίτιδα
Μονονευρίτιδα
Σύνδρομο Sweet's
Δερματική πορφύρα

2.6 Φυσική ιστορία

Η φυσική ιστορία της νόσου είναι συνυφασμένη με την έγκαιρη χορήγηση της ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Οι σχετικές πληροφορίες προέρχονται από παλιότερες μελέτες, αφού η τελευταία εργασία με ομάδα ελέγχου που λάμβανε εικονικό φάρμακο δημοσιεύτηκε το 1980 (55). Φαίνεται λοιπόν ότι αν η ΑΗ παραμείνει χωρίς θεραπεία, η 5ετής και 10ετής επιβίωση αγγίζουν μόλις το 50% και 10% αντίστοιχα (160). Αντίθετα, η χορήγηση κορτικοστεροειδών σε συνδυασμό με ή χωρίς αζαθειοπρίνη (AZT) αποδείχτηκε σωτήρια, αφού συνοδεύεται από 10ετή επιβίωση μεταξύ 80% και 93% (37, 44, 161).

Οι επιπλοκές της ΑΗ δεν διαφέρουν από αυτές που αναπτύσσονται σε άλλες ηπατικές νόσους με προοδευτική πορεία. Έτσι, πολλοί από τους ασθενείς μπορεί να οδηγηθούν τελικά σε κίρρωση, ρήξη της αντιρρόπησης ή και ηπατοκυτταρικό καρκίνο (ΗΚΚ). Ο ΗΚΚ είναι σαφώς σπανιότερος στην ΑΗ συγκριτικά με τις άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες, αλλά ο κίνδυνος ανάπτυξής του είναι υπαρκτός (75) και θα πρέπει να υπάρχει σχετική επαγρύπνηση ιδίως στους κίρρωτικούς ασθενείς. Όπως προαναφέρθηκε, ένας στους τρεις ασθενείς κατά τη διάγνωση είναι ήδη κίρρωτικός. Συνεπώς απαιτείται αφενός

επιτήρηση για την ανάπτυξη ΗΚΚ και αφετέρου έλεγχος πιθανής πυλαίας υπέρτασης και των επιπλοκών αυτής.

Ένας ακόμη παράγοντας που συνδέεται με την εμφάνιση τοξικότητας και επιπλοκών είναι η μακρά χρήση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, που είναι ωστόσο απαραίτητη στην ΑΗ λόγω του κινδύνου των υποτροπών (162-167).

2.7 Αυτοάνοση ηπατίτιδα σε ειδικές καταστάσεις

2.7.1 Εγκυμοσύνη

Η παρουσία της νόσου δεν αποκλείει την επιτυχή κύηση σε γυναίκες με ΑΗ (168-171). Ωστόσο, η κύηση στην ΑΗ συνοδεύεται από ορισμένους κινδύνους για τη μητέρα και το έμβρυο, που οφείλονται είτε στην ίδια τη νόσο είτε στη φαρμακευτική αγωγή (172). Ακόμη, δεν αποκλείεται η εμφάνιση ΑΗ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ή μετά τον τοκετό σε προηγουμένως ασυμπτωματικές ή και πιθανότατα αδιάγνωστες ασθενείς. Το ενδεχόμενο λοιπόν της ΑΗ θα πρέπει να εξετάζεται σοβαρά σε γυναίκες με διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας και υπερσφαιριναιμία κατά τον κύηση ή μετά τον τοκετό.

Στην πλειοψηφία τους, οι ασθενείς με ΑΗ εμφανίζουν σημαντική ύφεση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, που ακολουθείται από έξαρση μετά τον τοκετό, πιθανότατα στα πλαίσια μεταβολής της ανοσιακής απάντησης από Th1 σε Th2 (173). Πιθανολογείται μάλιστα ότι τα υψηλά επίπεδα των οιστρογόνων ευθύνονται για τη μεταβολή στην ανοσιακή απόκριση και κατά συνέπεια τον περιορισμό της φλεγμονώδους δραστηριότητας. Αντίθετα, έξαρση της ΑΗ μπορεί να παρατηρηθεί ιδιαίτερα κατά το τελευταίο τρίμηνο

της κύησης ή το διάστημα που ακολουθεί τον τοκετό (174, 175). Έτσι, οι γυναίκες με ΑΗ χρειάζονται στενή παρακολούθηση κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Οι ήδη κίρρωτικές ασθενείς, εκτός του κινδύνου προωρότητας του εμβρύου, εμφανίζουν υψηλό κίνδυνο ρήξης της αντιρρόπησης και κίρρωσης ακόμη και μετά τον τοκετό και συνεπώς απαιτείται ιδιαίτερα στενή παρακολούθηση (171).

Τέλος, έχει περιγραφεί χειρότερη πρόγνωση στις κυήσεις των ασθενών με ΑΗ και αντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP και anti-Ro αυτοαντισωμάτων (176, 177).

2.7.2 Ηλικιωμένοι

Όπως προαναφέρθηκε, η εμφάνιση της ΑΗ σε ηλικίες μεγαλύτερες των 60-65 ετών δεν είναι σπάνια. Τα τελευταία χρόνια μάλιστα συνεχώς πληθαίνουν οι αναφορές για εμφάνιση της νόσου σε μεγαλύτερες ηλικίες, συμπεριλαμβανομένης έως και της όγδοης δεκαετίας της ζωής (178, 179).

Έτσι, η ΑΗ θα πρέπει να τίθεται στη διαφορική διάγνωση της διαταραχής της ηπατικής βιοχημείας, ανεξαρτήτως ηλικίας. Έχει βρεθεί μάλιστα ότι ο χρόνος έως τη διάγνωση της νόσου είναι σημαντικά αυξημένος στους ηλικιωμένους ασθενείς, καθώς συχνά η διάγνωση διαλάθει (180). Οι μεγαλύτεροι ασθενείς με ΑΗ είναι συχνά ασυμπτωματικοί και ήδη κίρρωτικοί κατά τη διάγνωση (64). Επιπλέον, σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 10 αναδρομικών μελετών, βρέθηκε ότι οι ηλικιωμένοι ασθενείς με ΑΗ φέρουν συνήθως το αλληλόμορφο HLA-DR4 και σπανιότερα το HLA-DR3, ενώ

αποδεδειγμένα σχετικά εύκολα από την ανοσοκατασταλτική αγωγή, χωρίς να εμφανίζουν υποτροπές (40, 64).

2.7.3 Μεταμόσχευση ήπατος

Ανάπτυξη ΑΗ έχει επίσης περιγραφεί μετά από μεταμόσχευση ήπατος τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες (181). Η έγκαιρη αναγνώριση της οντότητας αυτής είναι σημαντική για την αποφυγή απόρριψης του μοσχεύματος και την ανάγκη νέας μεταμόσχευσης. Η εμφάνιση της ΑΗ μετά τη μεταμόσχευση ήπατος μπορεί να έχει τη μορφή της καινούριας (*de novo*) ΑΗ σε ασθενείς που μεταμοσχεύτηκαν για άλλη αιτία ή την επανεμφάνιση της νόσου (*recurrence*) σε αυτούς που μεταμοσχεύτηκαν εξαιτίας ΑΗ (181).

Στην περίπτωση της *de novo* ΑΗ μετά από μεταμόσχευση ήπατος, οι ασθενείς εμφανίζουν τρανσαμινασαιμία, ιστολογικά ευρήματα χρόνιας ηπατίτιδας με λεμφοκυτταρικά και πλασματοκυτταρικά διηθήματα, σε συνδυασμό με αύξηση της IgG καθώς και υψηλούς τίτλους αυτοαντισωμάτων (182, 183). Κάποιες μελέτες αναγνωρίζουν ως παράγοντες κινδύνου το αρρεν φύλο του δότη, την αιτία για τη μεταμόσχευση ή την παρουσία διαφορετικών HLA μεταξύ δότη και λήπτη (183). Πιο πρόσφατα, το γυναικείο φύλο και η μεγάλη ηλικία του δότη του μοσχεύματος, σε συνδυασμό με τις υψηλές δόσεις tacrolimus ή MMF έχουν συνδυαστεί με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης *de novo* ΑΗ, σε αντίθεση με τους ασθενείς που λαμβάνουν κυκλοσπορίνη (184).

Όσον αφορά την επανεμφάνιση ΑΗ μετά τη μεταμόσχευση ήπατος, αυτή είναι συχνή και κυμαίνεται από 12-46% αναλόγως της μελέτης και των κριτηρίων που χρησιμοποιούνται για τον ορισμό της, (185, 186). Η διάγνωσή

της απαιτεί την προηγηθείσα μεταμόσχευση στο πλαίσιο ΑΗ, την αύξηση των τρανσαμινασών, της IgG ανοσοσφαιρίνης, την παρουσία αυτοαντισωμάτων (ANA, SMA ή anti-LKM), την παρουσία περιπυλαίας ηπατίτιδας στη βιοψία και την ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή (187). Έχουν περιγραφεί μάλιστα παράγοντες που συνδέονται με αυξημένη πιθανότητα επανεμφάνισης της ΑΗ μετά τη μεταμόσχευση ήπατος, μεταξύ των οποίων τα υψηλά επίπεδα τρανσαμινασών ή IgG και η αυξημένη νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα προ της μεταμόσχευσης (188).

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός δεν είναι πλήρως γνωστός. Βασική προϋπόθεση για τη διάγνωση και των δύο ανωτέρω μορφών αποτελεί ο αποκλεισμός της απόρριψης του μοσχεύματος και ο αποκλεισμός της δυσλειτουργίας του που οφείλεται σε άλλα αίτια.

2.7.4 Φάρμακα-Λοιμώσεις

Διάφορα φάρμακα έχουν επίσης ενοχοποιηθεί κατά καιρούς για την ανάπτυξη ΑΗ, αφού οι ενεργοί μεταβολίτες των φαρμάκων φαίνεται να προσδένονται σε κυτταρικές πρωτεΐνες, που στη συνέχεια αναγνωρίζονται ως νεοαντιγόνα (189). Στο 90% των περιπτώσεων το ενοχοποιούμενο φάρμακο είναι η μινοκυκλίνη και η νιτροφουραντοΐνη, αλλά υπάρχουν σχετικές αναφορές και για φυτικά σκευάσματα, βότανα ή άλλα φάρμακα, όπως η οξαλιπλάτινα, η μεθυλντόπα, η δικλοφενάκη, η ιντερφερόνη και η ατορβαστατίνη (190, 191).

Ακόμη, έχει αναφερθεί εμφάνιση ΑΗ σε ασθενείς που λαμβάνουν βιολογικούς παράγοντες και ιδιαίτερα ανταγωνιστές TNFa (192-195).

Η εμφάνιση της ΑΗ έχει συνδεθεί επίσης με λοίμωξη από διάφορους ιούς, μεταξύ των οποίων ο ιός της ηπατίτιδας Α, ο ιός Epstein-Barr (EBV), ο ερπητοϊός τύπου 6 (HHV-6) και ο ιός της ιλαράς. Σε κάθε περίπτωση η εμφάνιση τρανσαμινασαιμίας μετά την αποδρομή της λοίμωξης θα πρέπει να διερευνάται προς την κατεύθυνση της ΑΗ (181, 196, 197).

2.8 Εργαστηριακά ευρήματα

Η ΑΗ χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ηπατικής βιοχημείας, με προεξάρχουσα την αύξηση των τρανσαμινασών. Η τρανσαμινασαιμία μπορεί να κυμαίνεται από ελαφρώς πάνω από το φυσιολογικό όριο (upper limit normal- ULN) έως και αύξηση των τιμών αυτών πενήντα φορές περισσότερο από τις φυσιολογικές (50xULN). Παρόμοια αύξηση μπορεί να εμφανίζουν οι τιμές της χολερυθρίνης (38, 44-47).

Σπανιότερα παρατηρείται αύξηση των χολοστατικών ενζύμων, της γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάσης (gammaglutamyl transpeptidase -γGT) και της αλκαλικής φωσφατάσης (alkaline phosphatase- ALP). Σε ασθενείς με αύξηση των χολοστατικών ενζύμων, θα πρέπει να αποκλείονται εξωηπατική απόφραξη, ιογενείς ηπατίτιδες, φαρμακευτική ηπατίτιδα, ΠΧΧ και πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ). Ωστόσο, αύξηση μόνο της γGT σε συνδυασμό με τις τρανσαμινασαιμίες, όχι μόνο δεν αποκλείει τη νόσο,

αλλά έχει περιγραφεί να αποτελεί και ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της ανταπόκρισης στη θεραπεία (198).

Τα επίπεδα της βιοχημικής δραστηριότητας δεν αντανakλούν πάντοτε το βαθμό της βλάβης στη βιοψία ήπατος (44). Έτσι, μπορεί να παρατηρηθεί εκσεσημασμένη αύξηση των τρανσαμινασών χωρίς να συνοδεύεται από αντίστοιχη ιστολογική δραστηριότητα. Από την άλλη πλευρά φυσιολογικές τρανσαμινάσες δεν αποκλείουν την ιστολογικά ενεργή νόσο, γεγονός που μπορεί να επιφέρει καθυστέρηση στη διάγνωση.

Χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΑΗ αποτελεί η παρουσία πολυκλωνικής υπερσφαιριναιμίας, με κυρίαρχη αύξηση των γάμμα σφαιρινων και ιδίως του IgG κλάσματος (45-47). Σημειώνεται ότι σε ποσοστό 15-25% και κυρίως στα άκρα των ηλικιών, δηλαδή σε παιδιά και υπερήλικες, η τιμή της IgG μπορεί να είναι φυσιολογική (66, 149, 199). Έτσι, η φυσιολογική τιμή τρανσαμινασών, IgG ή χολερυθρίνης, δεν αποκλείει τη διάγνωση της νόσου. Ένα άλλο συχνό εργαστηριακό εύρημα αποτελεί η χαμηλή τιμή του C4 κλάσματος του συμπληρώματος στον ορό.

Ακρογωνιαίο λίθο για τη διάγνωση της ΑΗ αποτελεί η ανίχνευση αυτοαντισωμάτων (200, 201). Η αναγκαιότητά τους για τη διάγνωση γίνεται εμφανής και από το γεγονός ότι όλα τα συστήματα κριτηρίων χρησιμοποιούν την παρουσία ANA, SMA, anti-LKM1, anti-SLA/LP στη διάγνωση (45-47). Η παρουσία anti-LKM1 χαρακτηρίζει την ΑΗ-2 και τη διαχωρίζει από την ΑΗ-1. Η ταυτόχρονη συνύπαρξη ANA, SMA και anti-LKM1 δεν αποκλείεται σε ασθενείς με κλινικό φαινότυπο ΑΗ -2. Άλλα αυτοαντισώματα που παρατηρούνται είναι τα anti-LC1, τα αντισώματα έναντι ινιδίων ακτίνης (anti-

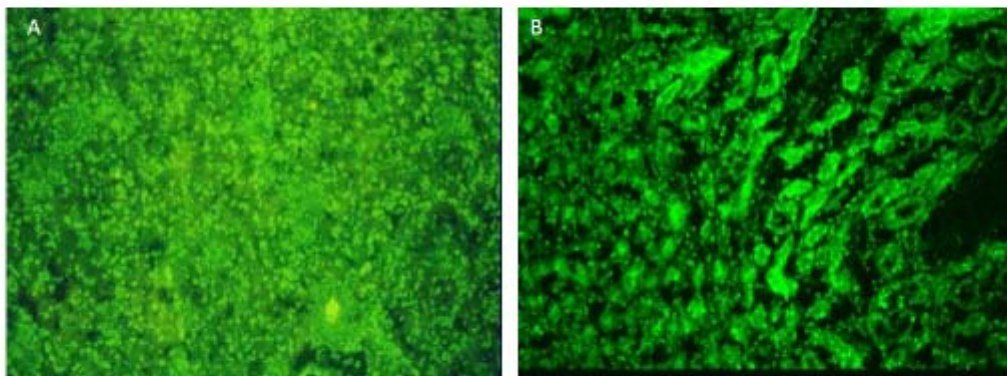
filamentous actin) και α-ακτινίνης (anti- α -actinin) καθώς και τα αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA).

2.9 Αυτοαντιγόνα και αυτοαντισώματα στην ΑΗ-1

Στην ΑΗ -1 ανευρίσκονται συνηθέστερα ANA, SMA, anti-F-actin, anti-actinin, ANCA, anti-SLA/LP και anti-ASGPR (181, 202-204).

2.9.1 Αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)

Η παρουσία ANA είναι γνωστή στους ασθενείς με ΑΗ από παλιά και ευθύνεται για την αρχική της ονομασία (λυκοειδής ηπατίτιδα) (53). Ανιχνεύονται με την τεχνική του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) σε κατεψυγμένες τομές ήπατος, νεφρών και στομάχου αρουραίου (εικόνα 8) και σε κυτταρική σειρά λαρυγγικού καρκινώματος (Her2) (201).



Εικόνα 8: Παρουσία ANA στο ήπαρ (A) και (B) το νεφρό (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

Ο φθορισμός σε υπόστρωμα Her2 παρέχει υψηλή ευαισθησία και επιπλέον τη δυνατότητα χαρακτηρισμού του πυρηνικού προτύπου. Στην ΑΗ ο φθορισμός είναι συνήθως διάχυτος (homogenous) ή σπανιότερα λεπτός (fine) ή αδρός σπικτός (coarse speckled). Ωστόσο, τα ANA σε υπόστρωμα Her2 δεν χρησιμοποιούνται πλέον ως μέθοδος διαλογής (screening), αφού αυξάνουν τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα (44).

Στους στόχους των ANA που έχουν περιγραφεί γενικά περιλαμβάνονται η μονή και διπλή έλικα του DNA, μικρές νουκλεοπρωτεΐνες (sn-RNPs), κεντρομερίδια, ιστόνες, λαμινίνη και κυκλίνη-A, χωρίς να έχει περιγραφεί ειδικότητα κάποιου για την ΑΗ (205). Τίτλοι ANA $\geq 1:40$ σε ενήλικες και $\geq 1:20$ σε παιδιά θεωρούνται θετικοί.

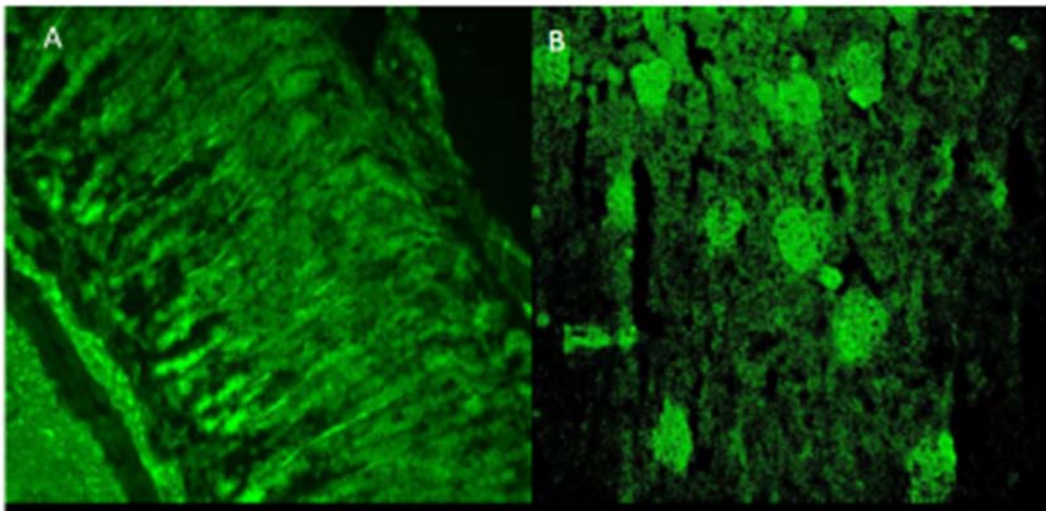
2.9.2 Αντισώματα έναντι λείων μυικών ινών (SMA)

Τα SMA ανιχνεύονται επίσης με IIF σε τομές ή πατος, νεφρών και στομάχου αρουραίου (201, 206). Στο νεφρό ο φθορισμός αφορά στα αγγεία (Vessels-V), αλλά μπορεί να περιλαμβάνει και τα σπειράματα (Glomeruli-G) ή τα σωληνάρια (Tubuli-T). Συνήθως στην ΑΗ παρατηρείται φθορισμός VG ή VGT, χωρίς όμως να είναι αποκλειστικό εύρημα της συγκεκριμένης νόσου (207). Στο στομάχι αναδεινύεται φθορισμός τύπου ινιδίων της μυικής στιβάδας (εικόνα 9).

Οι πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, όπως η ακτίνη, η τροπονίνη, η βιμεντίνη και η τροπομοσίνη αποτελούν αντιγόνα-στόχους των SMA, ενώ στην ΑΗ-1 τα SMA εμφανίζουν ειδικότητα κατά της f-ακτίνης (208-210).

Τίτλοι SMA πάνω $\geq 1:40$ στους ενήλικες και $\geq 1:20$ στα παιδιά θεωρούνται θετικοί (85). Παρόλα αυτά σε χαμηλούς τίτλους τα παραπάνω αντισώματα ανευρίσκονται και σε ασθενείς με οξεία ιογενή ηπατίτιδα A, B ή C ή χρόνια ηπατίτιδα B ή C, αλλά χωρίς ειδικότητα των SMA για την f-ακτίνη.

Κατά τη διάρκεια της ανοσοκασταλτικής αγωγής μπορεί να ελαττώνεται ο τίτλος των ANA και SMA (211), χωρίς απαραίτητα να αποτελούν προγνωστικό δείκτη παρατεταμένης ύφεσης μετά τη διακοπή της αγωγής. Από την άλλη, οι τίτλοι των αυτοαντισωμάτων προ της μεταμόσχευσης δε φαίνεται να σχετίζονται με την πιθανότητα υποτροπής της νόσου σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση ήπατος (212).



Εικόνα 9: Εικόνα SMA στο στομάχι (A) και (B) στο νεφρό (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

2.9.3 Αντισώματα έναντι διαλυτού αντιγόνου ήπατος-παγκρέατος (anti-SLA/LP)

Τα anti-SLA/LP αποτελούν τα μόνα αυτοαντισώματα με μεγάλη ειδικότητα και διαγνωστική αξία για την ΑΗ (44). Ανευρίσκονται σε ποσοστό 10-30% των ασθενών με τη νόσο, συχνά σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα. Σε αρκετές περιπτώσεις αποτελούν το μοναδικό αυτοαντίσωμα που ανιχνεύεται στον ορό των ασθενών. Αυτό αποδεικνύεται ιδιαίτερα χρήσιμο σε περιπτώσεις κρυφιγενούς κίρρωσης, όπου απουσιάζουν τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα και ο μοναδικός δείκτης ΑΗ είναι τα anti-SLA/LP.

Το αντιγόνο-στόχος τους που είναι μια συνθετάση (S) για τη μετατροπή του O-phosphoseryl-tRNA σε selenocysteinyI-tRNA (Sec) και συνεπώς ο ορθός όρος είναι SepSecS (213, 214). Η γνώση του επέτρεψε τα τελευταία χρόνια τη δημιουργία ευαίσθητων και αξιόπιστων μεθόδων μεθόδων για την ανίχνευσή τους, όπως η ανοσοενζυμική μέθοδος (Enzyme-linked Immunosorbent Assay- ELISA) και η ανοσοαποτύπωση. Τα anti-SLA/LP διαπιστώνονται με ενζυμικές ή ραδιοανοσολογικές μεθόδους και όχι με τη μέθοδο του IIF (215). Αναλυτικά τα anti-SLA/LP περιγράφονται στην παράγραφο 5.1.

2.9.4 Αντισώματα έναντι του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA)

Πρόκειται για αντισώματα που ανιχνεύονται με τη μέθοδο του IIF ή με ELISA. Στην περίπτωση του IIF ως υπόστρωμα χρησιμοποιούνται

ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα που έχουν μονιμοποιηθεί σε αιθανόλη. Διακρίνονται δύο τύποι φθορισμού, ο διάχυτος ή κοκκιώδης φθορισμός στο κυτταρόπλασμα (c-ANCA) και ο περιπυρηνικός φθορισμός (p-ANCA) με διαφορετικό αντιγόνο-στόχο στην κάθε περίπτωση. Τα c-ANCA στρέφονται έναντι της πρωτεΐνης-3, ενώ τα p-ANCA έναντι της μυελοϋπεροξειδάσης. Έτσι, έχουν αναπτυχθεί αντίστοιχες εμπορικά διαθέσιμες ELISA για την ανίχνευσή τους (201).

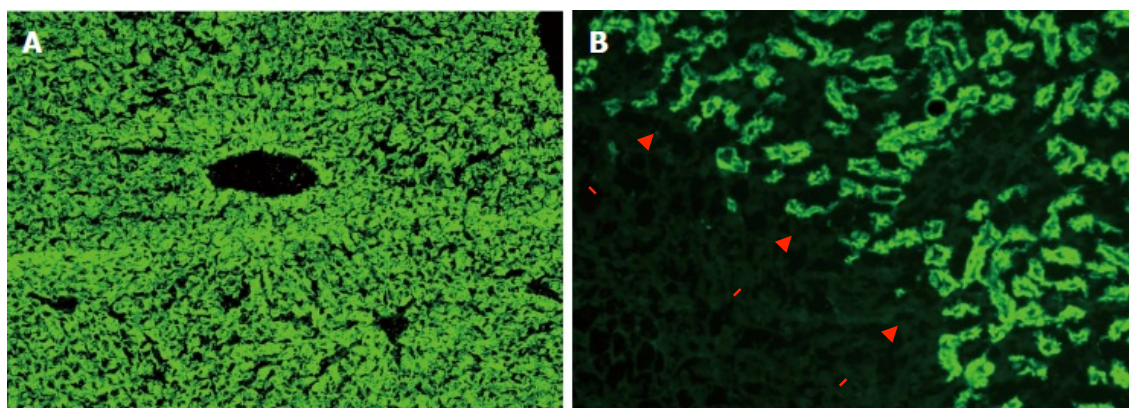
Αυξημένοι τίτλοι p-ANCA ανευρίσκονται κλασικά στον ορό ασθενών με ΠΣΧ ή/ και με ΙΦΕΝ. Περιγράφονται ωστόσο και σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με ΑΗ-1 (216-218) και μάλιστα η παρουσία τους συνδέεται με δυσμενέστερη πρόγνωση. Ο μοριακός τους στόχος πιθανότατα εντοπίζεται στην πυρηνική μεμβράνη γι' αυτό και η ονομασία p-ANNA (perinuclear anti-antineutrophil nuclear antibodies) θεωρείται από αρκετούς συγγραφείς καταλληλότερη (219, 220).

2.10 Αυτοαντιγόνα και αυτοαντισώματα στην ΑΗ-2

2.10.1 Αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος- νεφρού τύπου 1 (anti-LKM1)

Τα anti-LKM αυτοαντισώματα διακρίνονται σε τρεις τύπους, τους 1-3. Τα anti-LKM1 είναι τα πλέον χαρακτηριστικά αντισώματα που ανιχνεύονται στην ΑΗ-2 (221).

Ανιχνεύονται με την τεχνική του IIF ή και με άλλες μεθόδους, όπως η ELISA και η ανοσοαποτύπωση. Πρωτοπεριγράφηκαν από τους Rizzetto και συν με τη χρήση IIF σε κατεψυγμένες τομές ήπατος- νεφρών αρουραίων (222). Το πρότυπο του φθορισμού χαρακτηρίζεται στο μεν ήπαρ από την παρουσία διάχυτου θετικού σήματος στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων, ενώ στο νεφρό από αποκλειστική αντιδραστικότητα έναντι του P3 τμήματος των εγγύς νεφρικών σωληναρίων (εικόνα 10). Η διάκριση πρέπει να γίνει από τα αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA) όπου φθορίζουν τόσο το εγγύς όσο και το άπω νεφρικό σωληνάριο (εικόνα 13).



Εικόνα 10: Χαρακτηριστικό πρότυπο φθορισμού των anti-LKM στο ήπαρ (A) και το νεφρό (B), όπου με το κόκκινο βέλος αναδεικνύεται η παρουσία borderline (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

Μείζον αυτοαντιγόνο-στόχος των anti-LKM1 είναι το κυτόχρωμα CYP2D6 (223). Έχει δειχθεί ότι τα αντισώματα αυτά αναστέλλουν τη δραστικότητα του CYP2D6 in vitro αλλά όχι in vivo. Η χαρτογράφηση των επιτόπων του CYP2D6 ανέδειξε γραμμικούς επίτοπους που αναγνωρίζονται από την

πλειοψηφία των ασθενών με AH-2. Δεν αποκλείεται ωστόσο το ενδεχόμενο της ύπαρξης διαμορφωτικών επιτόπων (98, 112, 113, 115).

Ο ρόλος των anti-LKM1 στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Πιθανολογείται ότι εμπλέκονται διάφοροι μηχανισμοί, όπως η μοριακή μίμηση, η χημική τροποποίηση «ίδιων» πρωτεϊνών και η διασταυρούμενη απάντηση σε διαφορετικά αυτοαντιγόνα (42, 89).

Παρόμοια αντισώματα ανιχνεύονται σε μικρό ποσοστό (7-10%) ασθενών με χρόνια ηπατίτιδα C (224-226) και το αυτοαντιγόνο-στόχος φαίνεται να είναι επίσης το CYP2D6 ή κατά άλλους το CYP2E1 ή το CYP3A4.

Τα αυτοαντισώματα anti-LKM2, των οποίων αντιγόνο-στόχος είναι το CYP2C9 ανιχνεύονται σε περιπτώσεις ασθενών με φαρμακευτική ηπατίτιδα από πιενλικό οξύ (227).

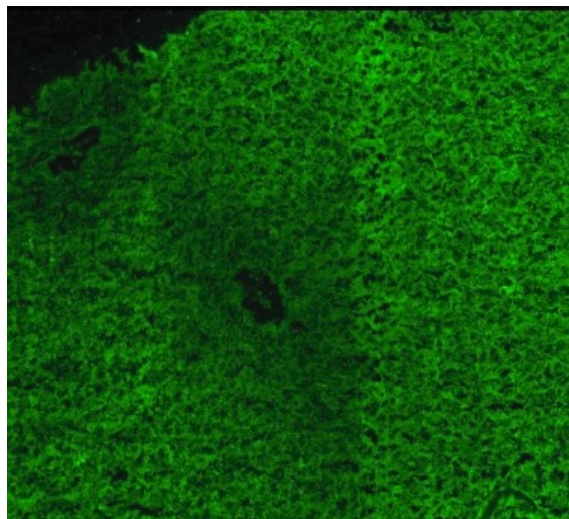
Τα anti-LKM3 έχουν ως αντιγόνο-στόχο την οικογένεια 1 των UDP-γλυκουρονικών τρανσφερασών (UGT1, με μοριακό βάρος 55kDa) και μπορεί να δώσουν θετικό σήμα στον ανοσοφθορισμό σε ιστό παγκρέατος, θυρεοειδούς, επινεφριδίων και στομάχου (228-230). Ανιχνεύονται σε ασθενείς με AH και σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα από τον ιό της ηπατίτιδας δ (231, 232).

Η ανοσοαποτύπωση με χρήση εκχυλίσματος ηπατικών και νεφρικών μικροσωμίων δίνει τη δυνατότητα ανίχνευσης πρωτεϊνικής μπάντας στα 50kDa που αντιστοιχεί στο anti-LKM1 και στα 55kDa για το anti-LKM-3.

Τίτλοι anti-LKM1 στον IIF πάνω από $\geq 1:40$ στους ενήλικες και $\geq 1:10$ στα παιδιά θεωρούνται θετικοί.

2.10.2 Αντισώματα κατά κυτοσολίων ήπατος τύπου 1 (anti-LC1)

Τα anti-LC1 ανιχνεύονται με την τεχνική του IIF, καθώς και με διπλή ανοσοδιάχυση, ανοσοαποτύπωση ή ELISA έως και στο 30% ασθενών με ΑΗ-2 (233). Συχνά συνυπάρχουν με τα anti-LKM1 και τελικά στους μισούς από τους anti-LKM1(+) ασθενείς ανευρίσκεται επιπλέον anti-LC1. Από την άλλη, το anti-LC1 είναι το μοναδικό ανιχνευόμενο αυτοαντίσωμα σε ποσοστό 10% των ασθενών. Τα anti-LC1 είναι οργανοειδικά, αλλά όχι ειδικά του είδους αντισώματα. Το χαρακτηριστικό τους πρότυπο αφορά σε κυτταροπλασματικό φθορισμό των ηπατοκυττάρων, ιδιαίτερα στις περιπυλαίες περιοχές, ενώ σε αυτές γύρω από τις κεντρικές φλέβες ο φθορισμός διακόπτεται (εικόνα 11).



Εικόνα 11: Χαρακτηριστικό πρότυπο φθορισμού των anti-LC1, με διάχυτο κυτταροπλασματικό φθορισμό που φείδεται των κεντρικών φλεβών. Στη συγκεκριμένη περίπτωση δε συνυπάρχει anti-LKM1 (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

Όταν συνυπάρχει anti-LKM1 αντίσωμα, μπορεί αυτό να «καλύπτει» το anti-LC1 στον IIF και ο τελευταίος δεν επαρκεί για την ανάδειξή του. Σε αυτή την περίπτωση απαιτούνται άλλες μέθοδοι (ELISA, ανοσοαποτύπωση, ανοσοδιάχυση κτλ), για να το αναδείξουν.

Το αυτοαντιγόνο-στόχος, όπως προαναφέρθηκε είναι το ένζυμο φορμινινοτρανσφεράση της κυκλοαεδαμινάσης (FTCD) που εμπλέκεται στο μεταβολισμό του φυλικού οξέος (μοριακό βάρος 58-62 kDa). Θεωρείται οι οροί των ασθενών με AH αναγνωρίζουν διαμορφωτικούς μάλλον επιτόπους που αφορούν το FT τμήμα (αα 1-339) της πρωτεΐνης (234).

Οι τίτλοι των anti-LC-1 αυτοαντισωμάτων έχουν συσχετιστεί με τη βαρύτητα και την ενεργότητα της νόσου. Σημειώνεται ότι τίτλοι anti-LC-1 πάνω από $\geq 1:40$ στους ενήλικες και $\geq 1:10$ στα παιδιά θεωρούνται θετικοί.

2.11 Σύνδρομο αυτοάνοσης ενδοκриноπάθειας, καντιντίασης και εξωδερματικής δυστροφίας (APECED)

Μια ειδική μορφή AH απαντάται στο 10-20% των ασθενών με APECED (αυτοάνοση πολυενδοκриноπάθεια, καντιντίαση δέρματος και βλεννογόνων και εξωδερματική δυστροφία). Το νόσημα οφείλεται σε μετάλλαξη του αυτοάνοσου ρυθμιστικού γονιδίου AIRE και κληρονομείται κατά τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Φαίνεται πως υπάρχει γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των ασθενών με AH στα πλαίσια του συνδρόμου, που φέρουν τη μεταλλαγή στο γονίδιο AIRE και των υπολοίπων ασθενών με AH (105, 106, 235, 236).

Όπως και στην περίπτωση της AH-2, στον ορό των ασθενών με APECED διαπιστώνονται αντισώματα έναντι του CYP450 (181). Στον IIF διαπιστώνεται χαρακτηριστικά θετικό σήμα στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων γύρω από τις φλέβες, ενώ απουσιάζει το θετικό σήμα στα ιστικά παρασκευάσματα των νεφρών, σε αντίθεση δηλαδή με τα anti-LKM1 όπου υπάρχει διάχυτος κυτταροπλασματικός φθορισμός στο ήπαρ και θετικό σήμα στο νεφρό. Το ιδιαίτερο αυτό πρότυπο φθορισμού χαρακτηρίζει ένα αυτοαντίσωμα κατά των μικροσωμίων του ήπατος (liver microsomal antibody- anti-LM).

Τα αυτοαντιγόνα-στόχος των anti-LM πιστεύεται ότι είναι το CYP1A2, αν και έχει βρεθεί αντιδραστικότητα στην περίπτωση του APECED και έναντι άλλων ενζύμων του CYP450, όπως είναι το CYP2A6 και το CYP2B6 (105).

Σημειώνεται ακόμη ότι anti-LM μπορεί να ανιχνευθούν και στον ορό ασθενών με φαρμακευτική ηπατίτιδα, όπως για παράδειγμα μετά τη λήψη διυδραλαζίνης (237).

2.12 Προβλήματα στην ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων

Η μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των αποτελεσμάτων που προέρχονται από διαφορετικά εργαστήρια οφείλεται είτε στη χρήση διαφορετικών μεθόδων ή στην ίδια την εμπειρία του εργαστηρίου. Έτσι, η IAIHG έχει δημοσιεύσει σαφείς οδηγίες σχετικά με το πώς πρέπει να ελέγχονται τα αυτοαντισώματα, σε ποια υποστρώματα και πώς πρέπει να γίνεται η προετοιμασία τους (201).

Ως πρώτη γραμμή εξέταση για τα ANA, AMA, SMA, anti-LKM1, anti-LKM3 και anti-LC1 συστήνεται ο IIF σε πρόσφατες κατεψυγμένες τομές

αρουραίου. Αντίθετα η χρήση των Her2 κυττάρων δε συστήνεται πλέον ως εξέταση διαλογής για τα ANA, AMA, και SMA λόγω της μεγάλης συχνότητας ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων (44). Προσδιορίζονται ακόμη αναλυτικά συγκεκριμένος προσανατολισμός και πάχος του νεφρού, βέλτιστη συγκέντρωση των εξεταζόμενων ορών, επιλογή των μαρτύρων και της σημασμένης με φθόριο ουσίας.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι τίτλοι των αυτοαντισωμάτων υφίστανται μεγάλη διακύμανση κατά τη διάρκεια της πορείας της νόσου. Οι χαμηλοί τίτλοι δεν αποκλείουν τη διάγνωση. Από την άλλη πλευρά, υψηλοί τίτλοι αυτοαντισωμάτων, απουσία άλλων συμβατών ευρημάτων, δεν επιβάλλουν τη διάγνωση. Ακόμη, επί ισχυρής κλινικής υποψίας, το αρνητικό αποτέλεσμα, θα πρέπει να επαναλαμβάνεται.

Όσον αφορά τον τίτλο των αυτοαντισωμάτων στον IIF που λαμβάνεται ως θετικός στους ενήλικες, αυτός προσδιορίζεται στο 1:40. Ωστόσο, στα παιδιά, ηλικίας έως 18 ετών, πρακτικά, οποιοσδήποτε τίτλος θεωρείται θετικός. Τίτλοι 1:20 για τα ANA και τα SMA και μόλις 1:10 για τα anti-LKM1 ή τα anti-LC1 αξιολογούνται ως θετικοί. Έτσι, η ηλικία θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη τόσο κατά την εκτέλεση των διαγνωστικών τεχνικών όσο και κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, διαφορετικά η νόσος υποεκτιμάται (44).

2.13 Άλλα αυτοαντισώματα

Εκτός από τα προαναφερθέντα, διάφορα άλλα αυτοαντισώματα έχουν περιγραφεί στην Α Η. Σ' αυτά περιλαμβάνονται τα αντισώματα έναντι της μονής ή της διπλής έλικας του DNA, φωσφολιπιδίων και καρδιολιπίνης (238,

239), ιστονών, χρωματίνης, του κεντρομεριδίου, του κυκλικού κίτρουλλινιωμένου πεπτιδίου (anti-cyclic citrullinated peptides-anti-CCP), του υποδοχέα της ασιαλογλυκοπρωτεΐνης (anti-asialoglycoprotein receptor-anti-ASGPR), του Ro52, της α-ακτινίνης και τα AMA (240, 241).

Ο ASGPR είναι μια ηπατοειδική γλυκοπρωτεΐνη που ανευρίσκεται στη μεμβράνη των ηπατοκυττάρων (242-244). Αντισώματα έναντι αυτού ανιχνεύονται στο 88% των ασθενών με ΑΗ και των δύο τύπων και ενισχύουν τη διάγνωση της ΑΗ σε περιπτώσεις ασθενών που είναι αρνητικοί για τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα. Μάλιστα έχει υποστηριχθεί ότι ο τίτλος τους συνδέεται με την ενεργότητα της νόσου. Η ανίχνευσή τους όμως και σε ασθενείς με ΠΧΧ, χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες ή αλκοολική ηπατοπάθεια, αν και σε μικρότερη συχνότητα, περιορίζει σαφώς την ειδικότητά τους (242).

Η α-ακτινίνη είναι μια πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού που ανήκει στην ομάδα της f-ακτίνης και φαίνεται να αποτελεί στόχο των αυτοαντισωμάτων στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ) αλλά και στην ΑΗ (245). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα αντισώματα κατά της διπλής έλικας του DNA στη νεφρίτιδα του ΣΕΛ μπορεί να έχουν διασταυρούμενη αντίδραση με την α-ακτινίνη (246, 247). Στην ΑΗ έχουν βρεθεί αντισώματα κατά της α-ακτινίνης στο 40% των ασθενών και σε συνδυασμό με τα αντισώματα έναντι της f-ακτίνης φαίνεται να συνδέονται με σοβαρή νόσο κλινικά και ιστολογικά (246, 248).

Η ταυτόχρονη ανίχνευση αντισωμάτων κατά της α-ακτινίνης και της f-ακτίνης δεν είναι αποτέλεσμα διασταυρούμενης αντίδρασης. Πρόσφατα σε μια μεγάλη σειρά ασθενών με ΑΗ φάνηκε ότι η παρουσία αυτοαντισωμάτων

έναντι της α-ακτινίνης πριν την έναρξη θεραπείας αποτελεί δυσμενή προγνωστικό δείκτη της έκβασης της νόσου. Επιπλέον, τα αντισώματα έναντι της α-ακτινίνης μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία (245, 249). Ακόμη, αξιοσημείωτο είναι ότι ο επίτοπος των αντισωμάτων έναντι της f-ακτίνης εντοπίζεται στη θέση 350-375 από το καρβοξυτελικό άκρο της ανθρώπινης f-actin, που αντιστοιχεί στην περιοχή δέσμευσης της α-ακτινίνης (250).

Τα AMA (εικόνα 13) που αποτελούν το σημαντικότερο ορολογικό δείκτη για τη διάγνωση της ΠΧΧ, ανευρίσκονται επίσης στην ΑΗ (251). Η συχνότητά τους ποικίλει στις διάφορες μελέτες από 3,6-34%, με την υψηλότερη να καταγράφεται σε Ιάπωνες (252, 253). Η παρουσία των AMA δεν ισοδυναμεί απαραίτητα με την εξέλιξη σε χολοστατικό σύνδρομο ή την ανεύρεση στοιχείων ΠΧΧ στη βιοψία ήπατος (254).

2.14 Ιστολογική εικόνα

Η βιοψία ήπατος είναι απαραίτητη για την επιβεβαίωση της ΑΗ, όπως υποδεικνύεται από το γεγονός ότι περιλαμβάνεται στα κριτήρια για τη διάγνωσή της (46, 47). Είναι επίσης χρήσιμη για την παρακολούθηση της πορείας της νόσου, αφού παρέχει πληροφορίες για την ενεργότητα της νόσου, όσο και για την εκτίμηση της ηπατικής βλάβης και της ίνωσης (255). Ακόμη, όταν απουσιάζουν τα αυτοαντισώματα, απ οδεικνύεται σημαντικό εργαλείο για τη διάγνωσή της (256, 257). Τέλος, βοηθά στη διαφοροδιάγνωση από άλλα ηπατικά νοσήματα, την ανάδειξη εναλλακτικών μορφών με ΠΧΧ ή

ΠΣΧ και είναι απαραίτητη ακόμη και στις περιπτώσεις οξείας ηπατικής ανεπάρκειας (44, 57, 58, 150, 199, 258).

Η περιπυλαία ηπατίτιδα και η διαβρωτική νέκρωση αποτελούν τυπικά ιστολογικά ευρήματα, χωρίς όμως να είναι παθογνωμονικά της νόσου (259, 260). Χαρακτηριστικά διαπιστώνονται φλεγμονώδεις διηθήσεις των πυλαίων, που απαρτίζονται κυρίως από λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, και ιστοκύτταρα (εικόνα 12). Οι φλεγμονώδεις διηθήσεις επεκτείνονται στα λόβια, αλλά γενικά φείδονται των χοληφόρων (261). Ο βαθμός της πλασματοκυττάρωσης βοηθά στη διάκριση από άλλες νόσους, όπως ιογενείς ηπατίτιδες ή η ΠΧΧ (262, 263). Φαίνεται ακόμη να έχει και προγνωστική σημασία, αφού αυξημένα πλασματοκύτταρα στη βιοψία κατά τη χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής, συνδέονται με αυξημένη πιθανότητα υποτροπής μετά τη διακοπή της. Σημειώνεται ωστόσο ότι τα πλασματοκύτταρα μπορεί να απουσιάζουν στο 1/3 των περιπτώσεων και συνεπώς η απουσία τους δεν αποκλείει τη διάγνωση (199, 264)

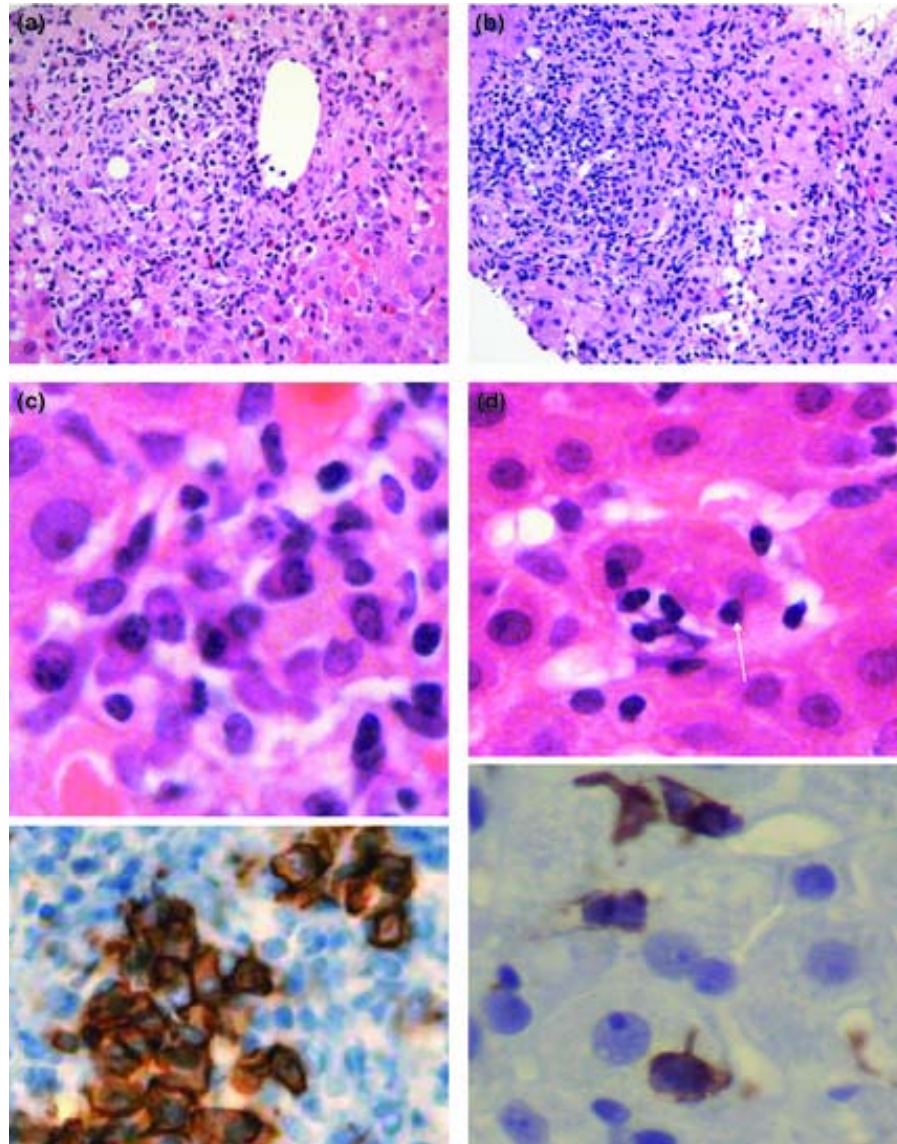
Η εμπειριπόληση και ο σχηματισμός ροζεττών των ηπατοκυττάρων αποτελούν επίσης χαρακτηριστικά ιστολογικά ευρήματα στην ΑΗ (38, 265). Ο όρος εμπειριπόληση (εν+περίπολος) περιγράφει τη στενή επαφή των λεμφοκυττάρων και την είσοδό τους στο κυτταρόπλασμα των ηπατοκυττάρων (εικόνα 12-d) (266, 267).

Συχνά επίσης ανευρίσκονται ηωσινόφιλα ακόμη και όταν δεν έχει προηγηθεί λήψη φαρμάκου καθώς και νέκρωση του ηπατικού παρεγχύματος (48, 268). Ίνωση μπορεί να είναι παρούσα με εξαίρεση τις

ήπιες και πρώιμες μορφές της νόσου, ενώ είναι εκτεταμένη σε ασθενείς με κίρρωση.

Δεδομένου ότι η νεκροφλεγμονώδης δραστηριότητα δε συμβαδίζει με τη βιοχημική δραστηριότητα της νόσου, η βιοψία μπορεί να έχει και προγνωστική σημασία (46, 47, 66, 152, 269). Στο 1/3 των ασθενών διαπιστώνεται κίρρωση ή γεφυροποιός νέκρωση κατά τη διάγνωση που συνδεόνται με πτωχή πρόγνωση (153).

Τα ιστολογικά ευρήματα στους ασθενείς με οξεία κεραυνοβόλο ηπατίτιδα διαφέρουν από αυτά των ασθενών με ύπουλη έναρξη και περιλαμβάνουν πανλοβιακή ή εκτεταμένη νέκρωση με κεντρολοβιακή συμμετοχή (150, 270). Πρόσφατα μάλιστα προτάθηκαν ειδικά κριτήρια για τη διάκριση της ΑΗ σε ασθενείς με οξεία ηπατική ανεπάρκεια όπου η ηπατική βιοψία κατέχει σημαντική θέση (271).



Εικόνα 12: Ιστολογικές αλλοιώσεις στην ΑΗ. Περιπυλαία φλεγμονή με λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και ηωσινόφιλα και διαβρωτική νέκρωση (a). Έντονη λεμφοκυττάρωση, διαβρωτική ηπατίτιδα και σχηματισμός ροζετών (b), συσσώρευση πλασματοκυττάρων (c) ιδιαίτερος εμφανής μετά από χρώση με CD138 (κάτω αριστερά). Εμπεριπόληση (κόκκινο βέλος) με συνήθη χρώση (d) και αμέσως κάτω μετά από χρώση με CD8+ (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

2.15 Εναλλακτικές μορφές ΑΗ

Ο όρος «σύνδρομο αλληλεπικάλυψης» έχει χρησιμοποιηθεί για ορισμένες μορφές ΑΗ που εμφανίζουν και κάποια από τα χαρακτηριστικά της ΠΧΧ ή της ΠΣΧ. Δεν υπάρχουν ευρέως αποδεκτά διεθνή κριτήρια για τη διάγνωσή τους, ενώ διατυπώνονται αρκετοί προβληματισμοί σχετικά με το αν αποτελούν πραγματικά ξεχωριστή οντότητα ή παραλλαγή της βασικής νόσου (71, 272). Έτσι, έχει επικρατήσει πλέον ο όρος «εναλλακτικές μορφές» ΑΗ (44, 57). Σημειώνεται ότι τα κριτήρια για τη διάγνωση της ΑΗ δεν βρίσκουν εφαρμογή στις περιπτώσεις των εναλλακτικών μορφών.

Συνήθως στις μορφές αυτές εμφανίζονται ταυτόχρονα συμπτώματα και βιοχημικοί ή /και ορολογικοί δείκτες και των δύο νόσων. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να εμφανίζονται αρχικά χαρακτηριστικά της μιας και στην πορεία να ακολουθεί εμφάνιση των χαρακτηριστικών της άλλης νοσολογικής οντότητας. Η παθογένεσή τους είναι επίσης ένα πεδίο που προς το παρόν παραμένει ασαφές.

2.15.1 Εναλλακτική μορφή ΑΗ και ΠΧΧ

Παρόλο που δεν υπάρχει συγκεκριμένη διαγνωστική προσέγγιση, ένα ποσοστό της τάξης του 10% των ασθενών με ΑΗ φαίνεται να συγκεντρώνουν επιπλέον χαρακτηριστικά ΠΧΧ. Για τη διάγνωση της εν λόγω παραλλαγής του νοσήματος, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως τα «κριτήρια των Παρισίων» (273), σύμφωνα με τα οποία, για τη *διάγνωση της ΠΧΧ* απαιτούνται 2 από τα ακόλουθα 3 κριτήρια:

1. ALP \geq 2 x ULN ή γ -GT \geq 5 x ULN
2. παρουσία AMA
3. βιοψία με ανάδειξη βλάβης στα χοληφόρα

Αντίστοιχα, για τη *διάγνωση της AH*, απαιτούνται 2 από τα ακόλουθα 3:

1. ALT \geq 5 x ULN
2. IgG \geq 2 x ULN ή παρουσία SMA
3. βιοψία με παρουσία διαβρωτικής νέκρωσης είτε περιπυλαία είτε γύρω από τα διαφραγμάτια.

Τα παραπάνω κριτήρια φαίνεται να έχουν ευαισθησία 92% και ειδικότητα 97% για τη διάγνωση του συνδρόμου αλληλεπικάλυσης AH/ΠΧΧ (274).

2.15.2 Εναλλακτική μορφή AH και ΠΣΧ

Η συνύπαρξη χαρακτηριστικών AH με αυτά της ΠΣΧ έχει περιγραφεί τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιά. Αν και απουσιάζουν τα σαφή κριτήρια για την εναλλακτική μορφή AH/ΠΣΧ, περιγράφεται σε ποσοστό 7-14% των περιπτώσεων AH (71).

Η κλασική μορφή της ΠΣΧ μπορεί να διαγνωστεί βάσει τυπικών χολαγγειογραφικών ευρημάτων (275). Σημειώνεται ωστόσο ότι η χρήση της μαγνητικής χολαγγειο-παγκρεατογραφίας (MRCP) μπορεί να αυξήσει τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα, αφού το ενδοηπατικό χοληφόρο δένδρο μπορεί να προσομοιάζει με ένα «σκληρυντικό» πρότυπο σε οποιαδήποτε χρόνια ηπατική νόσο όταν συνυπάρχει εκτεταμένη ίνωση. Η ΠΣΧ των μικρών

χοληφόρων μπορεί να συνυπάρχει σε ένα ποσοστό έως και 10% των ασθενών με ΑΗ (261). Έτσι, η διάγνωση της παραλλαγής ΑΗ/ΠΣΧ στηρίζεται στη συνύπαρξη χολαγγειογραφικών ή ιστολογικών ευρημάτων συμβατών με ΠΣΧ με ταυτόχρονα σαφή κλινικά, βιοχημικά, ορολογικά και ιστολογικά ευρήματα ΑΗ. Φαίνεται πως οι συγκεκριμένοι ασθενείς ανταποκρίνονται στην ανοσοκατασταλτική αγωγή (276, 277).

Μια ιδιαίτερη νοσολογική οντότητα αποτελεί η αυτοάνοση σκληρυντική χολαγγειίτιδα (Autoimmune Sclerosing Cholangitis-AISC), που έχει περιγραφεί από την ομάδα Mieli-Vergani (278). Αφορά σε παιδιά με ΑΗ, τα οποία εμφανίζουν ταυτόχρονα απεικονιστικούς χαρακτήρες σκληρυντικής χολαγγειίτιδας (278). Ωστόσο, η παρουσία συμβατών χολαγγειογραφικών ευρημάτων δεν επιβεβαιώθηκε προοπτικά σε ενήλικες ασθενείς, από τους οποίους απουσιάζουν βιοχημικά ευρήματα χολόστασης. Συνεπώς, δεν απαιτείται διενέργεια MRCP σε όσους εμφανίζονται με ΑΗ στην ενήλικη ζωή, παρά μόνο σε νεαρούς ενήλικες που δεν ανταποκρίνονται επαρκώς στην ανοσοκατασταλτική αγωγή και εμφανίζουν επιπλέον χολόσταση (44).

2.15.3 IgG-4 σχετιζόμενη ΑΗ

Η IgG4-σχετιζόμενη ΑΗ, αποτελεί επίσης μια αμφιλεγόμενη νοσολογική οντότητα. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και πληθαίνουν οι αναφορές της IgG4-σχετιζόμενης νόσου σε διάφορα συστήματα (279). Στο ήπαρ έχει περιγραφεί η IgG4-σχετιζόμενη σκληρυντική χολαγγειίτιδα σε ασθενείς με χολόσταση και ίκτερο (280, 281).

Όσον αφορά την IgG4-σχετιζόμενη ΑΗ, έχει αναφερθεί σε ασθενείς από την Ιαπωνία, αύξηση της IgG4 του ορού, παρουσία λεμφοπλασματοκυτταρικού διηθήματος περιπυλαία στη βιοψία ήπατος και ταχείας ανταπόκρισης στα κορτικοστεροειδή (282-285). Ωστόσο, έως ότου επιβεβαιωθεί και σε άλλα κέντρα, δεν είναι ακόμη σαφές αν πρόκειται για ειδική μορφή ΑΗ που σχετίζεται με IgG4 νόσο.

2.16 Διάγνωση της ΑΗ

Η διάγνωση της νόσου βασίζεται στην παρουσία αυξημένων τρανσαμινασών, αυξημένης IgG ανοσοσφαιρίνης, κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων και διαβρωτικής ηπατίτιδας στη βιοψία ήπατος. Προηγουμένως βέβαια θα πρέπει να αποκλειστούν άλλοι αιτιολογικοί παράγοντες (πίνακας 4). Πρακτικά η ΑΗ θα πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στη διαφορική διάγνωση κάθε χρόνιας ηπατοπάθειας ή κίρρωσης (204).

Πίνακας 4. Διαφορική διάγνωση ΑΗ (48)

- Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος
 - ΠΧΧ
 - ΠΣΧ
 - IgG4- σχετιζόμενη χολαγγειίτιδα
- Χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες
 - Χρόνια ηπατίτιδα Β με ή χωρίς παράγοντα δ
 - Χρόνια ηπατίτιδα C
- HIV σχετιζόμενη χολαγγειοπάθεια
- Αλκοολική νόσος του ήπατος
- Ηπατοπάθεια επαγόμενη από φάρμακα ή τοξίνες
- Κοκκιωματώδης ηπατίτιδα
- Αιμοχρωμάτωση
- Μη αλκοολική στεατοηπατίτιδα
- Ανεπάρκεια α1-αντιθρυψίνης
- Νόσος Wilson
- Συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος
- Κοιλιοκάκη

Τα κριτήρια για τη διάγνωση της νόσου που προτάθηκαν το 1993 περιλαμβάνουν κλινικές, εργαστηριακές και ιστολογικές παραμέτρους για τη διάκριση μεταξύ βέβαιης και πιθανής ΑΗ (45). Στο αναθεωρημένο σύστημα κριτηρίων της IAHG (πίνακας 5) οι διαφορές μεταξύ πιθανής και βέβαιης ΑΗ βασίζονται στο βαθμό της υπερσφαιριναιμίας, στα επίπεδα των αυτοαντισωμάτων και την έκθεση σε λοιμώδεις ή άλλους παράγοντες όπως το αλκοόλ και τα φάρμακα (46)

**Πίνακας 5. Διεθνή περιγραφικά κριτήρια για την
διάγνωση της ΑΗ (46)**

Σίγουρη ΑΗ	Πιθανή ΑΗ
Φυσιολογική α1 αντιθρυψίνη	Μερική ανεπάρκεια α1 αντιθρυψίνης
Φυσιολογικά επίπεδα σεουλοπλασμίνης	Μη διαγνωστικά επίπεδα σεουλοπλασμίνης/ χαλκού
Φυσιολογικά επίπεδα Fe, κορεσμού τρανσφερίνης & φερριτίνης	Μη διαγνωστικά επίπεδα Fe, κορεσμού τρανσφερίνης & φερριτίνης
Αρνητικός ιολογικός έλεγχος για ηπατίτιδες Α, Β & C	Αρνητικός ιολογικός έλεγχος για ηπατίτιδες Α, Β & C
Χρήση οινοπνεύματος <25 g/ημέρα	Χρήση οινοπνεύματος <50 g/ημέρα
Αποκλεισμός χρήσης ηπατοτοξικών παραγόντων	Αποκλεισμός χρήσης ηπατοτοξικών παραγόντων
Αύξηση κυρίως των AST/ALT, γ-σφαιρίνες ή IgG >1,5 ULN	Αύξηση κυρίως των AST/ALT, υπεργαμμασφαιριναιμία οποιοδήποτε βαθμού
ANA, SMA, anti-LKM1 ≥1:80 (ενήλικες) & ≥1:20 (παιδιά) και AMA (-)	ANA, SMA, anti-LKM1 ≥1:40 (ενήλικες) και AMA (-)
Άλλα αυτοαντισώματα	Άλλα αυτοαντισώματα
Ιστολογικές βλάβες ήπατος: - Μέτρια ή σοβαρή περιπυλαία ηπατίτιδα - Απουσία βλαβών των χοληφόρων, κοκκιωμάτων ή σημαντικών βλαβών υπέρ άλλης ηπατοπάθειας	Ιστολογικές βλάβες ήπατος: - Μέτρια ή σοβαρή περιπυλαία ηπατίτιδα - Απουσία βλαβών των χοληφόρων, κοκκιωμάτων ή σημαντικών βλαβών υπέρ άλλης ηπατοπάθειας

Αντίστοιχα, το τροποποιημένο βαθμονομημένο σύστημα κριτηρίων (πίνακας 6) δημιουργήθηκε για ερευνητικούς σκοπούς, ώστε να υπάρξει ομοιογένεια μεταξύ των διαφόρων μελετών (46). Στη συνέχεια όμως φάνηκε χρήσιμο και στην κλινική πράξη για την εκτίμηση ασθενών με άτυπα χαρακτηριστικά της νόσου. Η παρουσία anti-ASGPR, anti-LC-1, anti-SLA/LP και p-ANNA είναι ενισχυτική της διάγνωσης, ενώ η χολόσταση με τα αντίστοιχα ιστολογικά ευρήματα απομακρύνουν από αυτή.

Πίνακας 6: Αναθεωρημένο σύστημα κριτηρίων της IAHG για τη διάγνωση της ΑΗ (46)

Παράμετρος	Βαθμοί
Θήλυ Φύλο	+2
Πηλίκιο ALP:AST (ή ALT)	
>3	-2
1,5-3	0
<1,5	+2
Σφαιρίνες (γ ή IgG)	
>2 xULN	+3
1,5-2 xULN	+2
1-1,5 xULN	+1
<1 xULN	0
ANA, SMA, anti-LKM1	
1>80	+3
1:80	+2
1:40	+1
1<40	0
AMA Θετικά	-4
Ορολογικοί δείκτες ιογενούς ηπατίτιδας	
Θετικοί	-3
Αρνητικοί	+3
Ιστορικό λήψης ηπατοτοξικού φαρμάκου	
Θετικό	-4
Αρνητικό	+2
Κατανάλωση αλκοόλ	
<25g/ημέρα	+2
>60g/ημέρα	-2
Ιστολογικά ευρήματα	
Περιπυλαία ηπατίτιδα	+3
Πλασματοκυττάρωση/λεμφοκυττάρωση	+1
Ροζέττες ηπατοκυττάρων	+1
Κανένα από τα παραπάνω	-5
Αλλοιώσεις στα χοληφόρα	-3
Άτυπες αλλοιώσεις	-3
Άλλο αυτοάνοσο νόσημα	+2
Προαιρετικές παράμετροι	
HLA DR3 ή DR4	+1
Άλλα αυτοαντισώματα (anti-SLA/LP, ASGPR, actin, pANNA)	+2
Ανταπόκριση στη θεραπεία	
Πλήρης	+2
Υποτροπή	+3
<u>Προ θεραπείας</u>	
Πιθανή ΑΗ	10-15
Βέβαιη ΑΗ	>15
<u>Μετά την θεραπεία</u>	
Πιθανή ΑΗ	12-17
Βέβαιη ΑΗ	>17

Η ανταπόκριση στα κορτικοστεροειδή συνηγορεί επίσης υπέρ ΑΗ και συμπεριλαμβάνεται στο βαθμονομημένο σύστημα κριτηρίων. Προ θεραπείας η σίγουρη διάγνωση ΑΗ προϋποθέτει score 15, ενώ μετά τη θεραπεία 17. Αντίστοιχα score 10-15 προ θεραπείας και 12-17 μετά συγκεντρώνουν οι περιπτώσεις πιθανής ΑΗ. Όσον αφορά τα παιδιά, τα διαγνωστικά κριτήρια είναι κάπως διαφορετικά. Δεδομένου ότι στα υγιή παιδιά δεν ανευρίσκονται συνήθως αυτοαντισώματα, η παρουσία τους σε χαμηλό τίτλο 1:20 για τα ANA και μόλις 1:10 για τα anti-LKM1 είναι ταυτόσημη της διάγνωσης ΑΗ.

Εξαιτίας της πολυπλοκότητας των τροποποιημένων κριτηρίων, η IAIHG πρότεινε πιο πρόσφατα ένα απλοποιημένο σύστημα κριτηρίων προκειμένου να εφαρμοστεί εύκολα στην καθημερινή κλινική πράξη (47). Το νέο αυτό score λαμβάνει υπόψη τέσσερις μόνο παράγοντες, όπως η παρουσία αυτοαντισωμάτων, ο αποκλεισμός ιογενούς ηπατίτιδας, ο βαθμός της υπεργαμμασφαιριναιμίας και τα ιστολογικά ευρήματα (πίνακας 7). Στο συγκεκριμένο σύστημα, score ≥ 6 ισοδυναμεί με πιθανή, ενώ score ≥ 7 με βέβαιη ΑΗ.

Σε πρόσφατες μελέτες το απλοποιημένο score χαρακτηρίζεται από υψηλά ποσοστά ευαισθησίας (95%), ειδικότητας (90%) και ακρίβειας (92%) τουλάχιστον συγκρίσιμα με αυτά των προηγούμενων τροποποιημένων κριτηρίων (100%, 73% και 82% αντίστοιχα για τις περιπτώσεις προ θεραπείας) (286, 287). Εξάλλου σε μεγάλες σειρές ασθενών φάνηκε ότι και τα δύο διαγνωστικά συστήματα αποτελούν εξαιρετικό εργαλείο, αφού μπορούν να αποκλείσουν με ασφάλεια την ΑΗ σε ασθενείς με άλλες ηπατικές νόσους (288, 289).

Πίνακας 7. Απλοποιημένα κριτήρια για τη διάγνωση της ΑΗ (47)

Παράμετρος	Τιμή	Βαθμοί
Αυτοαντισώματα		
ANA ή SMA	≥1:40	1
	≥1:80	2 ^a
anti-LKM1 ή SLA/LP	≥1:40	2
	θετικά	2
IgG	>ULN	1
	>1,1xULN	2
Βιοψία ήπατος	Συμβατή με ΑΗ	1
	Τυπική για ΑΗ	2
Απουσία ιογενούς ηπατίτιδας		2
Πιθανή ΑΗ		≥ 6
Βέβαιη ΑΗ		≥ 7

^a Οι συνολικοί βαθμοί για τα αυτοαντισώματα δεν πρέπει να ξεπερνούν τους 2.

2.17 Θεραπεία ΑΗ

Στόχος της θεραπείας στην ΑΗ είναι η ταχεία επίτευξη πλήρους ύφεσης και η παρεμπόδιση της περαιτέρω εξέλιξής της για μεγάλο χρονικό διάστημα, με τη χρήση όσο το δυνατόν χαμηλότερων δόσεων φαρμάκων (44). Με εξαίρεση τις περιπτώσεις κεραυνοβόλου εμφάνισης και ανεξάρτητα από το βαθμό της ηπατικής βλάβης, η ΑΗ απαντά καλά στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Αναφέρονται μάλιστα ανταπόκρισης περίπου 80% (290, 291).

2.17.1 Κλασικά θεραπευτικά σχήματα

Ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του '70, τρεις μεγάλες τυχαίοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες έδειξαν τα οφέλη της ανοσοκατασταλτικής αγωγής σε ασθενείς με ΑΗ (56, 292, 293). Πιο συγκεκριμένα, φάνηκε ότι η χορήγηση κορτικοστεροειδών βελτιώνει την ηπατική βιοχημεία, μειώνει τα συμπτώματα και αυξάνει την επιβίωση. Η μονοθεραπεία με AZT δεν κατέστη δυνατό να επιφέρει ύφεση, αλλά ο συνδυασμός της με κορτικοστεροειδή και μάλιστα σε χαμηλότερες δόσεις ήταν επιτυχής (56, 165, 293). Έτσι, η θεραπεία με κορτικοστεροειδή μόνο ή σε συνδυασμό AZT προτείνεται να ξεκινά άμεσα με τη διάγνωση της νόσου. Και ποσοστό 65-80% των ασθενών φαίνεται να βελτιώνονται (44, 58).

Η αρχική προσέγγιση στη θεραπεία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα ιστολογικά ευρήματα. Εξ ορισμού πρέπει να λάβουν θεραπεία οι ασθενείς με διαβρωτική ηπατίτιδα, κίρρωση ή γεφυροποιό νέκρωση. Οπως έχει ήδη αναφερθεί τόσο οι τρανσαμινάσες όσο και τα επίπεδα των γ-σφαιρινών δε συμβαδίζουν απαραίτητα με τα ιστολογικά ευρήματα και κατά συνέπεια οι χαμηλές τιμές τους δεν πρέπει να αποτελούν ανασταλτικό παράγοντα της θεραπείας (44, 57, 58, 199, 293).

Μόνο σε ασθενείς με πολύ ήπια πυλαία φλεγμονή, μπορούν να λαμβάνονται υπόψη η παρουσία συμπτωμάτων ή τα επίπεδα των τρανσαμινασών και της IgG προκειμένου να ξεκινήσουν θεραπεία (294). Σε περιπτώσεις ήπιας ιστολογικής εικόνας και ασυμπτωματικούς ασθενείς πριν την έναρξη της θεραπείας θα πρέπει να σταθμίζονται τα πιθανά οφέλη αυτής με τις πιθανές παρενέργειες (44, 57).

Ορισμένοι ασθενείς παραμένουν σε ύφεση ακόμη και μετά τη διακοπή της ανοσοκατασταλτικής αγωγής, αλλά στην πλειοψηφία τους χρειάζονται παρατεταμένη θεραπεία συντήρησης.

Σαν γενικός κανόνας εφαρμόζεται η διατήρηση της ανοσοκαταστολής για δύο τουλάχιστον έτη μετά την επίτευξη της ύφεσης και εφόσον έχει προηγηθεί βιοψία ήπατος χωρίς ανάδειξη ιδιαίτερης εικόνας φλεγμονής (Hepatic Activity Index-HAI>3). Όταν διακοπεί η αγωγή, οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται στενά και να ελέγχεται τακτικά η ηπατική τους βιοχημεία, επειδή ο κίνδυνος της υποτροπής είναι μεγάλος. Μάλιστα έχει αναφερθεί υποτροπή της νόσου ακόμη και δέκα έτη μετά τη διακοπή της αγωγής (44).

2.17.2 Παρενέργειες

Οι συνηθέστερες παρενέργειες από την παρατεταμένη χρήση των κορτικοστεροειδών αφορούν στην εμφάνιση προσωπείου Cushing, οστεοπόρωσης, διαβήτη, καταρράκτη, υπέρτασης και ψύχωσης. Η παρουσία τους δεν καθιστά αναγκαία την άμεση διακοπή της αγωγής, αλλά απαιτείται στενή παρακολούθηση. Στο 13% των ασθενών οδηγεί σε μείωση της δόσης των φαρμάκων ή και διακοπή τους, κυρίως για αισθητικούς λόγους στην περίπτωση της παχυσαρκίας, προβλημάτων της σπονδυλικής στήλης λόγω της οστεοπενίας ή δυσκολίας στη ρύθμιση του σακχάρου .

Οι παρενέργειες της AZT επηρεάζουν το 10-20% των ασθενών που τη λαμβάνουν και αφορούν χολοστατική ηπατίτιδα, φλεβοαποφρακτική νόσο, παγκρεατίτιδα, γαστρεντερικές διαταραχές και καταστολή του μυελού.

Σημαντικότερη παρενέργεια της AZT είναι οι κυτταροπενίες και ο κίνδυνος της εμφάνισής τους συνδέεται με τη χαμηλή συγκέντρωση μεθυλοτρανσφεράσης της θειοπουρίνης (TPMT) των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Πολυμορφισμοί του γονιδίου που κωδικοποιεί την TPMT ανευρίσκονται σε 0,3-0,5% του πληθυσμού, αλλά όχι απαραίτητα σε όλους όσοι εμφανίζουν καταστολή του μυελού (295, 296). Έλεγχος της παρουσίας πολυμορφισμών ή μέτρηση της δραστικότητας του ενζύμου μπορεί να προηγείται της έναρξης της αγωγής (199). Έτσι, η χορήγηση AZT θα πρέπει να αποφεύγεται σε ομοζυγώτες, ενώ οι ετεροζυγώτες, μπορεί να ξεκινήσουν με μειωμένες δόσεις σε συνδυασμό με στενή παρακολούθηση για εμφάνιση πιθανής λευκοπενίας.

Η ανάπτυξη κακοήθειας μπορεί να συνδέεται επίσης με την παρατεταμένη χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής, αν και οι μελέτες δείχνουν μόλις 3% πιθανότητα ανάπτυξης εξωηπατικής νεοπλασίας για κάθε 10 έτη αγωγής (162). Οι περισσότερες αναφορές προέρχονται από ασθενείς που λάμβαναν AZT, για αυτό και η χρήση της θα πρέπει να γίνεται με σύνεση.

2.17.3 Νεότερα σχήματα

Παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία των ασθενών ανταποκρίνονται στην ανοσοκατασταλτική αγωγή με κορτικοστεροειδή ή/και AZT, ένα ποσοστό 15-20% είτε δεν ανταποκρίνεται είτε εμφανίζουν δυσανεξία στην AZT (44). Μια συστηματική ανασκόπηση 11 τυχαιοποιημένων μελετών ανέδειξε ότι το 43% των ασθενών δεν ανταποκρίνονται στην «κλασική» θεραπευτική αγωγή (297), ενώ αν εφαρμοστούν πιο αυστηρά κριτήρια για την ορισμό της ανταπόκρισης,

το ποσοστό των ασθενών που ανταποκρίνονται είναι ακόμη πιο χαμηλό (23%) (298). Συνεπώς, φαίνεται ότι το πρόβλημα της θεραπείας στους ασθενείς με ΑΗ δεν έχει ακόμη λυθεί.

Σε περιπτώσεις όπου η κλασική θεραπεία αποτυγχάνει, δεν είναι καλά ανεκτή ή δεν υπάρχει συμμόρφωση των ασθενών, έχει προταθεί η χρήση εναλλακτικών παραγόντων (299). Οι σχετικές μελέτες περιλαμβάνουν μικρό αριθμό ασθενών και τελικά η απόφαση για τη χορήγηση εναλλακτικής ανοσοκατασταλτικής αγωγής εξαρτάται από την εμπειρία του κέντρου (300). Οι θεραπείες που έχουν προταθεί είναι το mycophenolate mophetil (MMF), το tacrolimus, η κυκλοσπορίνη, η μεθοτρεξάτη, η κυκλοφωσφαμίδη, το ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDCA), οι anti-TNF παράγοντες και το rituximab. Αν και φαίνεται από τις διάφορες μελέτες να προκύπτουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, εντούτοις, ακόμη δεν υπάρχει κάποιος θεραπευτικός αλγόριθμος για τη χρήση τους.

Τελευταία ολοένα και πληθαίνουν τα δεδομένα για τη χρήση του MMF ως θεραπεία διασώσης αλλά και ως πρώτης γραμμής θεραπεία στην ΑΗ (198, 301). Το MMF ανταγωνίζεται τη δράση των πουρινών και αναστέλλει εκλεκτικά τον πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων, χωρίς να εξαρτάται από τη δράση του TPMT. Στις συνήθεις παρενέργειες του συγκαταλέγονται η κεφαλαλγία, διάρροια, ναυτία, ζάλη, τριχόπτωση και ουδετεροπενία. Στην κατηγορία των ασθενών που δεν ανταποκρίνονται ή δεν ανέχονται καλώς την AZT, το MMF φαίνεται να αποτελεί σε συνδυασμό με τα κορτικοστεροειδή τη θεραπεία εκλογής (302).

Anti-TNF παράγοντες, όπως το infliximab, έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες ανοσομεσολαβούμενες ασθένειες, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η ψωρίαση ή η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, ενώ υπάρχουν και κάποιες αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία για την αποτελεσματικότητά του σε ανθεκτικές μορφές ΑΗ (303). Η χρήση του στην ΑΗ ωστόσο φαίνεται να περιορίζεται, αφού έχει συνδεθεί με de novo εμφάνιση ΑΗ σε ασθενείς που το λάμβαναν στα πλαίσια θεραπείας άλλης νόσου (192).

Το rituximab (anti-CD20) περιγράφεται επίσης ως δραστικό σε περιπτώσεις ανθεκτικής ΑΗ, χωρίς αυτό να βασίζεται σε μεγάλες μελέτες (304). Σημειώνεται, ωστόσο, ότι η χρήση των βιολογικών παραγόντων συχνά συνδυάζεται από εμφάνιση σοβαρών λοιμώξεων, γεγονός που την περιορίζει (300). Οι αναστολείς της καλσινευρίνης, κυκλοσπορίνη (305) και tacrolimus (306) έχουν επίσης αναφερθεί για δύσκολα θεραπευόμενες περιπτώσεις ασθενών, αλλά και πάλι τα δεδομένα για τη χρήση τους δεν υποστηρίζονται από μεγάλες σειρές ασθενών (307).

Η βουδεσονίδη, ένα κορτικοστεροειδές με μεγάλη συγγένεια για τον υποδοχέα των γλυκοκορτικοειδών, ταχύτατο και σχεδόν αποκλειστικό (95%) ηπατικό μεταβολισμό έχει προταθεί ως εναλλακτική λύση αντί της πρεδνιζόνης ή της πρεδνιζολόνης (308). Παρά το γεγονός ότι οι πρώτες αναφορές ήταν αποθαρρυντικές για τη χρήση της, πρόσφατα περιγράφηκε σε ικανό αριθμό μη κίρρωτικών ασθενών η επίτευξη ύφεσης με τη συγχορήγηση βουδεσονίδης και ΑΖΤ. Ωστόσο, η μελέτη εμφάνιζε αρκετά μειονεκτήματα ως προς το σχεδιασμό της, αφού αφενός μεν δεν υπήρχαν επαρκή στοιχεία ως προς την παρακολούθηση (follow up) των ασθενών και αφετέρου η χρήση του

συγκεκριμένου φαρμάκου περιορίζεται σε μη κίρρωτικούς ασθενείς. Συμπερασματικά θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι η βουδεσονίδη δύναται να υποκαταστήσει τα άλλα κορτικοστεροειδή μόνο σε μη κίρρωτικούς ασθενείς που δεν τα ανέχονται.

3 Άλλα αυτοάνοσα ηπατικά νοσήματα

3.1 Πρωτοπαθής Χολική Χολαγγειίτιδα (ΠΧΧ)

Η ΠΧΧ είναι μια χρόνια ηπατική νόσος που προσβάλλει κυρίως γυναίκες μέσης ηλικίας (309-312). Χαρακτηρίζεται από προοδευτική καταστροφή των μικρών ενδοηπατικών χοληφόρων (διαμέτρου <80μ), μέσω ανοσολογικών μηχανισμών που οδηγεί τελικά σε ίνωση και κίρρωση του ήπατος. Στην ΠΧΧ διαπιστώνεται χολόσταση και αντιμιτοχονδριακά αντισώματα (AMA), ενώ αναλόγως των ιστολογικών ευρημάτων διακρίνεται σε τέσσερα στάδια (313). Ο όρος ΠΧΧ έχει επικρατήσει έναντι της παλιότερης ονομασίας «Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση», δεδομένου ότι η κίρρωση δεν αποτελεί καθολικό εύρημα μεταξύ των ασθενών (314).

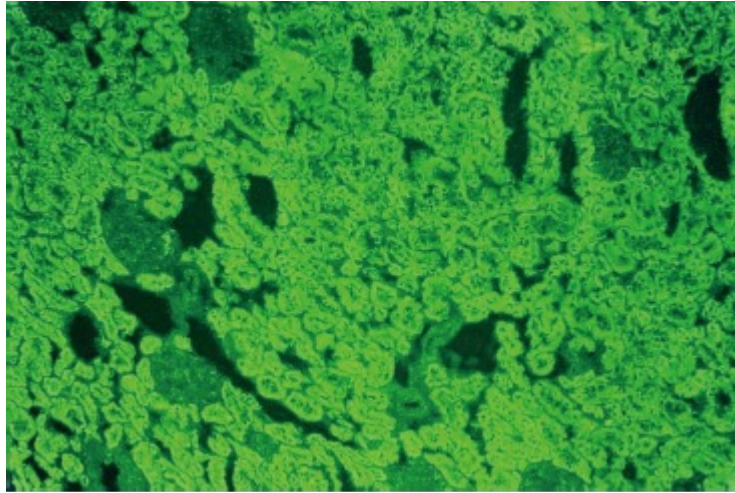
Η συχνότητα της νόσου στην Ευρώπη κυμαίνεται από $1,9-40,2/10^5$ κατοίκους και η ετήσια επίπτωσή της μεταξύ $0,3-5,8/10^5$ κατοίκους, ενώ φαίνεται να αυξάνει τα τελευταία χρόνια (315, 316). Η ΠΧΧ όπως προσβάλλει κυρίως γυναίκες (λόγος ανδρών:γυναίκες 1:6-22) κατά την πέμπτη με έκτη δεκαετία της ζωής (317), ενώ σπάνια ξεκινά σε μικρότερες ηλικίες (318).

Αν και ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός στην ΠΧΧ παραμένει άγνωστος, θεωρείται ότι η εμφάνισή της πυροδοτείται από διάφορους παράγοντες σε άτομα με γενετική προδιάθεση (319, 320). Κομβικό σημείο αποτελεί η απώλεια της ανοσολογικής ανοχής για την υπομονάδα E2 του συστήματος της πυρουβικής δεϋδρογονάσης (Pyruvate dehydrogenase complex- PDC-E2) των μιτοχονδρίων και την εμφάνιση ειδικών αυτοαντισωμάτων (AMA). Αρκετοί μηχανισμοί έχουν

προταθεί και περιλαμβάνουν τη μοριακή μίμηση (111, 321, 322), την επίδραση ξενοβιοτικών και περιβάλλοντος και την αντιγονική δράση της PDC-E2 στα επιθήλια που αποπίπτουν (323, 324). Η συνεισφορά γενετικών παραγόντων έχει φανεί σε μελέτες διδύμων (325, 326) καθώς και στα μέλη των οικογενειών ασθενών με τη νόσο (327). Τα HLA DR2, DR4 και DR8 έχουν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση ΠΧΧ (328, 329), ενώ πιο πρόσφατα σε GWAS αναγνωρίστηκαν πιθανοί πολυμορφισμοί και εκτός των HLA (330).

Το κλινικό φάσμα της ΠΧΧ είναι ευρύ και εκτείνεται από την ασυμπτωματική και βραδέως εξελισσόμενη νόσο έως τη ραγδαίως επιδεινούμενη (331). Οι ασθενείς με ΠΧΧ εμφανίζονται συχνότερα με κόπωση και χαρακτηριστικά με κνησμό. Μπορεί να παρατηρηθούν ακόμη οστεοπόρωση, υπερχοληστερολαιμία ή δυσσαπορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών (332). Στην αντικειμενική εξέταση μπορεί να εμφανίζουν ξανθώματα ή ξανθελάσματα ή σε προχωρημένα στάδια ίκτερο ή ενδείξεις πυλαίας υπέρτασης.

Στον εργαστηριακό έλεγχο εκτός της κλασικής χολόστασης, διαπιστώνεται επίσης ήπια τρανσαμινασαιμία, αύξηση των IgM σφαιρινών ή περιφερική ηωσινοφιλία (333). Ακρογωνιαίο λίθο στη διάγνωση της ΠΧΧ αποτελεί η ανίχνευση AMA (334), που ανευρίσκονται με την τεχνική του IIF έως και στο 95% των ασθενών (201). Σε ιστικές τομές ήπατος και νεφρών αρουραίου, η παρουσία σήματος φθορισμού τόσο στα εγγύς όσο και στα άπω σωληνάρια χωρίς συμμετοχή του σπειράματος αποτελεί το τυπικό πρότυπο των AMA (εικόνα 13). Η γνώση του μοριακού στόχου των AMA επέτρεψε την ανάπτυξη περισσότερων μεθόδων για την ανίχνευσή τους (ELISA, ανοσοαποτύπωση κ.ά) (335).



Εικόνα 13. Φθορισμός AMA σε υπόστρωμα νεφρού αρουραίου (Αρχείο Παθολογικής Κλινικής και Ομώνυμου Εργαστηρίου Παθολογίας του Παν/μιου Θεσσαλίας).

Στην ΠΧΧ μπορεί να ανιχνεύονται ακόμη με IIF ANA, με δύο χαρακτηριστικά πρότυπα φθορισμού, που φαίνεται να σχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου. (332, 336, 337). Το πρώτο (anti-gr210), προσομοιάζει με δακτύλιο (μοριακοί στόχοι η γλυκοπρωτεΐνη 210, η νουκλεοπορίνη 62 ή ο υποδοχέας της λαμινίνης Β) ενώ στο δεύτερο (anti-sp100), φθορίζουν πολλαπλές πυρηνικές κηλίδες έναντι των πυρηνικών αντιγόνων sp100 και της πρωτεΐνης της προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (338).

Κύρια θεραπευτική επιλογή για τους ασθενείς με ΠΧΧ αποτελεί το αρκτοδεοξυχολικό οξύ (UDCA), που έχει αλλάξει τη φυσική ιστορία της νόσου, αφού έχει δειχθεί ότι η χρήση του όχι μόνο επιβραδύνει την εξέλιξη της νόσου, αλλά ταυτόχρονα παρατείνει την επιβίωση χωρίς μεταμόσχευση (311, 332, 339, 340). Ενθαρρυντικά αποτελέσματα προκύπτουν από μελέτες με χρήση φιμπράτης, βουδεσονίδης και πιο πρόσφατα του FXR αγωνιστή obeticholic acid (341, 342).

3.2 Πρωτοπαθής Σκληρυντική Χολαγγεΐτιδα (ΠΣΧ)

Η ΠΣΧ αποτελεί μια χρόνια χολοστατική νόσο του ήπατος, που προσβάλλει συνηθέστερα (>70%) άντρες και χαρακτηρίζεται από φλεγμονή, ίνωση και στενώσεις του αυλού των εξω- και ενδοηπατικών χοληφόρων (343-345). Η βλάβη μπορεί να εκτείνεται από μερικά μόνο χιλιοστά ή να καταλαμβάνει ολόκληρο το χοληφόρο δένδρο. Η νόσος έχει προοδευτική πορεία και μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση, ηπατική ανεπάρκεια και ανάγκη για μεταμόσχευση ήπατος, ενώ συνδέεται επίσης με κίνδυνο ανάπτυξης χολαγγειοκαρκινώματος.

Η μέση ηλικία της διάγνωσης είναι μεταξύ 20 και 40 ετών, αν και η ΠΣΧ μπορεί να εμφανιστεί σε παιδιά ή σε μεγάλες ηλικίες (346, 347). Η επίπτωσή της κυμαίνεται από 0,1-1,3/10⁵ πληθυσμού, ενώ η συχνότητα φθάνει έως και τους 16,2/10⁵ κατοίκους με αυξητική τάση στη Β.Ευρώπη τα τελευταία χρόνια (317, 348, 349). Στα 2/3 των ασθενών με ΠΣΧ συνυπάρχει επίσης ελκώδης κολίτιδα (Ulcerative colitis-UC). Αντίθετα, μόνο το 1-4% των ασθενών με UC εμφανίζουν ΠΣΧ .

Ο ακριβής αιτιοπαθογενετικός μηχανισμός της ΠΣΧ παραμένει άγνωστος (350-352). Η σημασία της γενετικής προδιάθεσης στην ΠΣΧ φαίνεται από την αυξημένη συχνότητα της νόσου σε άτομα της ίδιας οικογένειας. Σε μια σουηδική μελέτη φάνηκε ότι τα αδέρφια των ασθενών εμφανίζουν 8-39 φορές συχνότερα τη νόσο συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό (353). Επιπλέον, ακόμη και απουσία ηπατικής νόσου, τα αδέρφια των ασθενών με ΠΣΧ έχουν 8 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν UC, υποδηλώνοντας έμμεσα μια πιθανή κοινή γενετική βάση. Οι πρώτες συσχετίσεις που αναφέρθηκαν αφορούν τα

αλληλία HLA-B*08 και HLA-DRB1*0301 και στη συνέχεια περιγράφηκαν τα HLA-B*07 and HLA- DRB1*1501 (354, 355), ενώ πιο πρόσφατα σε GWAS περιγράφηκαν και άλλοι πιθανοί γενετικοί τόποι εκτός των HLA.

Έως και οι μισοί ασθενείς είναι ασυμπτωματικοί και διαγιγνώσκονται στο πλαίσιο διερεύνησης αυξημένων χολοστατικών ενζύμων σε τυχαίο έλεγχο (345). Αντίθετα, οι συμπτωματικοί ασθενείς μπορεί να εμφανίσουν προοδευτικά επιδεινούμενο αποφρακτικό ίκτερο, κακουχία, κνησμό, δυσπεψία, και ανορεξία. Στο 10-15% μπορεί κατά τη στιγμή της διάγνωσης να συνυπάρχουν ακόμη πυρετός, ρίγος, νυκτερινοί ιδρώτες και άλγος δεξιού υποχονδρίου. Σε προχωρημένα στάδια παρατηρούνται επίσης οστεοπενία, δυσασπορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών και στεατόρροια. Αντικειμενικά συχνότερα διαπιστώνονται ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία (345, 352).

Τυπικό εύρημα στον εργαστηριακό έλεγχο αποτελεί η αύξηση των χολοστατικών ενζύμων και ιδιαίτερα της ALP, αν και φυσιολογικές τιμές του ενζύμου δεν αποκλείουν τη νόσο (356). Λιγότερο συχνά και σε μικρότερο βαθμό (έως 2-3xULN) μπορεί να αυξηθούν οι τρανσαμινάσες. Στο 70% των περιπτώσεων η χολερυθρίνη μπορεί να είναι αρχικά φυσιολογική, ενώ στο 30-50% μπορεί να παρατηρηθεί υπεργαμμασφαιριναιμία λόγω αύξησης της IgM ανοσοσφαιρίνης. Στο 10% των ασθενών παρατηρείται αύξηση της IgG4 ανοσοσφαιρίνης (343). Όσον αφορά την παρουσία αυτοαντισωμάτων, διαπιστώνονται χαρακτηριστικά ANCA, αλλά και χαμηλοί τίτλοι ANA και SMA. Τιμές του καρκινικού δείκτη Ca19-9 >100 U/ml θεωρούνται ενδεικτικές για ανάπτυξη χολαγγειοκαρκινώματος (ευαισθησία 89% και ειδικότητα 86%).

Η διάγνωση της νόσου βασίζεται στην εμμένουσα αυξημένη τιμή ALP, σε συνδυασμό με τυπικά χολαγγειογραφικά ευρήματα (π.χ διάχυτες στενώσεις, διατάσεις ή κομβολογιοειδής εμφάνιση των χοληφόρων) στην MRCP ή την ενδοσκοπική παλίνδρομη χολαγγειοπαγκρεατογραφία (ERCP), αφού προηγουμένως αποκλειστούν άλλα αίτια δευτεροπαθούς σκληρυντικής χολαγγειίτιδας. Επί απουσίας απεικονιστικών ευρημάτων, η βιοψία ήπατος συμβάλλει στη διάγνωση της small duct ΠΣΧ (354, 356, 357).

Όσον αφορά το σκέλος της θεραπείας, δε φαίνεται να έχει βρεθεί έως τώρα η κατάλληλη. Παρά το γεγονός ότι κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί διάφοροι παράγοντες, μεταξύ των οποίων το UDCA, δεν έχει δειχθεί εμφανώς σημαντικό όφελος στην επιβίωση των ασθενών και συνεπώς δεν υπάρχει ομοφωνία ως προς τη χρήση του (332, 356, 358).

4 ΣΥΝΔΡΟΜΟ SJÖGREN (SS)

4.1 Εισαγωγή- γενικά στοιχεία

Το σύνδρομο Sjögren (Sjögren syndrome-SS) ή αυτοάνοση επιθηλιίτιδα είναι μια χρόνια νόσος αγνώστου αιτιολογίας, που εκδηλώνεται με λεμφοκυτταρική διήθηση και προοδευτική βλάβη των εξωκρινών αδένων (359, 360). Χαρακτηριστική είναι η προσβολή των δακρυικών και των σιελογόνων αδένων, αλλά μπορεί να προσβληθούν τόσο άλλοι αδένες όσο και τα εσωτερικά όργανα.

Όταν το SS εκδηλώνεται μόνο του ονομάζεται πρωτοπαθές (primary Sjögren syndrome-pSS). Σε περίπτωση συνύπαρξης με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα καλείται δευτεροπαθές (secondary Sjögren syndrome-sSS). Συνηθέστερα σχετίζεται με την παρουσία ρευματοειδούς αρθρίτιδας (ΡΑ), συστηματικού ερυθηματώδους λύκου (ΣΕΛ), σκληροδέρματος ή ΠΧΧ.

Το SS μπορεί να προσβάλλει άτομα και των δύο φύλων και όλων των ηλικιών. Ωστόσο, εμφανίζει ιδιαίτερη προτίμηση για το γυναικείο φύλο (αναλογία γυναικών/άνδρες: 9/1) κατά την τέταρτη ή και πέμπτη δεκαετία της ζωής.

Πρόκειται για ένα σχετικά συχνό νόσημα, που ανευρίσκεται στο 1-3% του γενικού πληθυσμού. Πιθανολογείται, ωστόσο, ότι η πραγματική συχνότητά του υποεκτιμάται και τα πραγματικά ποσοστά του pSS ενδεχομένως είναι ακόμη υψηλότερα. Όσον αφορά δε το sSS, είναι εξαιρετικά συχνό, αφού έως

και 30% των ασθενών με άλλο αυτοάνοσο νόσημα μπορεί να εμφανίζουν ταυτόχρονα και sSS (361).

Η εμφάνιση του SS είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης γενετικών, περιβαλλοντικών και ορμονικών παραγόντων, που οδηγούν τελικά στην απορρύθμιση του ανοσοποιητικού και την απώλεια της ανοσολογικής ανοχής (362). Αν και η παθογένειά του δεν είναι πλήρως γνωστή, υπάρχουν ενδείξεις αυξημένης δραστηριότητας των Β -λεμφοκυττάρων, παραγωγής αυτοαντισωμάτων και παράλληλα διήθησης των εξωκρινών αδένων ή των άλλων προσβεβλημένων οργάνων από Τ-λεμφοκύτταρα.

4.2 Ιστορική αναδρομή

Το σύνδρομο πρωτοπεριγράφηκε το 1892 από τον Πολωνό Johan von Mikulicz σε έναν 42χρονο άντρα με αμφοτερόπλευρη διόγκωση των παρωτίδων και των δακρυικών αδένων και διήθησή τους από μικρά στρογγυλά κύτταρα (363).

Το 1933, ο Σουηδός οφθαλμίατρος Henrik Sjögren περιέγραψε τα κλινικά και ιστολογικά ευρήματα του συνδρόμου σε μια σειρά 19 γυναικών με ξηροφθαλμία και ξηροστομία (364). Οι περισσότερες από αυτές (13/19) έπασχαν επιπλέον από ρευματοειδή αρθρίτιδα. Χρησιμοποίησε τότε τον όρο κερατοεπιπεφυκίτιδα sicca προκειμένου να γίνει διάκριση από άλλα αίτια ξηροφθαλμίας, όπως η έλλειψη βιταμίνης Α.

Το 1953 οι Morgan και Castleman παρουσίασαν σε συνέδριο μια περίπτωση ασθενούς με SS, στρέφοντας ξανά το ενδιαφέρον της

επιστημονικής κοινότητας στη νόσο, που αρκετά αργότερα μετονομάστηκε σε SS (363). Το 1956, ο Bloch περιέγραψε εκτενέστερα την κλινική εικόνα της νόσου και τα χαρακτηριστικά της, όπως είναι γνωστά σήμερα (365).

Τα προκαταρκτικά ευρωπαϊκά κριτήρια για τη διάγνωση της νόσου θεσπίστηκαν το 1993 (366), σε μια προσπάθεια κυρίως να υπάρχει ομοιογένεια των ασθενών στις κλινικές μελέτες και λιγότερο για χρήση στην κλινική πράξη. Το 2002 η AEGC πρότεινε ένα αναθεωρημένο σύστημα κριτηρίων για την κατάταξη ασθενών με SS (367). Τα τελευταία έχουν τύχει ευρείας αποδοχής και χρησιμοποιούνται έως και σήμερα.

4.3 Επιδημιολογία.

Η συντριπτική πλειοψηφία (90%) των ασθενών με SS είναι γυναίκες και η μέση ηλικία προσβολής αυτών τα 50 έτη. Ωστόσο, δεν αποκλείεται η εμφάνιση του συνδρόμου σε άνδρες ή σε άλλη ηλικία, συμπεριλαμβανομένης και της παιδικής, κάτι που παρατηρείται όμως εξαιρετικά σπάνια.

Η ακριβής εκτίμηση της συχνότητας του SS είναι εξαιρετικά δύσκολη αφενός λόγω της συχνής του υποδιάγνωσης και αφετέρου λόγω της χρήσης διαφορετικών ορισμών της νόσου. Έτσι, οι μελέτες εμφανίζουν μεγάλη ανομοιογένεια, χωρίς να είναι βέβαιο αν πρόκειται για πραγματικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών ή μεθοδολογικά σφάλματα.

Η εφαρμογή, ωστόσο, τα τελευταία χρόνια των κριτηρίων για τη διάγνωση του SS επέτρεψε την καλύτερη εκτίμηση του επιπολασμού του και της επίπτωσής του, με την τελευταία να προδιορίζεται αρκετά ομοιογενώς πλέον

μεταξύ των μελετών (368, 369). Σε μια μελέτη από το Olmsted County της Minnesota (370) περιγράφηκε προτυποποιημένη ως προς το φύλο και την ηλικία ετήσια επίπτωση $3.9/10^5$ πληθυσμού. Αντίστοιχα, μια μελέτη από τη Σλοβενία (371) έδειξε 3.9 νέες περιπτώσεις SS ανά 10^5 πληθυσμού κατ' έτος. Σε μια ελληνική μελέτη από τη ΒΔ Ελλάδα (Ιωάννινα, Άρτα, Πρέβεζα, Θεσπρωτία, Κέρκυρα και Λευκάδα) διαπιστώθηκε διορθωμένη ως προς την ηλικία και το φύλο επίπτωση της νόσου $5,3/10^5$ κατοίκους (372). Στις προαναφερθείσες μελέτες, η μέση ηλικία για την εμφάνιση της νόσου ήταν τα 59 έτη για το Olmsted County, 51,3 στη Σλοβενία και 55,4 στην Ελλάδα.

Το SS περιγράφεται σπανιότατα σε παιδιά, κυρίως σε σποραδικές περιπτώσεις. Σε μια μελέτη με 13 παιδιατρικούς ασθενείς (373) με pSS (11 κορίτσια, μέση ηλικία διάγνωσης τα 9,4, εύρος ηλικιών 6-14 έτη) διαπιστώθηκε ότι η πρώτη εκδήλωση της νόσου ήταν η υποτροπιάζουσα διόγκωση των παρωτίδων και εξαιρετικά συχνή η παρουσία συνδρόμου sicca. Παρόμοια, σε μια πολυκεντρική μελέτη που συμπεριέλαβε 40 παιδιατρικούς ασθενείς με pSS διαπιστώθηκε εκ νέου υπεροχή του γυναικείου φύλου (35/40), μέση ηλικία διάγνωσης τα 10,7 έτη (εύρος των ηλικιών 9,3-12,4) και εναρκτήριο σύμπτωμα την εμφάνιση διόγκωσης των παρωτίδων, που ακολουθείται από ξηροφθαλμία (374).

Πιο συγκεκριμένα στοιχεία υπάρχουν αναφορικά με τη συνολική συχνότητα και την κατανομή της νόσου. Οι σχετικές εκτιμήσεις του επιπολασμού κυμαίνονται από 0,2 έως 33 περιπτώσεις/1000 κατοίκους. Ο χαμηλότερος επιπολασμός διαπιστώθηκε στην Ιαπωνία (375), ενώ τη μεγαλύτερη εκτίμηση (33/1000 πληθυσμού) δίνει μια παλιότερη μελέτη από το

Manchester, όπου διαπιστώνεται επίσης γυναικεία υπεροχή καθώς και μέση ηλικία προσβολής >55 έτη (376). Στο Ηνωμένο Βασίλειο και σε γυναικείο πληθυσμό στο Birmingham έχει περιγραφεί συχνότητα SS της τάξης του 0,1-0,6%. (377). Ωστόσο, η συγκεκριμένη μελέτη διενεργήθηκε με τη χρήση σε πρώτη φάση ερωτηματολογίου στην πρωτοβάθμια φροντίδα και στη συνέχεια εργαστηριακή επιβεβαίωση και συνεπώς μπορεί τα πραγματικά μεγέθη να υποεκτιμώνται. Μια παλιότερη μελέτη σε κλειστό πληθυσμό στον ελλαδικό χώρο (Αιτωλοακαρνανία) με τη χρήση των Ευρωπαϊκών κριτηρίων προσδιόρισε συχνότητα βέβαιης νόσου 0,6% και πιθανής 2,9% (378).

4.4 Αιτιοπαθογένεια

Η παθογένεια του SS δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί (379, 380). Θεωρείται όμως ότι πρόκειται για το αποτέλεσμα της επίδρασης διάφορων παραγόντων, όπως γενετικοί, ορμονικοί και περιβαλλοντικοί (381).

4.4.1 Γενετικοί παράγοντες

Η παρουσία γενετικής προδιάθεσης στην εκδήλωση του SS υποδεικνύεται από την αυξημένη επίπτωσή του μεταξύ ομοζυγωτικών διδύμων ή μελών της ίδιας οικογένειας. Συχνή είναι εξάλλου και η παρουσία άλλων αυτοάνοσων διαταραχών σε μέλη των ίδιων οικογενειών (382). Από παλιά είναι γνωστή η συσχέτιση με συγκεκριμένα γονίδια και ιδιαίτερα τα HLA-B8 (383), DR3 (384) και Dw3 (385). Ακόμη, ειδικά για το pSS, η παρουσία του HLA DQA1*0501

θεωρείται καθοριστική για την εκδήλωσή του ανεξαρτήτως εθνικών και φυλετικών διαφορών (386).

Πιο πρόσφατα, σε GWAS (387) αναγνωρίστηκαν και άλλες γενετικές συσχετίσεις εκτός του HLA, που σχετίζονται με την απόκριση της IFN-1, με κύρια το IRF5 rs2004640 T αλληλίο. Ακόμη, σε Σκανδιναβούς έχει μελετηθεί η παρουσία των πολυμορφισμών IRF5 (SNP rs10488631) and STAT4 (SNP rs7582694). Η παρουσία των δύο αλληλίων συνδέονταν μάλιστα με πολλαπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης SS συγκριτικά με ασθενείς με ΣΕΛ. Με βάση τα παραπάνω, η αυξημένη απόκριση στην IFN σε διαφορετικά ερεθίσματα, μπορεί να είναι σημαντική για την ανάπτυξη του συνδρόμου. Παρόμοια, σε νορβηγικό και σουηδικό πληθυσμό έχει περιγραφεί η παρουσία γενετικών συσχετίσεων με πολυμορφισμούς ενός απλού νουκλεοτιδίου του CHRM3 (388), αλλά και στα γονίδια EBF1, FAM167A-BLK and TNFSF4 (389).

4.4.2 Περιβαλλοντικοί και ορμονικοί παράγοντες

Διάφοροι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως οι ιοί είναι πιθανό να εμπλέκονται στην παθογένεια του SS. Για παράδειγμα, ο HIV και ο HCV έχουν περιγραφεί ως αίτια ξηρότητας των βλεννογόνων (390-392), χωρίς ωστόσο, να προάγουν την παραγωγή αντισωμάτων (anti-Ro ή anti-La). Ακόμη, έχουν βρεθεί ιοί όπως ο CMV, ο EBV, ο HTLV1, ο HHV-6 ή οι Coxsackie στα επιθηλιακά κύτταρα των σιελογόνων αδένων. Η παρουσία

τους λοιπόν εκεί θα μπορούσε να συνδέεται με την έναρξη της ανοσιακής απάντησης (393, 394).

Η εμφάνιση του SS κατα συντριπτική πλειοψηφία στο γυναικείο φύλο, θα μπορούσε να αποδοθεί στην επίδραση ορμονικών παραγόντων (395). Ακόμη, η εμφάνιση της νόσου κυρίως σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, θα μπορούσε να συσχετιστεί με μείωση των οιστρογόνων. Συνηγορητική των παραπάνω είναι η παρουσία οιστρογονικών υποδοχέων στα επιθηλιακά κύτταρα των σιελογόνων αδένων.

Σε πειραματικά μοντέλα, έχει δειχθεί ότι η μείωση των οιστρογόνων μετά την αφαίρεση των ωοθηκών, μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση της νόσου (396). Επιπλέον, πειράματα σε ποντίκια έδειξαν ότι τα οιστρογόνα μειώνουν τη συσσώρευση των T -λεμφοκυττάρων στους σιελογόνους αδένες και περιορίζουν τον κυτταρικό θάνατο στους δακρυικούς αδένες (397). Τέλος, ποντίκια που έχουν απωλέσει τα γονίδια της αρωματάσης, ενός ενζύμου που καταλύει την παραγωγή των οιστρογόνων, φαίνεται να εμφανίζουν λεμφοκυτταρική διήθηση των εξωκρινών αδένων που προσομοιάζει με το SS (398-400).

4.4.3 Διαταραχή της ανοσιακής απόκρισης

Η παρουσία T -λεμφοκυττάρων σε ιστολογικά παρασκευάσματα των μικρών σιελογόνων αδένων είναι ενδεικτική του ρόλου τους στην παθογένεια του SS (401). Πιο πρόσφατα όμως, διατυπώθηκε η άποψη ότι τα T -λεμφοκύτταρα υπερέχουν στις περιπτώσεις ήπιας διήθησης των αδένων, ενώ

τα Β-λεμφοκύτταρα στις πιο σοβαρές (402, 403). Σε ενδιάμεσες περιπτώσεις φαίνεται να πρωταγωνιστούν τα Tregs, τα οποία μάλιστα συνδέονται με διόγκωση των παρωτίδων και χαμηλό συμπλήρωμα στον ορό, κάτι που συνιστά δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για την ανάπτυξη λεμφώματος. Παρόμοια η διήθηση από μακροφάγα συνιστά επίσης αρνητικό παράγοντα για την εμφάνιση λεμφώματος. Γενικά θεωρείται ότι στο SS υπερέχει η Th1 ανοσιακή απόκριση, χωρίς να αποκλείονται οι Th2 ή/και Th17 απαντήσεις, ιδιαίτερα στις πιο σοβαρές περιπτώσεις (404).

Η σημασία των επιθηλιών και των επιθηλιακών κυττάρων των αδένων είναι γνωστή από παλιότερες μελέτες και αυτό φαίνεται από την ίδια την ονομασία της νόσου ως «αυτοάνοση επιθηλίτιδα» (405). Θεωρείται λοιπόν ότι τα επιθηλιακά κύτταρα συμβάλλουν στην εμφάνιση, διατήρηση και εξέλιξη της ανοσιακής απόκρισης στο SS (406). Έχει δειχθεί ότι τα επιθηλιακά κύτταρα των μικρών σιελογόνων αδένων στους ασθενείς με SS εκφράζουν μια σειρά από μόρια που εμπλέκονται τόσο στη φυσική (TLRs και CD91) όσο και στην επίκτητη ανοσία (406).

Ακόμη, έχει αναγνωριστεί σε διηθήματα των σιελογόνων αδένων ασθενών με SS η παρουσία μακροφάγων και DC, καθώς και έκφραση των IL-12 και IL-18 (407). Επιπλέον, παρόμοια με όσα έχουν περιγραφεί σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, έχει προταθεί ως μηχανισμός πρόκλησης χρόνιας αυτοάνοσης αντίδρασης και βλάβης των οργάνων η ανεπαρκής απομάκρυνση των προϊόντων της απόπτωσης. Η τελευταία μπορεί να οφείλεται είτε στην παρουσία ανασταλτικών IgG αντισωμάτων είτε στη δυσλειτουργία των φαγοκυττάρων (408).

4.5 Κλινική εικόνα

Κύριο χαρακτηριστικό του SS είναι η μειωμένη λειτουργία των εξωκρινών αδένων, που χαρακτηρίζεται ως σύνδρομο Sicca (360). Η ξηροφθαλμία και η ξηροστομία είναι οι συχνότερες κλινικές εκδηλώσεις ανεξαρτήτως αν πρόκειται για πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή διαταραχή (409, 410).

Η εμφάνιση της ξηροφθαλμίας είναι σχετικά ύπουλη και μπορεί να διαλάθει για αρκετά χρόνια. Οι ασθενείς περιγράφουν συνήθως αίσθημα παρουσίας άμμου στους οφθαλμούς, ενώ οι επιπλοκές της ξηροφθαλμίας αφορούν διαβρώσεις του κερατοειδούς ή λοιμώξεις των βλεφάρων.

Η ξηροστομία προκαλεί δυσχέρεια στην κατάποση στερεών τροφών και εξαναγκάζει τους ασθενείς με SS να προσλαμβάνουν συνεχώς μικρές ποσότητες νερού ακόμη και στη διάρκεια της νύχτας (410). Η απώλεια του σιέλου με τις αντιμικροβιακές και προστατευτικές ιδιότητες που το χαρακτηρίζουν, έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση οδοντικής τερηδόνας, ενώ ταυτόχρονα προδιαθέτει σε μυκητιάσεις, ιδιαίτερα από στελέχη *Candida*. Ακόμη, μπορεί να εμφανιστούν γωνιακή χειλίτιδα, παρωτίτιδα ή αμφοτερόπλευρη διόγκωση των παρωτίδων.

Η συμμετοχή άλλων εξωκρινών αδένων, όπως το υ δέρματος, το υ αναπνευστικού, του γαστρεντερικού συστήματος ή των έξω γεννητικών οργάνων της γυναίκας μπορεί να εμφανιστεί ως ξηρότητα και αιμορραγίες του ρινικού βλεννογόνου, οίδημα των παρωτίδων ή της υποκλείδιας χώρας, ξηρός λαιμός, ατροφία του οισοφαγικού βλεννογόνου, ατροφική γαστρίτιδα, παγκρεατίτιδα ή δυσπαρέυνεια.

Εξωαδενικές εκδηλώσεις έχουν περιγραφεί επίσης σε σημαντικό ποσοστό ασθενών με SS και αφορούν κόπωση, αρθραλγίες, μυαλγίες, ξήρωση, ινομυαλγία, πορφύρα, διάμεση νεφρίτιδα, προσβολή του αναπνευστικού, περιφερική νευροπάθεια ή λέμφωμα. Η εμφάνιση του SS σε νεαρή ηλικία (<35 ετών), συνδέεται με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης εξωαδενικών επιπλοκών. Τα συστηματικά δε συμπτώματα όπως η κόπωση, η χαμηλή πυρετική κίνηση και οι μυαλγίες είναι αρκετά συχνά και μπορεί να περιορίζουν τη δραστηριότητα των ασθενών.

Η ξηρότητα του δέρματος (ξηήρωση) που προκαλεί κνησμό μπορεί να είναι ανευρίσκεται σε ποσοστό 55% των ασθενών με πρωτοπαθές και στο 25% περίπου των ασθενών με δευτεροπαθές SS (411). Άλλες δερματολογικές εκδηλώσεις, όπως η βλεφαρίτιδα, η γωνιακή χειλίτιδα, το αγγειτιδικό εξάνθημα και η πορφύρα διαπιστώνονται συνήθως σπανιότερα. Συνηθέστερα μάλιστα διαπιστώνεται υπερσφαιριναιμική πορφύρα, ενώ ψηλαφητή πορφύρα και κατά συνέπεια δερματική αγγειίτιδα ανευρίσκεται στο 10% των ασθενών και συνδέεται με παρουσία εξωαδενικών εκδηλώσεων και λέμφωμα. Από την άλλη, μπορεί να εμφανίζονται εξανθημάτα που προσομοιάζουν αυτά του ΣΕΛ, χωρίς να είναι δυνατή η κλινική ή ιστολογική τους διάκριση από τον υποξύ δερματικό λύκο.

Η αγγειίτιδα του SS αφορά συνήθως τα μικρά αγγεία², ενώ σε μια μεγάλη σειρά 558 ασθενών φάνηκε να συνδέεται με παρουσία εξωαδενικών εκδηλώσεων, αυτοαντισωμάτων και κρουοσφαιριναιμίας (412).

Αρθραλγίες ή και αρθρίτιδα μπορεί να εμφανιστούν έως και στους μισούς ασθενείς με SS. Η αρθρίτιδα αφορά περισσότερες της μιας άρθρωσης

(πολυαρθρίτιδα) και είναι αμφοτερόπλευρη και συμμετρική (413). Συνηθέστερα δε προσβάλλονται οι ποδοκνημικές, οι μετακαρπιοφαλαγγικές και μεταταρσιοφαλαγγικές αρθρώσεις, οι ώμοι και οι καρποί.

Οι μυαλγίες αποτελούν επίσης συχνή εκδήλωση του SS, αφού αναφέρονται στο ένα τρίτο περίπου των ασθενών (414). Η μυοπάθεια του συνδρόμου, είναι συνήθως ήπια και ανταποκρίνεται στη χορήγηση μικρών δόσεων στεροειδών ή άλλων ανοσοκατασταλτικών. Η παρουσία, ωστόσο, σημαντικής μυϊκής αδυναμίας και αύξηση των μυϊκών ενζύμων σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα μυοσίτιδας ή μικτής νόσου του συνδετικού ιστού (415).

Διάφορες νευρολογικές εκδηλώσεις τόσο από το περιφερικό όσο και από το κεντρικό νευρικό σύστημα μπορεί να εκδηλωθούν στην πορεία του SS ή ακόμη και να προηγούνται της εμφάνισής του. Η συχνότητά τους ποικίλλει αναλόγως της μεθόδου που χρησιμοποιείται για τη διάγνωσή τους. Θεωρείται ότι συνδέονται με σοβαρή νόσο και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης αγγειίτιδας ή και λεμφώματος (416). Συνηθέστερα πρόκειται για αισθητική μη αταξική ή μικτή αισθητικοκινητική και σπανιότερα για αισθητική αταξική νευροπάθεια. Επιπρόσθετα, έχει αναγνωρισθεί σε ασθενείς με SS και αμβληχρά συμπτώματα η νευροπάθεια των μικρών ινών, η διάγνωση της οποίας απαιτεί υψηλό δείκτη υποψίας και διενέργεια βιοψίας δέρματος (417).

Η πνευμονική συμμετοχή στο SS είναι σχετικά σπάνια, ενώ δεν υπάρχει ομοφωνία μεταξύ των διαφόρων μελετών. Σε μια πρόσφατη μελέτη με 522 ασθενείς με SS, διαπιστώθηκε ότι το 47% είχαν ευρήματα πνευμονικής νόσου στην ακτινογραφία θώρακος (418). Η διάμεση πνευμονοπάθεια που είναι

σχετικά συχνή πνευμονική εκδήλωση του SS φαίνεται να αποτελεί κακό προγνωστικό δείκτη (419).

Η νεφρική προσβολή στο SS δε σχετίζεται με την εμφάνιση σπεριραματονεφρίτιδας όπως συμβαίνει σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, αλλά κυρίως με διάμεση σωληναριακή νεφρίτιδα (420) που μπορεί να συνοδεύεται από σωληναριακή οξέωση (421). Εξάλλου, η νεφρική συμμετοχή στο SS, οφείλεται κυρίως στη διήθηση του διάμεσου νεφρικού ιστού από λεμφοκύτταρα, παρά στην εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων, όπως συμβαίνει για παράδειγμα στο ΣΕΛ. Ακόμη, έχει βρεθεί ότι διάφοροι ορολογικοί και βιοχημικοί δείκτες εμφανίζουν θετική συσχέτιση με την εμφάνιση νεφρικής βλάβης στο SS και σε αυτούς περιλαμβάνονται η υπεργαμμασφαιριναιμία, οι αυξημένες πρωτεΐνες του ορού, καθώς επίσης η β2-μικροσφαιρίνη (422).

Οι γαστρεντερικές επιπλοκές του νοσηματος είναι ποικίλες με πιο κοινό σύμπτωμα τη δυσφαγία, λόγω ελαττωμένης παραγωγής σιέλου. Ναυτία και επιγαστραλγία μπορεί επίσης να παρατηρηθούν στα πλαίσια ατροφικής γαστρίτιδας ή κοιλιοκάκης που συνυπάρχουν συχνά με τη νόσο (423, 424).

Λόγω της συχνής συνύπαρξης αυτόανοσης θυρεοειδίτιδας (Hashimoto), οι ασθενείς με SS εμφανίζουν και ενδοκρινικές διαταραχές σε ποσοστό που φθάνει το 15% (409). Η παρουσία θυρεοειδοπάθειας στα μέλη των οικογενειών των ασθενών με SS είναι συχνή και σχετίζεται με την παρουσία συγκεκριμένων γονιδίων HLA (HLA-DR3).

Τέλος, σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με SS (5%), εμφανίζονται λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές (425). Πιο συγκεκριμένα, υπάρχει σαφής

συσχέτιση με την εμφάνιση κακοήθους λεμφώματος (Non Hodgkin, B - κυτταρικής αρχής) στη διάρκεια της ζωής των ασθενών και ο σχετικός κίνδυνος είναι 16-44 φορές αυξημένος συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό. Η διάγνωση του λεμφώματος έπεται αυτής του SS κατά 6,5-7,5 έτη.

Η παρουσία δερματικής αγγειίτιδας, περιφερικής νευροπάθειας και κρουοσφαιριναιμίας αποτελούν παράγοντες κινδύνου, ενώ ο RF είναι σχεδόν πάντα θετικός (365, 426, 427). Ακόμη, η εμφάνιση λεμφώματος έχει συσχετιστεί με την παρουσία σπειραματονεφρίτιδας και χαμηλού C4 στον ορό.

4.6 Εργαστηριακά ευρήματα- Αυτοαντισώματα

Στα συνήθη εργαστηριακά ευρήματα των ασθενών με SS περιλαμβάνονται η αύξηση της ταχύτητας καθίζησης των ερυθρών (ΤΚΕ), η ήπια ορθόχρωμη, ορθοκυτταρική (στο πλαίσιο της χρόνιας νόσου) ή και μακροκυτταρική αναιμία επί συνύπαρξης ατροφικής γαστρίτιδας καθώς και η πολυκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία.

Τα αυτοαντισώματα που ανευρίσκονται στο SS (πίνακας 8) μπορούν να διακριθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες:

- αυτά που αποτελούν δείκτες της νόσου (ANA, anti-Ro/SS-A και anti-La/SS-B)
- αυτά που χαρακτηρίζουν συγκεκριμένους κλινικούς φαινότυπους (RF, κρουοσφαιρίνες, anti-CCP, AMA, SMA και αντικεντρομεριδιακά) και τέλος

- αυτά που σχετίζονται δυνητικά με την παθογένεια της νόσου (anti-Ro52 και anti-La, αντισώματα έναντι καρβονικής ανυδράσης II και έναντι του μουσκαρινικού υποδοχέα III).

Πολλές μελέτες έχουν συσχετίσει τα διάφορα αντισώματα με ιδιαίτερη κλινική εικόνα στους ασθενείς με SS (428-430). Έτσι, τα αντισώματα έναντι Ro/La συνοδεύονται από νεαρή ηλικία προσβολής, σοβαρή διαταραχή των εξωκρινών αδένων και συχνή εξωαδενική νόσο. Η παρουσία ANA και RF έχει σχετιστεί με εξωαδενικές εκδηλώσεις και ανοσολογικά ενεργή νόσο, ενώ οι κρουσφαιρίνες με σοβαρή νόσο και εμφάνιση λεμφώματος. Τα anti-CCP είναι μεν σπάνια στο SS, αλλά φαίνεται να σχετίζονται με την παρουσία μη διαβρωτικής αρθρίτιδας, τα AMA και SMA με αυτοάνοσο νόσημα του ήπατος και τα αντικεντρομεριδιακά με σκληρόδερμα. Τα αντισώματα έναντι καρβονικής ανυδράσης συνδέονται με παρουσία σωληναριακής οξέωσης, ενώ τα αντι-μουσκαρινικά με κυτταροπενίες.

Πίνακας 8. Αυτοαντισώματα και η συχνότητά τους σε ασθενείς με SS (%) (431)	
anti-Ro52	66,7
anti-Ro60	52,1
anti-La	49
RF	40-50
Κρυσφαιρίνες	9-15
Αντικεντρομεριδικά	4-17
AMA	1,7-27
SMA	30
Καλρετικουλίνη	20
Έναντι μουσκαρινικού υποδοχέα III	11
Έναντι καρβονικής ανυδράσης	12,5-20,8
anti-U1RNP	2
anti-CCP	3-10

4.7 Διάγνωση

Η διάγνωση του SS είναι συχνά δύσκολη, λόγω έλλειψης ειδικών σημείων, συμπτωμάτων και εργαστηριακών ευρημάτων. Η ξηροφθαλμία και η ξηροστομία αποτελούν εξαιρετικά κοινά συμπτώματα, ιδιαίτερα σε μεγαλύτερες ηλικίες όπου μπορεί να σχετίζονται με πραγματική ατροφία των αδένων ή με τη χρήση φαρμάκων. Από την άλλη πλευρά, δεν υπάρχει μία, μόνη εξέταση που να θέτει τη διάγνωση του νοσήματος.

Έτσι, έχουν προταθεί διάφορα συστήματα κριτηρίων για τη διάγνωση της νόσου. Τα ευρωπαϊκά κριτήρια του 1993 για τη διάγνωση της νόσου (366), αναθεωρήθηκαν το 2002 (367) σε μια συντονισμένη προσπάθεια Ευρωπαίων και Αμερικανών ειδικών (American-European Consensus Group- AECG). Στα κριτήρια αυτά περιλαμβάνονται τόσο υποκειμενικά συμπτώματα (ξηροφθαλμία, ξηροστομία) όσο και αντικειμενικά ευρήματα, όπως συμμετοχή των οφθαλμών που διαπιστώνεται με Schirmer's test (διαβροχή διηθητικού χαρτιού) ή Rose Bengal score, εστιακή σιελαδενίτιδα επιβεβαιωθείσα ιστολογικά, συμμετοχή των σιελογόνων αδένων ή των παρωτίδων στη σιελογραφία και ειδικά αυτοαντισώματα, δηλαδή anti-Ro και anti-La (Πίνακας 9).

Πίνακας 9 . Κριτήρια της AECG για τη διάγνωση του SS (367)
<p>I. Οφθαλμικά συμπτώματα (απαιτείται τουλάχιστον ένα από τα τρία):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Καθημερινή, επίμονη συμπτωματολογία από τους οφθαλμούς για τουλάχιστον 3 μήνες. • Συνεχής αίσθηση άμμου ή ξένου σώματος στους οφθαλμούς. • Χρήση υποκατάστατου δακρύων > 3 φορές ημερησίως.
<p>II. Στοματικά συμπτώματα (απαιτείται τουλάχιστον ένα από τα τρία):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Καθημερινή αίσθηση ξηροστομίας για περισσότερους από 3 μήνες. • Υποτροπιάζουσα και εμμένουσα διόγκωση των σιελογόνων αδένων στην ενήλικη ζωή. • Συχνή κατανάλωση υγρών στην προσπάθεια να διευκολυνθεί η κατάποση στερεών τροφών.
<p>III. Οφθαλμικά σημεία: αποδεδειγμένη οφθαλμική συμμετοχή με κάποια από τις ακόλουθες μεθόδους (απαιτείται τουλάχιστον μία θετική δοκιμασία):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Schirmer's test, χωρίς τη χρήση αναισθητικού ($\leq 5\text{mm}$ σε 5'). • Rose bengal score ή άλλη χρωστική (≤ 4 κατά van Bijsterveld's).
<p>IV. Ιστοπαθολογικά ευρήματα σε βιοψία μικρών σιελογόνων αδένων:</p> <p>Εστιακή λεμφοκυτταρική σιελαδενίτιδα με ≥ 50 λεμφοκύτταρα/4 mm² αδενικού ιστού και παρουσία φυσιολογικού αδένου</p>
<p>V. Συμμετοχή των σιελογόνων αδένων (θετικό αποτέλεσμα σε ένα από τα παρακάτω):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ανερέθιστη ολική αδενική ροή (≤ 1.5 ml/15 λεπτά). • Παθολογική παρωτιδική σιελογραφία (παρουσία διάχυτων εκτασιών, σπηλαίων, διαβρώσεων), χωρίς απόφραξη των μείζονων πόρων. • Σπινθηρογράφημα σιελογόνων αδένων με ευρήματα καθυστερημένης πρόσληψης, μειωμένης συγκέντρωσης ή και καθυστερημένης απέκκρισης του φαρμάκου.
<p>VI. Αυτοαντισώματα:</p> <p>anti-Ro (anti-SS-A) ή/και anti-La (anti-SS-B)</p>

Διάγνωση:

Πρωτοπαθές SS: Απαιτούνται 4/6 κριτήρια, εκ των οποίων απαραίτητως το IV (ιστολογία) ή το V (αυτοαντισώματα) ή 3/4 αντικειμενικά κριτήρια (III, IV, V & VI)

Δευτεροπαθές SS: Επί συνύπαρξης άλλου αυτοάνοσου νοσήματος, απαιτείται το I ή το II και 2/3 εκ των III, IV & V.

Κριτήρια αποκλεισμού: προηγούμενη ακτινοθεραπεία κεφαλής και τραχήλου, λοίμωξη από HCV ή HIV, προϋπάρχον λέμφωμα, σαρκοείδωση, νόσος μοσχεύματος κατά ξενιστή, χρήση αντιχολινεργικών φαρμάκων

Τα κριτήρια της AECG έχουν ευαισθησία 97.2% και ειδικότητα 48.6% για την διάγνωση του pSS. Αντίστοιχα, για το δευτεροπαθές η ειδικότητά τους ανέρχεται στο 97.2% και η ευαισθησία στο 64.7% (432). Τα ανωτέρω κριτήρια έχουν αξιολογηθεί σε πολλές μελέτες και χρησιμοποιούνται ευρύτατα τόσο για την ένταξη ασθενών σε κλινικές μελέτες όσο και για διαγνωστικούς σκοπούς.

Πιο πρόσφατα, το 2012, ανακοινώθηκε από το Α μερικάνικο Κολλέγιο Ρευματολογίας ένα νέο, προσωρινό σύστημα κριτηρίων (433) για την ταξινόμηση ασθενών με SS σε κλινικές μελέτες (πίνακας 10). Τα τελευταία χρησιμοποιούν αποκλειστικά αντικειμενικά σημεία, και ο ρόλος των συμπτωμάτων και κατά συνέπεια του υποκειμενικού παράγοντα έχει πλέον περιοριστεί. Ωστόσο, η αξιοπιστία τους δεν έχει επιβεβαιωθεί σε μεγάλες κλινικές μελέτες (433).

Γίνεται σαφές, ωστόσο, ότι επί υποψίας SS θα πρέπει πρωτίστως να αποκλειστούν άλλα αίτια συνδρόμου Sicca. Ορισμένα εξ αυτών περιλαμβάνονται στα κριτήρια αποκλεισμού της νόσου, ενώ η αμυλοείδωση και το τραύμα πρέπει να αποκλείονται πάντοτε, αφού αποτελούν μεγάλους μίμους του SS. Επιπλέον, θα πρέπει να αποκλείονται διάφορα άλλα αίτια

ξηροφθαλμίας, όπως η χρόνια βλεφαρίτιδα, η επιπεφυκίτιδα ή νευρολογικές καταστάσεις (π.χ νόσος Parkinson, παράλυση Bell) που επηρεάζουν την κινητικότητα των βλεφάρων.

Πίνακας 10. Κριτήρια της ACR για την ταξινόμηση του SS (433)

Ασθενείς με σημεία ή συμπτώματα ενδεικτικά του SS, θα πρέπει να πληρούν 2 από τα παρακάτω 3 αντικειμενικά κριτήρια:

1. **Θετικά anti-SS-A/Ro και/ή anti-SS-B/La ή θετικός RF και ANA σε τίτλο 1:320.**
2. **Βιοψία σιελογόνων αδένων** με ανάδειξη εστιακής λεμφοκυτταρικής σιελαδενίτιδας (score ≥ 1 εστία /4 mm²).
3. **Κερατοεπιπεφυκίτιδα** με ειδικές χρώσεις και score ≥ 3 (υπό την προϋπόθεση ότι ο ασθενής δεν χρησιμοποιεί οφθαλμικές σταγόνες για γλαύκωμα και δεν έχει υποβληθεί σε χειρουργείο κερατοειδούς ή βλεφαροπλαστική για αισθητικούς λόγους την τελευταία πενταετία).

Κριτήρια αποκλεισμού αποτελούν το ιστορικό ακτινοβολίας κεφαλής και τραχήλου, η ύπαρξη HCV λοίμωξης, AIDS, σαρκοειδωσης, αμυλοειδωσης, νόσου μοσχεύματος κατά ξενιστή κ IgG4-σχετιζόμενου νοσήματος.

4.8 Θεραπεία

Η αντιμετώπιση του SS περιλαμβάνει την αποφυγή φαρμάκων, καταστάσεων και παραγόντων που δυνητικά επιδεινώνουν τη συμπτωματολογία, την εφαρμογή τοπικών σκευασμάτων που βελτιώνουν την ξηρότητα των βλεννογόνων και τη συστηματική χορήγηση αντιφλεγμονωδών ή ανοσοκατασταλτικών σκευασμάτων. (409)

Η προσέγγιση είναι κοινή ανεξαρτήτως αν πρόκειται για pSS ή sSS, αλλά εξατομικεύεται αναλόγως της βαρύτητας των συμπτωμάτων του ασθενούς.

Έτσι, στις πιο ήπιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται το πικρή αγωγή για την αντιμετώπιση της ξηροφθαλμίας και της ξηροστομίας. Σε μέτρια ή σοβαρή νόσο απαιτείται η χρήση συστηματικής αγωγής, συμπεριλαμβανομένων και βιολογικών παραγόντων.

Η ξηροφθαλμία αντιμετωπίζεται με χρήση τεχνητών δακρύων ή λιπαντικής αλοιφής, ενώ σε πιο σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να δοκιμαστούν τοπικά κυκλοσπορίνη ή γλυκοκορτικοειδή. Η ξηροστομία μπορεί να βελτιωθεί με την εφαρμογή υποκατάστατου σιέλου ή μουσκαρινικών αγωνιστών, που αυξάνουν την παραγωγή σιέλου όπως η πιλοκαρπίνη ή η σεβιμελίνη.

Η συστηματική θεραπεία είναι απαραίτητη επί σοβαρών περιπτώσεων και ιδιαίτερα όταν συνυπάρχει εξωαδενική συμμετοχή. Συνήθως αρχικά χρησιμοποιείται υδροξυχλωροκίνη έως 8mg/kg ΒΣ ημερησίως, που έχει βρεθεί σε μικρές μελέτες να βελτιώνει τη συμπτωματολογία των ασθενών, συμπεριλαμβανομένης της αρθρίτιδας, των μυαλγιών και των δερματικών εκδηλώσεων. Σε επόμενο βήμα προστίθεται μεθοτρεξάτη (7,5-15mg/εβδομάδα), που φαίνεται επίσης να έχει θετικά αποτελέσματα, παρά το γεγονός ότι η χρήση της είναι περισσότερο εμπειρική και δεν υποστηρίζεται από μεγάλες κλινικές μελέτες. Σε σοβαρές συστηματικές εκδηλώσεις έχουν επίσης δοκιμαστεί το MMF, η κυκλοφωσφαμίδη και η AZT, αναστολείς του TNF, παράγοντες που στοχεύουν έναντι των Β -κυττάρων (rituximab και epratuzumab), (434-436).

5 Anti-SLA/LP και anti-Ro52

5.1 anti-SLA/LP

Τα anti-SLA πρωτοπεριγράφηκαν το 1987 από τον Manns και τους συνεργάτες του (181), με τη χρήση ραδιοανοσολογικής μεθόδου σε ασθενείς με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα, που ήταν αρνητικοί για την παρουσία HAV ή HBV. Χαρακτηριστικά μάλιστα ορισμένοι εξ αυτών ήταν αρνητικοί και για την παρουσία οποιουδήποτε αυτοαντισώματος.

Το διαλυτό αντιγόνο του ήπατος (SLA) ανευρίσκεται στο υπερκείμενο που προκύπτει από την υπερφυγοκέντρηση στα 100.000g ηπατικού ομοιογενοποιήματος και αντιπροσωπεύει μια πρωτεΐνη κυτοσολίων που δεν είναι ούτε οργανοειδική (organ specific) ούτε ειδική για το είδος (species specific). Παρόλα αυτά οι υψηλότερες συγκεντρώσεις της παρατηρούνται στο ήπαρ και τους νεφρούς.

Τα αυτοαντισώματα έναντι ήπατος-παγκρέατος (anti-liver/pancreas-anti-LP) πρωτοπεριγράφηκαν στις αρχές της δεκαετίας του '80 και ανευρίσκονται επίσης στο υπερκείμενο μετά από υπερφυγοκέντρηση ηπατικού και παγκρεατικού ομοιογενοποιήματος, είναι δηλαδή επίσης μια πρωτεΐνη των κυτοσολίων. Παρά το γεγονός ότι τα anti-SLA και τα anti-LP αρχικά θεωρούνταν διαφορετικά αυτοαντισώματα (437, 438), αποδείχθηκε τελικά ότι πρόκειται για το ίδιο αυτοαντίσωμα (anti-SLA/LP) (439).

Η μελέτη των Wies και συν (214), έδειξε ότι το αυτοαντιγόνο στόχος των anti-SLA/LP είναι μια διαλυτή πρωτεΐνη των κυτοσολίων μοριακού βάρους 35-

50 kDa, που δεν ανήκει στις κυτταροκερατίνες 8 και 18 ή στις πρωτεϊνικές υποομάδες της τρoσφεράσης της γλουταθειόνης S (GST, υπομονάδες Ya, Yb1 και Yc), όπως είχε αρχικά υποτεθεί (181, 440, 441).

Το αυτοαντιγόνο-στόχος των anti-SLA/LP ταυτοποιήθηκε μετά από μελέτες σε βιβλιοθήκες cDNA ως μια άγνωστη, έως τότε, αλληλουχία αμινοξέων, που κωδικοποιεί μια UGA-κατασταλτική tRNA-σχετιζόμενη πρωτεΐνη [tRNP(ser)sec]. Η πρωτεΐνη αυτή πιθανολογείται ότι εμπλέκεται στη μεταφορά και ενσωμάτωση της σεληνοκυστεΐνης στα κύτταρα.(Costa)

Πιο πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι ο ακριβής μοριακός στόχος είναι μια συνθετάση (S) που μετατρέπει την (O-phosphoserine)- tRNA:(Sep) σε selenocysteinyl-tRNA:(Sec) και θεωρείται καταλληλότερη η ονομασία **SepSecS** (442, 443). Η αν αγνώριση του μοριακού στόχου επέτρεψε την ανάπτυξη ευρέως διαθέσιμων εμπορικών μεθόδων για την ανίχνευση του αυτοαντισώματος (215).

Όσον αφορά τους πιθανούς αντιγονικούς επιτόπους, οι Wies και συν το 2000, αναγνώρισαν την περιοχή που περιλαμβάνει τα αα 371-409 ως κύριο αντιγονικό επίτοπο (214). Στη συνέχεια, οι Herkel και συν (444), προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή συμμετοχή της μοριακής μίμησης στην εμφάνιση των anti-SLA/LP, μελέτησαν τους επιτόπους του SLA/LP και έγινε σύγκριση αυτών με αλληλουχίες μικροβιακών παραγόντων. Διαπιστώθηκε λοιπόν, με τη χρήση συνθετικών επικαλυπτόμενων 20μερών πεπτιδίων, η παρουσία ενός κυρίαρχου επιτόπου που περιλάμβανε τα αα 395-414. Επιπλέον, αναγνωρίστηκαν δύο κοντινοί επίτοποι στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης (444). Ο έλεγχος σε πρωτεϊνικές βιβλιοθήκες ανέδειξε την πιθανή

ομολογία με την πρωτεΐνη MJ0610 του προκαρυωτικού οργανισμού *Methanococcus jannaschii*. Ωστόσο, οι ασθενείς με anti-SLA/LP δεν αναγνώριζαν επαρκώς τη συγκεκριμένη αλληλουχία. Αντίστοιχα, οι Ma και συν (445) έδειξαν ότι η αντιδραστικότητα έναντι συγκεκριμένων διαμορφωτικών επιτόπων του SLA/LP, μπορεί να διακρίνει μια ομάδα ασθενών με σοβαρότερη μορφή της νόσου.

Τα anti-SLA/LP ανιχνεύονται στο 15-30% των ασθενών με AH (42), σχετίζονται με βαρύτερη κλινική πορεία, ενώ αποτελούν το πιο ειδικό αυτοαντίσωμα που ανιχνεύεται στη νόσο.

Η συχνότητα εμφάνισης των anti-SLA/LP δε φαίνεται να επηρεάζεται από γεωγραφικούς παράγοντες, την εθνικότητα, το φύλο ή την ηλικία. Συνδέονται ωστόσο με την παρουσία του αλληλόμορφου γονιδίου DRB1*0301 (446). Έτσι, σε πληθυσμούς που δεν είναι συχνό το DRB1*0301, όπως στους Ιάπωνες, σπανίζει αντίστοιχα και το anti-SLA/LP (447).

Η ανεύρεσή τους είναι ισοδύναμη με τη διάγνωση της AH και αποτελούν σημαντικό εργαλείο ιδιαίτερα στις περιπτώσεις κρυψιγενούς ηπατίτιδας ή όταν οι υπόλοιποι ορολογικοί δείκτες είναι αρνητικοί. Αρχικά είχε προταθεί η ταξινόμηση των anti-SLA/LP (+) ασθενών σε ένα νέο υπότυπο της νόσου, την AH τύπου 3 (AH-3). Ωστόσο, αφενός η απουσία συγκεκριμένου κλινικού φαινότυπου και αφετέρου το γεγονός ότι συχνά συνυπάρχουν με τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα, δεν δικαιολογούσε αυτή την ταξινόμηση και ο όρος AH-3 έχει εγκαταλειφθεί (448, 449).

5.2 anti-Ro52

Τα anti-Ro/SSA πρωτοπεριγράφηκαν από τον Anderson το 1962 (450). Η διπλή ονοματολογία “Ro” και “SSA” προέρχεται από διαφορετικές ερευνητικές ομάδες που τα περιέγραψαν σε ασθενείς με ΣΕΛ (451) και SS αντίστοιχα (452). Πρόκειται για τα πιο συχνά απαντώμενα ANA, όπως φάνηκε σε μια μελέτη σε εξαιρετικά μεγάλο αριθμό δειγμάτων από 6244 διαδοχικούς ασθενείς που ελέγχθηκαν στο εργαστήριο νοσοκομείου της Άαλστ Βελγίου για αντιδραστικότητα έναντι εκχυλίσμων πυρηνικών αντιγόνων (453).

Το αντιγόνο Ro/SSA αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές μονάδες, 52 kDa και 60 kDa αντίστοιχα, που αρχικά θεωρούνταν ένα ενιαίο σύστημα. Πλέον, είναι σαφές ότι πρόκειται για δύο ξεχωριστές, μη ομόλογες υπομονάδες, εκ των οποίων η υπομονάδα των 60 kDa (Ro60) φέρει μια περιοχή για σύνδεση με το RNA. Η υπομονάδα των 52 kDa (Ro52) αποτελείται από ένα δακτύλιο ψευδαργύρου καθώς και ένα φερμουάρ λευκίνης και δεν φαίνεται να συνδέεται άμεσα με το RNA (454).

Το αντίσωμα έναντι του Ro52 είναι ειδικό για τον άνθρωπο και τα ανώτερα θηλαστικά. Ανευρίσκεται κατά κανόνα σε ασθενείς με SS, αλλά και σε μια σειρά ακόμη νοσημάτων, ενώ η συχνότητά του εμφανίζει μεγάλη διακύμανση (πίνακας 11) μεταξύ των υπάρχουσων μελετών (455).

Συχνά συνυπάρχει με το anti-Ro60, διατηρώντας ωστόσο την ιδιαίτερη κλινική του σημασία. Ακόμη, τα anti-Ro52 ανιχνεύονται συχνά σε μητέρες νεογνών που πάσχουν από λύκο και συγγενή καρδιακό αποκλεισμό, όπου πιθανότατα διαδραματίζουν και παθογενετικό ρόλο.

Πίνακας 11. Συχνότητα του anti-Ro52 και αντιγονικοί επίτοποι σε διάφορες αυτοάνοσες νόσους (455)

Νόσος	Συχνότητα (%)	Προτεινόμενοι επίτοποι
SS	66,7-75,4	aa126-252
ΣΕΛ	27,1-42,7	aa126–252
Νεογνικός λύκος-μητέρες νεογνών με δερματικό νεογνικό λύκο	81	na
Δερματικός λύκος	71 (για το Ro/SSA)	na
Δισκοειδής λύκος	9	na
Ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις μυοπάθειες	20-35,4	aa126-252
Δερματομυοσίτιδα	17-21,7	na
Πολυμυοσίτιδα	19-28,6	na
Σύνδρομο αντισυνθετάσης	58	na
Συστηματική σκλήρυνση	19	na
ΠΧΧ	28	αα 228-245
ΑΗ	38	na

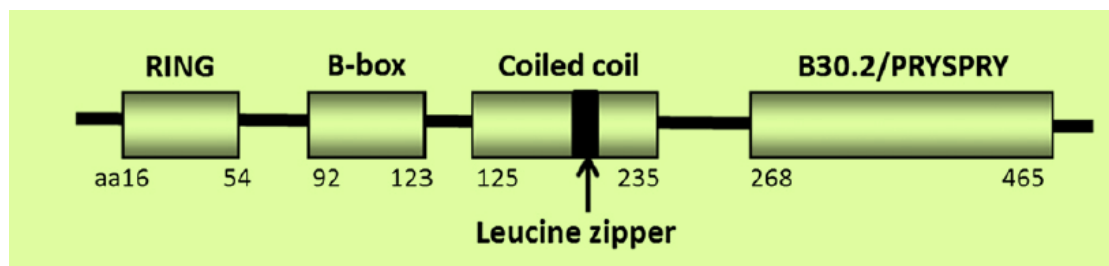
na: μη διαθέσιμο

5.3 Δομή και λειτουργία του Ro52

Ως προς τη δομή του, η αμινοτελική περιοχή του Ro52 αποτελείται από μια περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη και δύο θέσεις δέσμευσης ψευδαργύρου (Really Important New Gene-RING) καθώς και το μοτίβο B-Box. (455). Στο μέσο ανευρίσκεται μια περιοχή περιέλιξης (Coiled coil-CC) που περιλαμβάνει ένα φερμουάρ λευκίνης (Leukine zipper) και κοντά στο καρβοξυτελικό του ακρο η περιοχή για τη σύνδεση του υποστρώματος B30.2 (PRYSRY). Οι

παραπάνω περιοχές αντιστοιχούν στα αα 16-54, 92-123, 125-235 και 268-465 αντίστοιχα (εικόνα 14).

Η παρουσία των τριών πρώτων δομών (RING, B-Box και CC) το κατατάσσει στην πολυπληθή οικογένεια των πρωτεϊνών με τριμερές μοτίβο (Tripartite motif proteins- TRIMs), που φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσική ανοσία (456-459) και στην απόκριση έναντι διαφόρων ιών. Πιθανολογείται μάλιστα ότι αποτελούν ρυθμιστές της ανοσιακής απόκρισης, αφού εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την επιβίωση και την απόπτωση. Το Ro52 ονομάζεται επίσης TRIM21 από το όνομα του αντίστοιχου γονιδίου.



Εικόνα 14. Δομή του Ro52 (Από το J Autoimmun. 2012 Aug;39:77-82, σελ 78)

Η λειτουργία του, δεν είναι πλήρως κατανοητή, φαίνεται όμως ότι σχετίζεται με τη δράση E3 λιγκάσης ουμπικουϊνής (460). Ο μηχανισμός της ουμπικουϊνής είναι περίπλοκος και εξαρτάται από την παρουσία ATP (461). Αφορά στη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των πρωτεϊνών που επιτρέπει τον έλεγχο διάφορων βιολογικών διαδικασιών που σχετίζονται με αυτές, όπως η αποδόμηση, η κυκλοφορία και η ενεργοποίησή τους. Σε πρώτη φάση ένα μόριο ουμπικουϊνής συνδέεται με το αρχικό ένζυμο ενεργοποίησης (E1). Στη

συνέχεια το ενεργοποιημένο πλέον μόριο ουμπικουιτίνης μεταφέρεται στο ένζυμο σύζευξης (E2). Τέλος, η μεταφορά της ουμπικουιτίνης στην πρωτεΐνη-στόχο επιτελείται μέσω μιας λιγκάσης (E3).

Διάφορες μελέτες έχουν υποστηρίξει την πιθανή δράση του Ro52 ως E3 λιγκάσης που ρυθμίζει μέσω της ουμπικουιτίνης κυτταροπλασματικά και πυρηνικά υποστρώματα (462). Μεταξύ των υποστρωμάτων που έχουν περιγραφεί ανήκουν και ορισμένοι ρυθμιστικοί της ιντερφερόνης παράγοντες (IFN regulatory factors-IRF), μια οικογένεια που ρυθμίζει τη μεταγραφή της IFN-1 (455, 463).

Έτσι, έχει δειχθεί η αλληλεπίδραση του Ro52 με τον IRF8 στον πυρήνα, που οδηγεί στην παραγωγή IFN και TLR, υποδηλώνοντας εμμέσως ένα ρόλο για το Ro52 στη φυσική ανοσία (462, 464). Αντικρουόμενα ωστόσο αποτελέσματα ως προς τη δράση του Ro52 στην ουμπικουιτινοποίηση του IRF3 προκύπτουν από άλλες μελέτες (465). Έτσι, δεν είναι σαφές εάν υπό την επίδραση του Ro52 αναστέλλεται η ρύθμιση της IFN-1 ή τελικά προάγεται. Η ουμπικουιτινοποίηση του IRF7 από το Ro52 προάγει την αποδόμησή, που ακολουθείται από διέγερση των TLR7 και TLR9 και τελικά ελαττωμένη παραγωγή IFN-α. Πιθανώς δε η δράση αυτή του TRIM21 να συνεπικουρείται από μια σχετιζόμενη με τον κυτταρικό θάνατο περιοχή (Fas associated death domain- FADD) (466). Μελέτες σε σε ποντικούς με έλλειψη TRIM21 έδειξαν τη σημασία του για την πολύ-ουμπικουιτινοποίηση και αποδόμηση του IRF5 σε συνδυασμό με τους παράγοντες IRF3, IR7 και IRF8 (467). Συμπερασματικά λοιπόν, αν και δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί η επίδραση του TRIM21 στην

IFN, υπάρχουν πολλαπλές ενδείξεις ότι αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της φυσικής ανοσίας

Όσον αφορά την επίκτητη ανοσία, έχει δειχθεί πιθανή συμμετοχή του TRIM21 στη ρύθμιση της ενεργοποίησης και του πολλαπλασιασμού των Τ-λεμφοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, η υπερέκφραση του TRIM21 οδηγεί σε αύξηση της IL-2 σε Jurkat Τ-λεμφοκύτταρα ενεργοποιημένα με CD28 (468). Τα ελαττωμένα επίπεδα της IL-2 οδηγούν σε καταστολή του κυτταρικού θανάτου και μακροημέρευση των αυτοαντιδραστικών Τ-κυττάρων σε ασθενείς με ΣΕΛ (469). Σε Β-κυτταρική σειρά ποντικών έχει δειχθεί ότι το TRIM21 μπορεί να ρυθμίζει αρνητικά την ανάπτυξη των κυττάρων και μέσω του CD40 ευνοεί την απόπτωση (470).

Έχει διατυπωθεί ακόμη η υπόθεση ότι τα προϊόντα της αποδόμησης των κυττάρων θα μπορούσαν να λειτουργήσουν ως αντιγόνα, προάγοντας έτσι την παραγωγή αντισωμάτων έναντι του TRIM21 και συντηρώντας τη φλεγμονώδη απάντηση (471). Από την άλλη πλευρά, η αυξημένη έκφραση του TRIM21 ενδεχομένως να συνδέεται με τον ελαττωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον αυξημένο αποπτωτικό θάνατο που διαπιστώνεται σε ασθενείς με ΣΕΛ και SS.

Επιπρόσθετα, η ανοσοσφαιρίνη IgG έχει μελετηθεί εκτενώς ως πιθανός στόχος του TRIM21 (472, 473). Διάφορες μελέτες έδειξαν τη σύνδεση του TRIM21 με το Fc τμήμα της ανθρώπινης IgG1, IgG2 και IgG4 ανοσοσφαιρίνης μέσω της περιοχής PRYSPRY και μάλιστα με μεγάλη συγγένεια (474, 475). Φαίνεται λοιπόν ότι η περιοχή αυτή συνδέει διαφορετικά τμήματα της Fc περιοχής όπου συνδέεται και ο υποδοχέας FcγR, εύρημα το οποίο δεν

επιβεβαιώνεται σε ποντικούς (473). Παρόλο που η ακριβής σημασία της αλληλεπίδρασης TRIM21 και IgG δεν έχει διευκρινιστεί, δεν αποκλείεται να διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην παθογένεια νοσημάτων όπως ο ΣΕΛ και το SS (476).

5.4 Αντιγονικοί επίτοποι του Ro52

Οι αντιγονικοί επίτοποι του Ro52 έχουν μελετηθεί εκτενώς στο SS και σε μια ακόμη σειρά αυτοάνοσων νοσημάτων (πίνακας 11, εικόνα 15). Μεταξύ των διάφορων μελετών διαπιστώνονται σημαντικές διαφορές (477). Η μεγάλη ετερογένεια των αποτελεσμάτων των ερευνητικών ομάδων, θα μπορούσε να οφείλεται στη χρησιμοποιούμενη μεθοδολογία, αλλά και το υποκείμενο αυτοάνοσο νοσήμα (32, 34, 478).

Έτσι, ο Bozic και συν έλεγξαν τους επιτόπους του Ro52, με ανοσοκατακρήμνιση και χρήση ανασυνδυασμένων τμημάτων της πρωτεΐνης σε ασθενείς με ΣΕΛ, pSS και SS (479). Φάνηκε λοιπόν ότι οι ασθενείς με ΣΕΛ αναγνωρίζουν κυρίως έναν επίτοπο που αντιστοιχεί στα αα 216–292, ενώ οι προερχόμενοι από τις άλλες ομάδες νοσημάτων τα αα 55–292. Σε μια άλλη μελέτη του Blange και συν (480), με τη χρήση διαφορετικού μήκους (31–292 αμινοξέων) τμημάτων της πρωτεΐνης και ανάλυση 41 ασθενών διαπιστώθηκε ότι ένας κυρίαρχος επίτοπος αφορούσε την κεντρική περιοχή της πρωτεΐνης και πιο συγκεκριμένα τα αα 136–292. Η πλειοψηφία μάλιστα των ασθενών φάνηκε να αναγνωρίζει τα αα 136–227. Επιπλέον, αρκετοί από τους ασθενείς έδειχναν αντιδραστικότητα έναντι του αμινοτελικού άκρου της πρωτεΐνης.

Η χρήση ανοσοκατακρήμνιση και ραδιοσήμανση με ^{35}S ανέδειξε ότι στο σύνολό τους (95%) οι ασθενείς με παρουσία anti-Ro52 αναγνωρίζουν ένα μεγάλο αντιγονικό τμήμα που εκτείνεται μεταξύ των αα 1 και 291. Μάλιστα εντός αυτού του τμήματος διαπιστώθηκαν δύο επιμέρους τμήματα στα αα 1-78 και αα 169-291, που φαίνεται ότι επίσης είναι ισχυρά ανοσογόνα.(481)

Ακόμη, η χαρτογράφηση του Ro52 σε 21 ασθενείς με ΣΕΛ και τη χρήση ανασυνδυασμένων τμημάτων της πρωτεΐνης σε ανοσοαποτύπωση κατά Western, έδειξε αντιδραστικότητα έναντι μιας περιοχής που καλύπτει τα αα 135-232 (482). Στην ίδια μελέτη, διαπιστώθηκε η απουσία αντιδραστικότητας έναντι του τμήματος αα 1-196. Θεωρήθηκε λοιπόν ότι η θέση του επιτόπου αφορούσε τα αα 197-232 (φερμουάρ λευκίνης), που επιβεβαιώθηκε με τη χρήση συνθετικών πεπτιδίων (αα 197-207).

Η χρήση 39 συνθετικών πεπτιδίων μήκους 10-24 αα, με κάλυψη ολόκληρου το Ro52 σε ασθενείς με διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα, ανέδειξε ως πιθανούς επιτόπους τα πεπτίδια που αντιστοιχούσαν στα αα 2-11, 107-122, 277-292 και 365-382 (483). Οι συγκεκριμένες αλληλουχίες αναγνωρίστηκαν πρωτίστως από τους ασθενείς με SS και σε διαφορετικό βαθμό από τους ορούς των ασθενών αναλόγως του υποκείμενου νοσήματος.

Χρησιμοποιώντας διαφορετική προσέγγιση και χιμαιρικές πρωτεΐνες, άλλοι ερευνητές έδειξαν ως πιθανό επίτοπο την περιοχή του φερμουάρ λευκίνης (484, 485). Στην πρώτη περίπτωση οι McCauliffe και συν (484) μελέτησαν ασθενείς με SS, νεογνικό και υποξύ δερματικό λύκο και φάνηκε αντιδραστικότητα έναντι των αα 138-340, ενώ πάνω από τους μισούς ασθενείς αναγνώρισαν και την αμινοτελική περιοχή του Ro52. Η χρήση άλλων

πρωτεϊνικών τμημάτων από τους Kato και συν (485) έδειξε αντιδραστικότητα έναντι των αα 190-245 σε ασθενείς με ΣΕΛ και SS. Ωστόσο, ο έλεγχος μικρότερων τμημάτων δεν ανέδειξε αντιδραστικότητα, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία πιθανού διαμορφωτικού επιτόπου.

Στη μελέτη του Dorner και συν, οι οροί των ασθενών που ελέγχθηκαν και ανεξαρτήτως υποκείμενου νοσήματος (SS, συγγενής καρδιακός αποκλεισμός ή υγιή νεογνά από μητέρες με ΣΕΛ- θετικά για το Ro52) αναγνώρισαν καθολικά σχεδόν την περιοχή που αντιστοιχεί στα αα 197-245 και σε μικρότερο βαθμό αυτή των αα 153-196 (486). Η ίδια ομάδα συγκρίνοντας ασθενείς με SS και ΠΧΧ, διαπίστωσε ότι οι μεν πρώτοι αναγνωρίζουν τις προαναφερθείσες αλληλουχίες, ενώ αυτοί με την ΠΧΧ μια μικρή μόνο αλληλουχία και πιο συγκεκριμένα τα αα 228-245 (487).

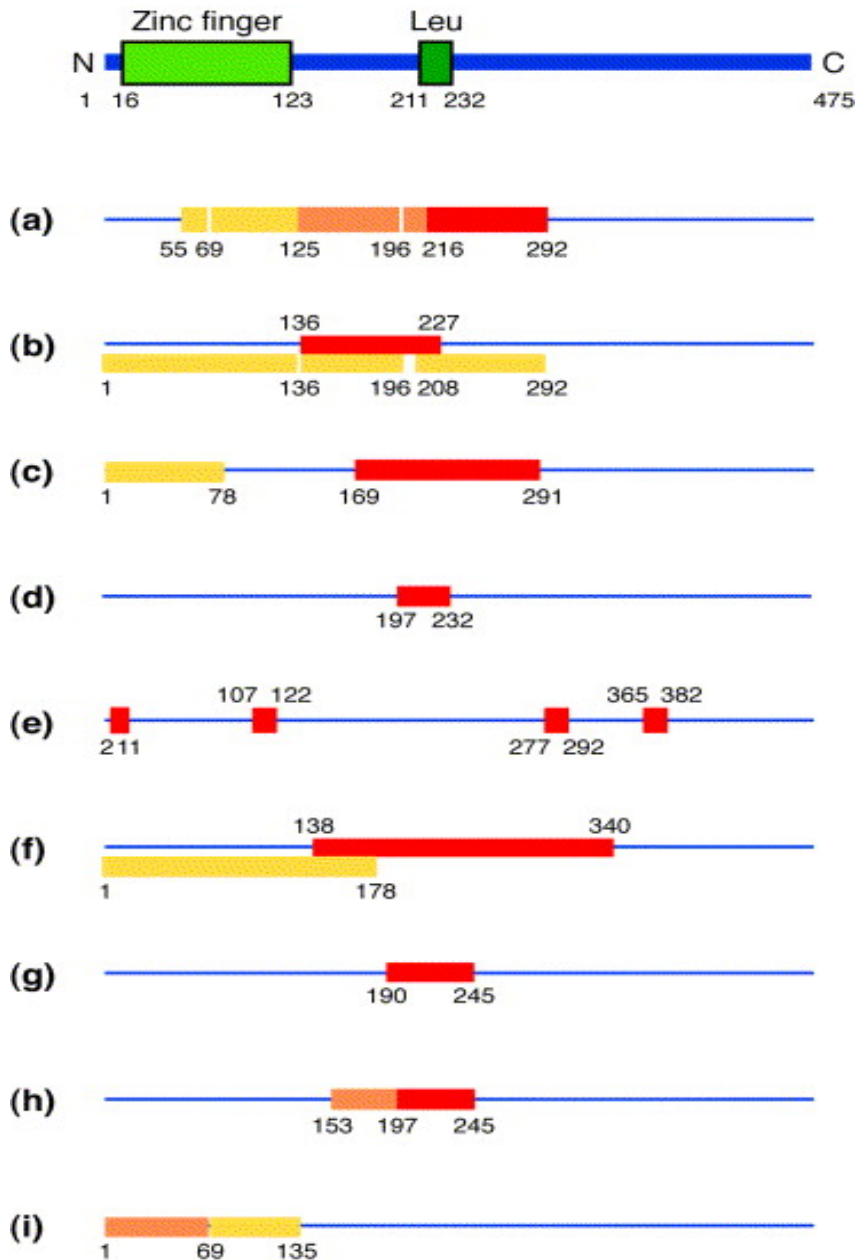
Ακόμη, ο έλεγχος με τη χρήση συνθετικών πεπτιδίων σε μητέρες παιδιών με συγγενή νεογνικό λύκο ανέδειξε ως πιθανό αντιγονικό επίτοπο την περιοχή που αντιστοιχεί στα αα 200-239, στην περιοχή του φερμουάρ λευκίνης (488, 489).

Τέλος, με τη χρήση ανασυνδυασμένων τμημάτων σε ανοσοαποτύπωση φάνηκε η περιοχή που αντιστοιχεί στα μοτίβα ψευδαργύρου να περιλαμβάνει δύο διαμορφωτικούς πιθανότερα επιτόπους (490).

5.5 Συνύπαρξη anti-SLA/LP και anti-Ro52 αντισωμάτων.

Το 2007, η μελέτη του Λιάσκου και συν (491), έδειξε ότι σε ποσοστό έως 98% των anti-SLA/LP(+) ασθενών συνυπάρχει αντιδραστικότητα έναντι του Ro/SSA και ιδιαίτερα της υπομονάδας των 52kDa (anti-Ro52). Η συνύπαρξη των anti-SLA/LP και anti-Ro52 δε φαίνεται να είναι αποτέλεσμα μοριακής μίμησης ή διασταυρούμενης αντίδρασης, όπως έδειξαν εκτεταμένα πειράματα αναστολής (491).

Τα υψηλά ποσοστά συνύπαρξης των δύο αυτοαντισωμάτων επιβεβαιώθηκαν και σε άλλες μελέτες και φθάνουν το 77% στους Ευρωπαίους (492) και το 96% στους Βορειοαμερικανούς (493). Έχει δειχθεί ότι η παρουσία είτε μόνο του anti-Ro52 είτε σε συνδυασμό με τα anti-SLA/LP έχει αρνητική επίδραση στους ασθενείς με ΑΗ, αφού συνδέεται με ταχύτερη εξέλιξη σε κίρρωση και θάνατο ή ανάγκη για μεταμόσχευση. Συνεπώς η σοβαρή νόσος που περιγράφεται στους anti-SLA/LP ασθενείς (445) θα μπορούσε να οφείλεται στη συνύπαρξη με το Ro52 και στην επίδραση του τελευταίου.



Εικόνα 15. Επίτοποι του Ro52 σε διάφορες μελέτες. Διακρίνονται τα μοτίβα ψευδαργύρου (Zinc finger) και το φερμουάρ λευκίνης (Leu). Με κόκκινο χρώμα σημειώνονται οι κυρίαρχοι επίτοποι, με πορτοκαλί όσοι αναγνωρίζονται από σημαντικό αριθμό και με κίτρινο αυτοί που αναγνωρίζονται από μικρό αριθμό ασθενών. (a) Bozic και συν (479), (b) Blange και συν (480), (c) Buyon και συν (481), (d) Frank και συν (482), (e) Ricchiuti και συν (483), (f) McCauliffe και συν (484), (g) Kato και συν (485), (h) Dörner και συν (486), and (i) Pournand και συν (490). [Από το Wahren-Herlenius M, Muller S, και Isenberg D, B-cell epitopes of the Ro/SS-A autoantigen. *Immunology Today*, 1999 May;20(5):234-40, σελ. 238, (477)].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6 ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΚΟΠΟΣ

Τα anti-SLA/LP θεωρούνται ειδικά αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται σχεδόν αποκλειστικά στην ΑΗ. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η παρουσία τους χαρακτηρίζει μια ομάδα ασθενών που εμφανίζουν σε γενικές γραμμές βαριά νόσο με σοβαρή πορεία (445, 448). Οι anti-SLA/LP(+) ασθενείς θεωρείται ότι έχουν πιο ενεργή ιστολογικά νόσο και συχνά είναι ήδη κίρρωτικοί κατά τη διάγνωση. Εμφανίζουν ακόμη αντίσταση στην ανοσοκαταστολή και οδηγούνται στο θάνατο ή τη μεταμόσχευση ήπατος συχνότερα και ταχύτερα συγκριτικά με τους anti-SLA/LP(-) ασθενείς.

Το αυτοαντιγόνο-στόχος των anti-SLA/LP έχει χαρακτηριστεί ως μια 50 kDa UGA κατασταλτική tRNA-σχετιζόμενη αντιγονική πρωτεΐνη [tRNP(ser)sec ή **SepSecS** (213, 214)]. Ωστόσο, η λειτουργία της συγκεκριμένης πρωτεΐνης παραμένει άγνωστη. Από την άλλη πλευρά, λόγω της εξαιρετικής ειδικότητας που παρουσιάζουν τα anti-SLA/LP για την ΑΗ θα μπορούσε να υποθέσει κανείς ότι έχουν ακόμη και παθογενετικό ρόλο.

Στην προσπάθεια συσχέτισης της δραστηριότητας έναντι του SLA/LP με άλλα πυρηνικά αντιγόνα έχουμε παρατηρήσει ότι στη συντριπτική τους πλειοψηφία οι anti-SLA/LP (+) ασθενείς εμφανίζουν αντιδραστικότητα έναντι του Ro-52 αυτοαντιγόνου, που είναι μέρος του ριβονουκλεοπρωτεϊνικού (RNP) συμπλέγματος Ro/SS-A. Τα ευρήματα αυτά δεν είναι αποτέλεσμα μοριακής μίμησης και διασταυρούμενης ανοσολογικής αντίδρασης όπως έχει φανεί σε εκτεταμένα πειράματα αναστολής (491).

Η ακριβής κλινική σημασία των anti-Ro52 αντισωμάτων στους ασθενείς με ΑΗ είναι επίσης άγνωστη. Με βάση τα παραπάνω και τη συχνή συνύπαρξή τους με τα anti-SLA/LP, θα μπορούσε να υποθεθεί ότι έχουν επίσης ρόλο στην παθογένεση της νόσου.

Ο χαρακτηρισμός λοιπόν των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων του Ro-52 και η σύγκριση με εκείνους του SLA/LP θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικά συμπεράσματα για το μηχανισμό που είναι υπεύθυνος για αυτή τη συνύπαρξη των δύο αυτοαντισωμάτων στους ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος.

Σκοπός λοιπόν της παρούσας εργασίας είναι:

- ο έλεγχος της κλινικής σημασίας των anti-SLA/LP σε ασθενείς με ΑΗ
- ο έλεγχος της κλινικής σημασίας των anti-Ro52 σε ασθενείς με ΑΗ
- ο έλεγχος της κλινικής σημασίας της συνύπαρξης anti-SLA/LP και anti-Ro52 σε ασθενείς με ΑΗ
- η ταυτοποίηση των κυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων του αυτοαντιγόνου Ro-52 σε anti-SLA/LP θετικούς και αρνητικούς ασθενείς με ΑΗ
- η σύγκριση των κυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών Ro-52 επιτόπων με εκείνους του SLA/LP

7 ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 Ασθενείς

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν 129 διαδοχικοί ασθενείς (94 γυναίκες και 35 άνδρες), με μέση ηλικία τα 49 έτη (εύρος ηλικιών 6 έως 76 έτη) με καλά τεκμηριωμένη ΑΗ με βάση τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου (46, 47), που παρακολουθούνταν στο Ηπατολογικό Ιατρείο της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το χρονικό διάστημα 2001-2012.

Οι ασθενείς με ΑΗ που εμφάνιζαν συννοσηρότητα με SS, εναλλακτικά σύνδρομα με ΠΧΧ και ΠΣΧ, χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες (HBV και HCV) ή άλλη χρόνια ηπατοπάθεια αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Τα δημογραφικά, βιοχημικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη φαίνονται στον πίνακα 12.

Σε 32 από τους ασθενείς (25%, 95% CI:18-33), η νόσος είχε εκδηλωθεί με οξεία μορφή, ενώ στις υπόλοιπους 97 (67%, 95% CI:67-82) η έναρξη ήταν περισσότερο ύπουλη-συγκεκαλυμμένη. Η μέση διάρκεια παρακολούθησης των ασθενών ήταν 83 ± 74 μήνες, η μέση διάρκεια της νόσου ήταν 98 ± 74 μήνες, ενώ το διάμεσο χρονικό διάστημα από την έναρξη της νόσου έως τη διάγνωση ήταν 12 (0-240) μήνες. Κατά τη διάγνωση 78 ασθενείς (60%, 95% CI:51-68) εμφάνιζαν συμπτώματα, (αδυναμία, ανορεξία, αρθραλγίες, δεκατική πυρετική κίνηση, αμηνόρροια ή ίκτερο), ενώ οι υπόλοιποι 51 (40%, 95%CI:31-48) ήταν πλήρως ασυμπτωματικοί. Επιπλέον, κατά τη διάγνωση 40 από τους ασθενείς (31%, 95% CI:23-40) ήταν ήδη κίρρωτικοί.

Σε 39 από τους ασθενείς (30%, 95% CI;23-39) συνυπήρχε και άλλο αυτοάνοσο νόσημα. Πιο συγκεκριμένα, 12 ασθενείς εμφάνιζαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto, 8 ασθενείς αναιμία Biermer, 5 ψωρίαση, 4 πολλαπλή σκλήρυνση, 2 κοιλιοκάκη, 2 λεύκη, 2 σκληρόδερμα, 2 ελκώδη κολίτιδα, 1 ρευματοειδή αρθρίτιδα και 1 νόσο Graves'.

Πριν την έναρξη της θεραπείας, πραγματοποιήθηκε βιοψία ήπατος σε 107 συνολικά ασθενείς (82%) και σε κάθε περίπτωση τα ευρήματα ήταν τυπικά ή συμβατά με ΑΗ. Στους εναπομείναντες 22 ασθενείς δεν διενεργήθηκε βιοψία είτε λόγω αντενδείξεων, όπως διαταραχές του πηκτικού μηχανισμού (σοβαρή θρομβοπενία ή παράταση του χρόνου προθρομβίνης), ιδιαίτερα σε όσους εμφανίστηκαν με οξεία σοβαρή μορφή της νόσου είτε λόγω άρνησης της διαδικασίας εκ μέρους τους.

Η ιστολογική εκτίμηση πραγματοποιήθηκε από Παθολογοανατόμο με εμπειρία στη μελέτη της ηπατικής βιοψίας, με τη χρήση του συστήματος Knodell (494) για την εκτίμηση της ιστολογικής ενεργότητας (HAI). Στη συνέχεια, αναλόγως των ευρημάτων και για λόγους στατιστικής επεξεργασίας, οι ασθενείς χωρίστηκαν ως εξής:

- Με βάση την παρουσία *φλεγμονής* διακρίθηκαν δύο ομάδες:
 - με *ελάχιστη ή ήπια* (score:0-8) και
 - με *μέτρια ή σοβαρή* (score:9-18) φλεγμονή.
- Με βάση την *ίνωση* στη βιοψία ήπατος χωρίστηκαν στις ομάδες:
 - με *καθόλου, ελάχιστη ή μέτρια ίνωση* (score:0-2) και
 - με *σοβαρή ίνωση ή κίρρωση* (score:3-4).

Σε 89 ασθενείς που συναίνεσαν προσδιορίστηκαν τα HLA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και χρήση ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων-εκκινητών (primers).

Θεραπεία για την ΑΗ έλαβαν 108 από τους ασθενείς (84%, 95% CI:76-89). Όλοι αυτοί αντιμετωπίστηκαν με χορήγηση κορτιζόνης και MMF, σύμφωνα με προηγούμενες δημοσιεύσεις και την εμπειρία του Τμήματος (158, 198). Η ανταπόκριση στην αγωγή ορίστηκε σύμφωνα με τις ευρωπαϊκές οδηγίες (44) καθώς και τις πρόσφατες οδηγίες της Ελληνικής Εταιρίας Μελέτης του ήπατος (57) ως ακολούθως:

- **Πλήρης ανταπόκριση** (Complete Response-CR) θεωρήθηκε η παρουσία φυσιολογικών τιμών τρανσαμινασών (AST, ALT) και γ-σφαιρινών (ή IgG) στον ορό, σε συνδυασμό με την απουσία σημαντικής νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας στη βιοψία.

- **Μερική ανταπόκριση** (Partial response-PR) θεωρήθηκε η μείωση των τιμών των τρανσαμινασών σε επίπεδα μικρότερα του διπλάσιου των φυσιολογικών τιμών (<2x ULN), χωρίς ωστόσο, να επιτευχθεί πλήρης εξομάλυνσή τους.

- **Μηδενική ανταπόκριση** (Non response-NR) ορίστηκε η επιμονή της τρανσαμινασαιμίας σε επίπεδα (3xULN) παρά τη χορήγηση εντατικής ανοσοκαταστολής και την επαρκή συμμόρφωση στη θεραπεία.

- Τέλος, **ως ανταπόκριση με υποτροπές** (Response with relapses-RR) κατά τη διάρκεια της θεραπείας ορίστηκε η αρχική πλήρης κλινική και

βιοχημική ανταπόκριση που ακολουθήθηκε από επανεμφάνιση των συμπτωμάτων ή/και της βιοχημικής δραστηριότητας (τιμές AST, ALT >3xULN).

Σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών (n=24, ποσοστό 19,4% του συνόλου), υπήρχε διαθέσιμη επαναληπτική βιοψία μετά από ορισμένα έτη αγωγής ($3,8 \pm 1,7$), για την εκτίμηση της νεκροφλεγμονώδους δραστηριότητας και της ίνωσης πριν την πιθανή διακοπή της θεραπείας. Οι προαναφερθέντες ασθενείς βρίσκονταν σε βιοχημική ύφεση για τουλάχιστον δύο έτη, ενώ προκειμένου να αποφασιστεί διακοπή της αγωγής, δεν έπρεπε να εμφανίζουν HAI >3 στη βιοψία ήπατος.

Όσον αφορά την τελική έκβαση των ασθενών, 1 υποβλήθηκε σε μεταμόσχευση ήπατος, ενώ 14 απεβίωσαν συνολικά εξαιτίας ηπατικών αιτίων στο διάστημα της παρακολούθησης.

Σημειώνεται ότι το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε είχε την έγκριση της Επιτροπής Δεοντολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Επιπλέον, όλοι οι ασθενείς είχαν δηλώσει εγγράφως τη συγκατάθεσή τους προκειμένου να συμπεριληφθούν στη μελέτη.

**Πίνακας 12. Χαρακτηριστικά των ασθενών με ΑΗ
που συμπεριλήφθησαν στη μελέτη (n=129)**

Φύλο (θήλυ/άρρεν)	94 / 35
Ηλικία	49 ± 15,8
Τρόπος εισβολής της νόσου (οξεία ικτερική ηπατίτιδα/ύπουλη έναρξη)	32 / 97
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	98 ± 74
Χρόνος έως τη διάγνωση (μήνες)	12 (0-240)
Συμπτώματα κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	78 / 51
Συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων (ναι/όχι)	39 / 90
Κίρρωση κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	40 / 89
Διάρκεια παρακολούθησης (μήνες)	83 ± 74,6
AST (U/L)	120 (16-4150)
ALT(U/L)	163 (9-3500)
IgG (mg/dl)	1841 (901-6410)
σφαιρίνες (g/dl)	3,8 (2,2-7,3)
Χολερυθρίνη (mg/dl)	1 (0,21-12,5)
γ GT (U/L)	58 (10-618)
ALP (U/L)	122 (25-223)
Βιοψία προ έναρξης θεραπείας (n=107)	
<ul style="list-style-type: none"> • φλεγμονή (ελάχιστη ή ήπια/μέτρια ή σοβαρή) • ίνωση (ήπια ή μέτρια/σοβαρή ή κίρρωση) 	65 / 42 36 / 71
Αγωγή (ναι/όχι)	108 / 21
Βελτίωση του σταδίου της βιοψίας ήπατος μετά τη θεραπεία (ναι/όχι, n=24)	7/ 17
Παρουσία αυτοαντισωμάτων (ναι/όχι)	
<ul style="list-style-type: none"> • ANA • SMA • LKM 	93 / 36 129 / 0 7 / 122
HLA typing (n=89)	
<ul style="list-style-type: none"> • A1B8DR3 (ναι/όχι) • DR3 (ναι/όχι) • DR4 (ναι/όχι) • DR7 (ναι/όχι) • DR11 (ναι/όχι) • DR13 (ναι/όχι) 	10 / 79 35 / 54 12 / 77 7 / 82 33 / 56 20 / 69
Μεταμόσχευση ήπατος (ναι/όχι)	1 / 128
Θάνατος οφειλόμενος σε ηπατικά αίτια (ναι/όχι)	14 / 115

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση στην περίπτωση κανονικών κατανομών ή ως διάμεσος τιμή (εύρος).

7.2 Μέθοδοι

Οι οροί των ασθενών αποθηκεύθηκαν και έως την εκτέλεση των πειραμάτων φυλάσσονταν σε θερμοκρασία -20°C . Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων επιλέχθηκε το εξεταζόμενο δείγμα να είναι το αρχικό του ασθενούς και συνεπώς να αφορά ορό προ της πιθανής έναρξης της ανοσοκατασταλτικής θεραπείας.

Στο σύνολο των ασθενών ελέγχθηκε η παρουσία των anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων με τη χρήση ELISA και ανοσοαποτύπωσης, όπως περιγράφεται αναλυτικά στη συνέχεια. Σε 26 από τους ασθενείς και στους οποίους υπήρχε διαθέσιμη επαρκής ποσότητα ορού, διενεργήθηκε χαρτογράφηση των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων του αυτοαντιγόνου Ro52.

Επιπλέον, 12 οροί ασθενών με επιβεβαιωμένο SS και παρουσία anti-Ro52, ελέγχθηκαν για την παρουσία των αντίστοιχων επιτόπων. Οι συγκεκριμένοι οροί προερχόταν από το εργαστήριο “Κυτταρικής και Μοριακής Ανοσολογίας” του Πανεπιστημίου Αθηνών (ευγενική παραχώρηση του Αν. Καθηγητή Παθολογίας του Παν/μιου Αθηνών Μενέλαου Μανουσάκη) και το εργαστήριο “Immunology and Pathology” του Πανεπιστημίου της Βρετανίας στη Γαλλία (ευγενική παραχώρηση του Καθηγητή Ανοσολογίας του Παν/μιου της Βρετανίας Yves Renaudineau).

Ομάδα ελέγχου για τη χαρτογράφηση των επιτόπων αποτέλεσαν 25 υγιείς μάρτυρες (αιμοδότες), οι οποίοι προηγουμένως ελέγχθηκαν αρνητικοί για χρόνια ιογενή ηπατίτιδα ή παρουσία αυτοαντισωμάτων.

7.2.1 Προσδιορισμός των αυτοαντισωμάτων

7.2.1.1 Προσδιορισμός των anti-SLA/LP με ELISA.

Ο προσδιορισμός των anti-SLA/LP έγινε με εμπορικά διαθέσιμη ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) που χρησιμοποιεί μερικώς κεκαθαρμένο, ανασυνδυασμένο, ανθρώπινο SLA/LP (INOVA Diagnostics, INC, San Diego, CA, USA), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Πιο αναλυτικά, ολόκληρο το SLA αντιγόνο είχε προσδεθεί σε πιάτο ELISA από πολυστυρένιο. Από τον κατασκευαστή υπήρχαν διαθέσιμα δείγματα αρνητικών μαρτύρων και τιτλοποιημένα δείγματα θετικών μαρτύρων (χαμηλά θετικό και υψηλά θετικό, low και high positive control αντίστοιχα) , προκειμένου να χρησιμοποιηθούν αφενός για την επιβεβαίωση της σωστής διενέργειας του πειράματος και αφετέρου για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων. Τα δείγματα των μαρτύρων χρησιμοποιήθηκαν ως είχαν, χωρίς δηλαδή αραιώση, ενώ οι οροί των ασθενών αραιώθηκαν σε ειδικό διαλύτη (αραιώση 1:101).

Η προσθήκη στο πιάτο της ELISA 100μl ορού (μαρτύρων και ασθενών) και η επώασή τους για 30' σε θερμοκρασία δωματίου, οδήγησε, εφόσον υπήρχαν anti-SLA/LP αντισώματα στη δέσμευσή από το ακινητοποιημένο αντιγόνο. Πλύσεις του πιάτου απομάκρυναν την περίσσεια του ορού.

Ακολούθησε προσθήκη 100μl σημασμένου με ένζυμο αντι-ανθρώπινου (anti-human) IgG σε κάθε πηγαδάκι ELISA και νέα επώαση διάρκειας 30' σε θερμοκρασία δωματίου. Το anti-human IgG συνδέθηκε με το ήδη υπάρχον

σύμπλεγμα αντισώματος-ακίνητοποιημένου αντιγόνου, ενώ η περίσσεια απομακρύνθηκε με νέα έκπλυση του πιάτου.

Η δραστικότητα του εναπομείναντος ενζύμου αναδείχθηκε μετά από επώαση διάρκειας 30' με χρωμογόνο (3,3',5,5'- tetramethylbenzidine- TBM), διακοπή της αντίδρασης με 0,344M H₂SO₄ και φωτομέτρηση στα 450nm με φίλτρο αναφοράς στα 620nm (Dynex Technologies, Opsys MR Microplate Reader).

Ακολούθησε σύγκριση των τιμών των οπτικής πυκνότητας (OD) των ασθενών με αυτή των θετικών μαρτύρων και ημιποσοτική αναγωγή σε μονάδες (Units-U) ως εξής:

$$\text{Τιμή δείγματος (Units)} = \frac{\text{Απορρόφηση δείγματος}}{\text{Απορρόφηση Low positive}} \times \text{Low positive Units}$$

Όλοι οι εξεταζόμενοι οροί με τιμές άνω των 25 U θεωρήθηκαν θετικοί για την παρουσία anti-SLA/LP.

7.2.1.2 Προσδιορισμός των anti-SLA/LP με in house ανοσοαποτύπωση

Η ανίχνευση των anti-SLA/LP αντισωμάτων επιβεβαιώθηκε με τη χρήση ανοσοαποτύπωσης κατά Western (Western blot-WB), με μέθοδο που που στήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Παθολογίας του Π.Θ (in house). Συγκεκριμένα, ομογενοποίημα ήπατος αρουραίου (Whistar rat) φυγοκεντρήθηκε στα 50.000 rpm για 1 ώρα στους 4°C και στη συνέχεια ελήφθη το υπερκείμενο, που αποτελεί το κυτοσολικό κλάσμα των ηπατοκυττάρων.

Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδιου (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis- SDS-PAGE). Η πηκτή που δημιουργήθηκε αποτελούνταν από δύο μέρη, την πηκτή διαχωρισμού 10% (Separating gel από: 9.9ml H₂O, 8.3ml 30% Acrylamide mix, 6,3ml 1.5 M Tris, 250μl 10% SDS, 250μl Ammonium Persulfate-APS και 10μl TEMED) και την πηκτή συμπύκνωσης (Stacking gel από: 6,8ml H₂O, 1,7 ml 30% Acrylamide mix, 1,25 ml 1 M Tris, 100 μl SDS, 100 ml APS και 10 μl TEMED), που τοποθετήθηκαν σε τζαμάκια κατάλληλης συσκευής και αφέθηκαν να πήξουν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια φορτώθηκαν στα αντίστοιχα πηγαδάκια 50μg από την προς διαχωρισμό πρωτεΐνη (που απομονώθηκε όπως προαναφέρθηκε από την φυγοκέντρηση ομογενοποιημένου ήπατος) σε ρυθμιστικό διάλυμα φόρτωσης (loading buffer από: 0,5gr SDS, 2,5mg EDTA, 5mg NaN₃, 1,25ml Stamm Buffer, 5 ml Glycerol, 5mg Bromophenol blue σε 50ml H₂O και 1:100μl DTT) και ακολούθησε ολονύχτια ηλεκτροφόρηση σε κάθετη συσκευή ηλεκτροφόρησης στα 50V σε ψυχρό θάλαμο.

Την επόμενη ημέρα έγινε η μεταφορά (transfer) της πηκτής με τις διαχωρισμένες πλέον πρωτεΐνες σε PDVF μεμβράνη (Immobilon-P, Millipore, Cat No. IPVH00010, Eschborn, Germany). Συνοπτικά, δημιουργήθηκε ένα sandwich με την πηκτική, τη μεμβράνη, χαρτιά Whatmann και σφουγγαράκια εμβαπτισμένα σε κατάλληλο διάλυμα (Transfer buffer: 0,24M Tris, 0,2 M Glycin, 0,1% SDS, 1L Methanol και 4L H₂O). Τα ανωτέρω τοποθετήθηκαν σε αντίστοιχη συσκευή μεταφοράς (transfer) για 2 ώρες στα 450mA.

Η μεμβράνη που πρόεκυψε βάφθηκε με Ponceau S (0.1% σε 5%CH₃COOH) και η ποσότητα που περίσσεψε απομακρύνθηκε με πλύσεις με PBS-Tween 20. Όταν στέγνωσε, η μεμβράνη κόπηκε σε λωρίδες (strips), που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των anti-SLA/LP αυτοαντισωμάτων στα δείγματα των ασθενών.

Συνοπτικά, τα strips επωάστηκαν αρχικά σε 1,5 ml 5% αποβουτυρωμένο γάλα για 30' σε ήπια ανάδευση (shaker). Στη συνέχεια σε κάθε ένα προστέθηκε ο υπό εξέταση ορός του ασθενούς για 1,5 ώρα (αραίωση των ορών 1:100 σε 5% ημιαποβουτυρωμένο γάλα σε PBS-Tween-20) σε θερμοκρασία δωματίου.

Μετά από τρεις διαδοχικές πλύσεις (PBS/Tween20) προστέθηκε anti-human IgG (Sigma Aldrich, Co, LCC, St. Louis, USA) σε αραίωση 1:500 σε 5% αποβουτυρωμένο γάλα σε PBS/Tween20 για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου σε shaker και ακολούθησε νέο στάδιο πλύσεων. Η πρόσδεση των αντισωμάτων ανιχνεύτηκε με την προσθήκη χρωμογόνου 3,3'-

Diaminobenzidine-DAB (Sigma Aldrich, Co, LCC, St Louis, USA) για 20' και η αντίδραση τερματίστηκε με την προσθήκη περίσσειας απεσταγμένου νερού.

Η χρήση αφενός μεν πρωτεϊνών-δεικτών με γνωστό μοριακό βάρος (protein ladders) και αφετέρου ορών θετικών για anti-SLA/LP επέτρεψε τη σύγκριση των εξεταζόμενων ορών για παρουσία των αντισωμάτων. Η ανάδειξη ζώνης- μπάντας μοριακού βάρους 50 kDa θεωρήθηκε επιβεβαιωτική της παρουσίας anti-SLA/LP αντισωμάτων.

7.2.1.3 Προσδιορισμός των anti-Ro52 με ELISA

Η ανίχνευση των anti-Ro52 αντισωμάτων πραγματοποιήθηκε με εμπορικά διαθέσιμη ELISA (INOVA, Diagnostics INC, San Diego, CA, USA), που χρησιμοποιεί ανασυνδυασμένο αντιγόνο Ro52, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Παρόμοια με το SLA/LP, ολόκληρο το ανασυνδυασμένο Ro52 είχε επιστρωθεί από τον κατασκευαστή σε πιάτα ELISA πολυστυρενίου σε συνθήκες που διατηρούν τις αντιγονικές του ιδιότητες. Παράλληλα παρέχονταν τιτλοποιημένα δείγματα θετικών (low και high positive) και αρνητικών μαρτύρων, απαραίτητα τόσο για τον ποιοτικό έλεγχο του πειράματος όσο και για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων.

Στο πρώτο στάδιο προστέθηκαν στα πηγαδάκια 100μl ορού ασθενούς (αραίωση 1:101 σε ειδικό διαλύτη) και δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων (παρέχονται από τον κατασκευαστή έτοιμα προς χρήση), που

επώαστηκαν για 30' σε θερμοκρασία δωματίου. Έτσι, δόθηκε η δυνατότητα στα anti-Ro52 αντισώματα να συνδεθούν με το ακινητοποιημένο αντιγόνο. Ακολούθησαν πλύσεις του πιάτου και απομάκρυνση της περίσσειας του ορού.

Στο επόμενο στάδιο προστέθηκε σε κάθε πηγαδάκι anti-human IgG ως δεύτερο αντίσωμα για 30' σε θερμοκρασία δωματίου, το οποίο επί παρουσίας anti-Ro52 αντισώματος, συνδέθηκε με το συμπλέγμα πλέον ακινητοποιημένου αντιγόνου-αντισωμάτων. Η περίσσεια του anti-human IgG απομακρύνθηκε με πλύσιμο του πιάτου.

Ακολουθούθησε προσθήκη χρωμογόνου TBM, επώαση 30', διακοπή της αντίδρασης με 0,344M H₂SO₄, μέτρηση της πυκνότητας του χρώματος που αναπτύχθηκε σε κάθε πηγαδάκι (450nm με φίλτρο αναφοράς στα 620nm). Για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων, πραγματοποιήθηκε σύγκριση με την απορρόφηση των χαμηλά θετικών μαρτύρων και αναγωγή σε U.

$$\text{Τιμή δείγματος (Units)} = \frac{\text{Απορρόφηση δείγματος}}{\text{Απορρόφηση Low positive}} \times \text{Low positive Units}$$

Ως προς την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, κάθε δείγμα ασθενούς με τιμή >20 U, θεωρήθηκε θετικό για την παρουσία anti-Ro52.

7.2.1.4 Προσδιορισμός των anti-SLA/LP και anti-Ro52 με ανοσοαποτύπωση EUROLINE

Επιπρόσθετα, ελέγχθηκε η παρουσία των anti-SLA/LP και anti-Ro52 αντισωμάτων με EUROLINE-WB Autoimmune Liver Diseases Profile (Cat No. DL 1300-1601-5 G, Euroimmun, AG, Lubeck, Γερμανία), μια μέθοδο που χρησιμοποιεί κεκαθαμένα αντιγόνα καθλωμένα σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και στερεωμένα παράλληλα σε λωρίδες πλαστικού.

Συνοπτικά, οι λωρίδες επωάζονται αρχικά με 1,5ml blocking buffer για 5' και στη συνέχεια προστίθενται 1,5ml από τους ορούς των ασθενών (αραίωση 1:50 σε διαλύτη- sample buffer του κατασκευαστή- Cat No. ZF 1120-0530-02) για 30' σε θερμοκρασία δωματίου. Επί παρουσίας αντισωμάτων στον υπό εξέταση ορό, αυτά συνδέονται με τα ακινητοποιημένα αντιγόνα.

Ακολουθούν 3 κύκλοι έκπλυσης και στη συνέχεια προσθήκη αντι-ανθρώπινου IgG αντισώματος σημασμένου με αλκαλική φωσφατάση (ZD 1129-0101 G) και νέα επώαση διάρκειας 30' σε θερμοκρασία δωματίου, με σκοπό να επιτραπεί η σύνδεση του αντισώματος με το σύμπλεγμα αντισώματος- ακινητοποιημένου αντιγόνου. Στη συνέχεια προστίθεται για 10' χρωμογόνο (TBM), διακόπτεται η αντίδραση με προσθήκη απεσταγμένου νερού, απομακρύνεται η ποσότητα υγρού από τις λωρίδες και αξιολογούνται τα αποτελέσματα.

Η ανάδειξη ζώνης-μπάντας (σε συμφωνία και με την παρουσία θετικού μάρτυρα) θεωρήθηκε επιβεβαιωτική της παρουσίας του αυτοαντισώματος.

7.2.1.5 Καθορισμός άλλων αυτοαντισωμάτων

Η παρουσία ANA, AMA, SMA, PCA, anti-LKM1 και anti-LC1 ελέγχθηκε με έμμεσο ανοσοφθορισμό (IIF) σε in house φρέσκες καταψυγμένες ιστικές τομές νεφρού, στομάχου και ήπατος αρουραίου (Whistar rat), σύμφωνα και με τις οδηγίες της IAHG (201).

Τα προαναφερθέντα όργανα αφαιρέθηκαν από τους επίμυς, παρασκευάστηκαν σε κρουτόμο (Leica CM1850) τομές πάχους 7mm και τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Οι τομές στα πλακίδια καταχύθηκαν στους -20°C έως τη διεξαγωγή των πειραμάτων και για χρονικό διάστημα που δεν ξεπερνούσε τις έξι εβδομάδες.

Στο πρώτο βήμα, 200 μl ορού των θετικών και αρνητικών μαρτύρων και των υπό εξέταση ασθενών τοποθετήθηκαν σε διαδοχικές αραιώσεις 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 και 1:320 σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS 0,15mol/L, pH 7,4) στα πλακίδια με τις αντίστοιχες τομές. Ακολούθησε επώαση 45' στο σκοτάδι, σε συνθήκες επαρκούς υγρασίας και σε θερμοκρασία δωματίου και κατόπιν πλύσεις με PBS (200μl x 3) προς απομάκρυνση της περίσσειας του ορού.

Στη συνέχεια προστέθηκαν στα πλακίδια 150 μl αντι-ορού (IgG, IgA, IgM, κ και λ άλυσιοι) συζευγμένα με φλουοροσκεΐνη (FITC F0200, Dako Denmark, A/S, Denmark). Η διάρκεια της νέας επώασης ήταν 45' και έγινε εκ νέου στο σκοτάδι και σε συνθήκες επαρκούς υγρασίας. Η σύνδεση των αυτοαντισωμάτων με τον αντιορό το ύς προσέδωσε τη χαρακτηριστική πράσινη απόχρωση του φθορισμού, στην εξέταση σε ειδικό μικροσκόπιο

ανοσοφθορισμού (Zeiss Axiolab). Τίτλοι αντισωμάτων >1:40 θεωρήθηκαν θετικοί.

Η παρουσία των anti-LKM1 και anti-LC1 ελέγχθηκε επιπλέον με in house ανοσοαποτύπωση χρησιμοποιώντας κατάλληλα αντιγόνα που απομονώθηκαν από ομογενοποίημα ήπατος αρουραίου (Whistar rats). Για την ανίχνευση του anti-LC1 χρησιμοποιήθηκε το κυτοσολικό κλάμα που ελήφθη από τη φυγοκέντρηση (παρόμοια με τα προαναφερθέντα για το anti-SLA/LP). Στην ανίχνευση των anti-LKM χρησιμοποιήθηκε το μικροσωματικό κλάμα (προϊόν του ιζήματος στην προαναφερθείσα φυγοκέντρηση).

Σημειώνεται, ωστόσο, ότι στην περίπτωση των anti-LC1 χρησιμοποιήθηκε η θετική μπάντα αντιστοιχούσε στα 60 kDa, ενώ η θετική μπάντα για τα anti-LKM1 προσδιορίστηκε στα 50 kDa και για τα anti-LKM3 στα 55 kDa

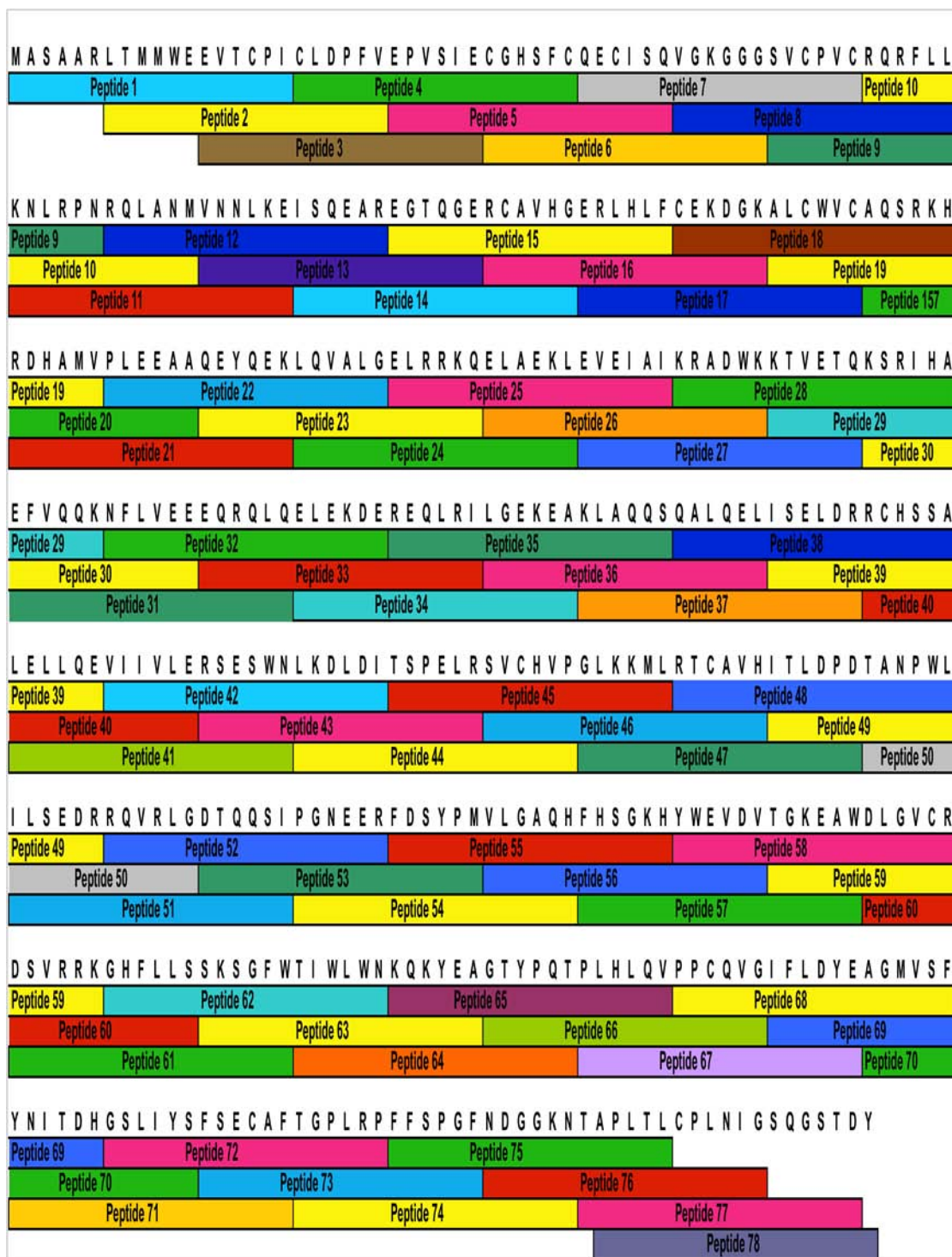
7.2.2 Χαρτογράφηση των επιτόπων του Ro52

Ο έλεγχος των αντιγονικών περιοχών της πρωτεΐνης Ro52 πραγματοποιήθηκε σε είκοσι έξι συνολικά ασθενείς με ΑΗ με ELISA. Οι 14 από αυτούς ήταν anti-SLA/LP(+)/anti-Ro52(+) και οι υπόλοιποι 12 ήταν anti-SLA/LP(-)anti-Ro52(+). Ελέγχθηκαν ακόμη 12 ασθενείς με επιβεβαιωμένο πρωτοπαθές SS και γνωστή αντιδραστικότητα έναντι του Ro52 καθώς επίσης 25 υγιείς μάρτυρες.

7.2.2.1 Πεπτίδια

Για τη χαρτογράφηση των επιτόπων χρησιμοποιήθηκαν συνθετικά πεπτίδια που κάλυπταν όλο το μήκος της πρωτεΐνης Ro52 σε ELISA, δηλαδή τα αμινοξέα (αα) 1-475. Πιο συγκεκριμένα, κατασκευάστηκαν 78 πεπτίδια μήκους 18 αα (18-μερή), μέσω της τεχνολογίας f-moc (Mimotopes, Australia Pty, Ltd). Τα πεπτίδια περιλάμβαναν ολόκληρη την αλληλουχία του ανασυνδυασμένου Ro52 και ήταν αλληλοεπικαλυπτόμενα με επικάλυψη (overlap) 12αα και διαφορά (offset) 6αα, όπως φαίνεται και σχηματικά (εικόνα 16).

Η καθαρότητα των πεπτιδίων προσδιορίστηκε από τον κατασκευαστή με υψηλής απόδοσης χρωματογραφία υγρής φάσης (HPLC) και ήταν >90%. Τα πεπτίδια αρχικά βρισκόταν σε μορφή σκόνης και πριν τη χρησιμοποίησή τους διαλυτοποιήθηκαν σε διάλυμα 40% acetonitrile (C₂H₃N), ενώ μέχρι τη διεξαγωγή των πειραμάτων αποθηκεύθηκαν στους -20°C.



Εικόνα 16. Περιγραφή της αλληλουχίας των αμινοξέων στα πεπτίδια και ανάδειξη της εικόνας αλληλοεπικάλυψης αυτών.

7.2.2.2 Πρωτόκολλο χαρτογράφησης των επιτόπων του Ro52 με τη χρήση συνθετικών πεπτιδίων.

Προκαταρκτικά πειράματα με τροποποίηση των διαφόρων επιμέρους παραμέτρων (θερμοκρασία, συγκέντρωση των πεπτιδίων, συγκέντρωση των αντιδραστηρίων, ορών και αντι-ορών, καθώς και των χρόνων επώασης) πραγματοποιήθηκαν, ώστε να διαπιστωθούν οι βέλτιστες συνθήκες, να επιβεβαιωθεί η επαναληψιμότητα και να προτυποποιηθεί η μέθοδος. Προέκυψε λοιπόν το ακόλουθο πρωτόκολλο (εικόνα 17).

Στο αρχικό στάδιο πραγματοποιήθηκε επίστρωση όλων των πεπτιδίων σε πιάτα ELISA πολυστυρενίου 96 θέσεων (MicroWell™ 96-well plate, Nunc®, Denmark). Πιο συγκεκριμένα, σε κάθε πηγαδάκι τοποθετήθηκαν 150μl πεπτιδίου σε συγκέντρωση 10μg/ml σε PBS που περιείχε 0,1% βόειο αλβουμίνη–Bovine Serum Albumin (BSA) και 0,1% αζίδιο του νατρίου (NaN_3) και ακολούθησε επώαση διάρκειας 1,5h στους 37°C. Η περίσσεια του πεπτιδίου απομακρύνθηκε μέσω μιας σειράς 3 διαδοχικών κύκλων έκπλυσης με PBS/Tween 20.

Στη συνέχεια και προκειμένου να αποφευχθεί η μη ειδική δέσμευση, προστέθηκαν σε κάθε πηγαδάκι 150μl 2% BSA σε PBS για 1h σε θερμοκρασία δωματίου (blocking step). Ακολούθησαν 3 κύκλοι έκπλυσης με PBS/Tween 20.

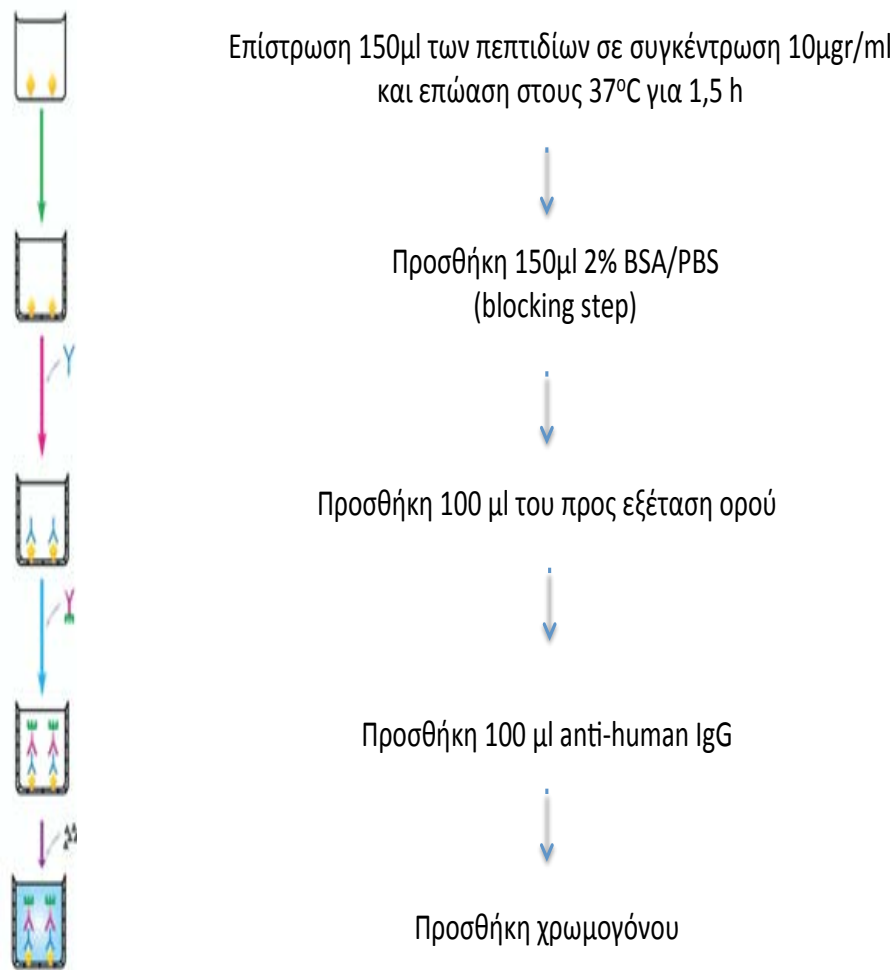
Σε ένα τρίτο βήμα προστέθηκαν 100μl από τους προς εξέταση ορούς, σε συγκέντρωση 1:200 σε 2% BSA/PBS. Η επώαση των ορών διήρκεσε 1,5 ώρα

και πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου. Η περίσσεια ορού απομακρύνθηκε εκ νέου με 3 κύκλους έκπλυσης (PBS/Tween 20).

Ακολούθως προστέθηκε ως δεύτερο αντίσωμα anti-human IgG horseradish peroxidase (Sigma-Aldrich, Co, LCC, St Louis, USA) σε αραιώση 1:1000 σε 2%BSA/PBS για 45', ενώ νέες πλύσεις του πιάτου απομάκρυναν πιθανή περίσσεια.

Στο επόμενο στάδιο, πραγματοποιήθηκε προσθήκη 100 μl χρωμογόνου, o-Phenylenediamine dihydrochloride (OPD- Cat No. P1526, Sigma Aldrich, Co, LCC, St Louis, USA) παρουσία H_2O_2 για 20', ενώ η αντίδραση διεκόπη με προσθήκη 3M H_2SO_4 .

Τέλος, η ανάγνωση των αποτελεσμάτων-απορροφήσεων έγινε με φωτομέτρηση στα 492 nm με φίλτρο αναφοράς τα 630nm (Dynex Technologies, Opsys MR Microplate Reader).



Εικόνα 17: Σχηματική περιγραφή των βημάτων του πρωτοκόλλου της ELISA που χρησιμοποιήθηκε για την ανάδειξη των αντιγονικών επιτόπων. Σημειώνεται ότι μεταξύ των διαδοχικών βημάτων μεσολαβούσαν 3 κύκλοι έκπλυσης με PBS/Tween 20.

7.2.2.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Η παρουσία και η αντιδραστικότητα των πεπτιδίων επιβεβαιώθηκε με τη χρήση πολυκλωνικού αντισώματος έναντι ορισμένης αλληλουχίας του Ro52 (αα 384-398, CHEMICON International, INC).

Με βάση το σχετικά μικρό μέγεθος των πεπτιδίων, την υψηλή καθαρότητά τους και τη γνώση των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων, η πιθανότητα να είναι κολλώδη (sticky peptides) και συνεπώς να προκαλούν μη ειδική δέσμευση θεωρήθηκε απομακρυσμένη. Μια σειρά διαδοχικών πειραμάτων με τη χρήση μόνο των διαλυμάτων μετά την επίστρωση των πεπτιδίων απέκλεισε το παραπάνω ενδεχόμενο.

Σε κάθε πιάτο ELISA χρησιμοποιούνταν ένα κενό πηγαδάκι (Blank) όπου τοποθετούνταν μόνο τα διαλύματα και η απορρόφηση του οποίου αφαιρούνταν από αυτή που διαπιστωνόταν για κάθε πεπτίδιο (Blank subtraction).

Προκειμένου να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου, τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν τρεις φορές για κάθε ασθενή και για το σύνολο των πεπτιδίων, χωρίς αξιοσημείωτες μεταβολές των αποτελεσμάτων. Για τους δε τελικούς υπολογισμούς επιλέχθηκε ο μέσος όρος των απορροφήσεων των τριών πειραμάτων.

Επιπλέον, ελέγχθηκαν οι οροί 25 υγιών-μαρτύρων, με βάση τους οποίους, υπολογίστηκαν για κάθε ένα πεπτίδιο χωριστά ο μέσος όρος (mean) της απορρόφησής του καθώς και η σταθερά απόκλιση (standard deviation-SD).

Έτσι, η μέση τιμή της απορρόφησης των υγιών-μαρτύρων συν δύο σταθερές αποκλίσεις ($\text{mean} + 2SD$) για το κάθε ένα από τα 78 πεπτιδία χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο θετικότητας εκάστου πεπτιδίου.

□ απορρόφηση **θετικού πεπτιδίου** \geq μέση τιμή απορρόφησης των υγιών μαρτύρων $+ 2 SD$

7.3 Στατιστική επεξεργασία

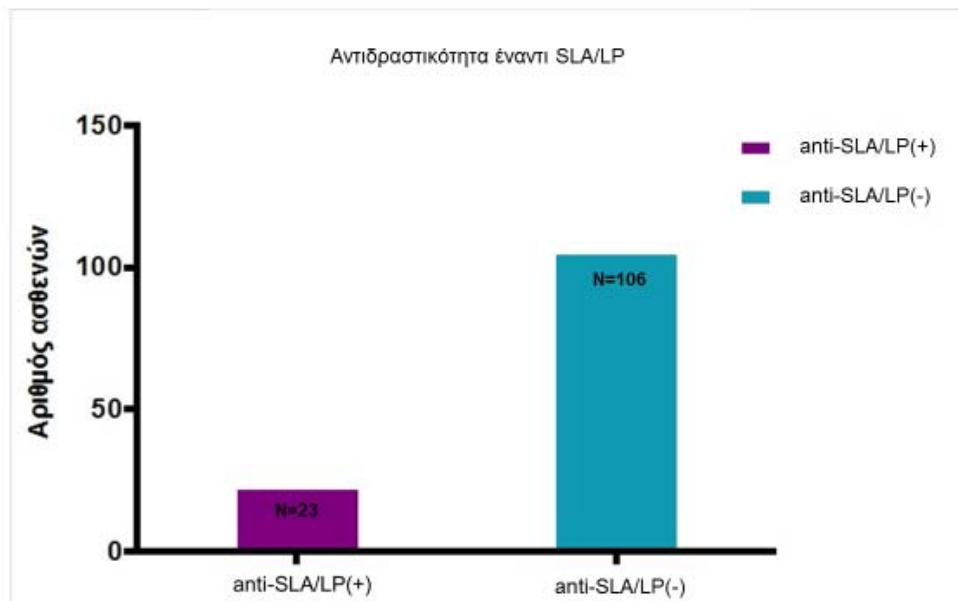
Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή \pm σταθερά απόκλιση ή ως διάμεση τιμή και εύρος αναλόγως αν πρόκειται για κανονική ή μη κατανομή αντίστοιχα. Η ανάλυση των δεδομένων έγινε με τα στατιστικά προγράμματα SPSS[®] Statistics (IBM[®], Version 20) και Prism 6 (GraphPad Software, Inc.). Χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες Mann-Whitney U-test, t-test, χ^2 (two by two με διόρθωση κατά Yate's), Fisher's exact test, Likelihood χ^2 test, Kruskal-Wallis και ANOVA. Οι καμπύλες Kaplan-Meier για την αθροιστική επιβίωση και οι τιμές σημαντικότητας (p -values) υπολογίστηκαν κατά Breslow. Τα διαστήματα αξιοπιστίας 95% υπολογίστηκαν κατά Wilson και με διόρθωση ως προς τη συνέχεια. Στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν τιμές διπλής ουράς $p < 0,05$.

8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1 Αντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP.

Οι 23 από τους 129 ασθενείς με ΑΗ (18%, 95% CI:11-25%) ήταν θετικοί για την παρουσία anti-SLA/LP αντισωμάτων με τη μέθοδο ELISA, ενώ οι υπόλοιποι 106 ασθενείς (82%, 95% CI:75-88%) ήταν αρνητικοί για το συγκεκριμένο αυτοαντίσωμα (εικόνα 18). Η αναλογία anti-SLA/LP(+) προς τους anti-SLA/LP(-) ασθενείς ήταν περίπου 1:4,6.

Η παρουσία των anti-SLA/LP επιβεβαιώθηκε με τη χρήση τόσο in house ανοσοαποτύπωσης (WB) όσο και με τη μέθοδο Euroline. Πιο συγκεκριμένα, 21/23 ασθενείς ήταν θετικοί με WB και 19/23 θετικοί με τη μέθοδο Euroline.



Εικόνα 18. Αντιδραστικότητα έναντι SLA/LP στην ELISA

8.2 Κλινική σημασία των anti-SLA/LP αυτοαντισωμάτων.

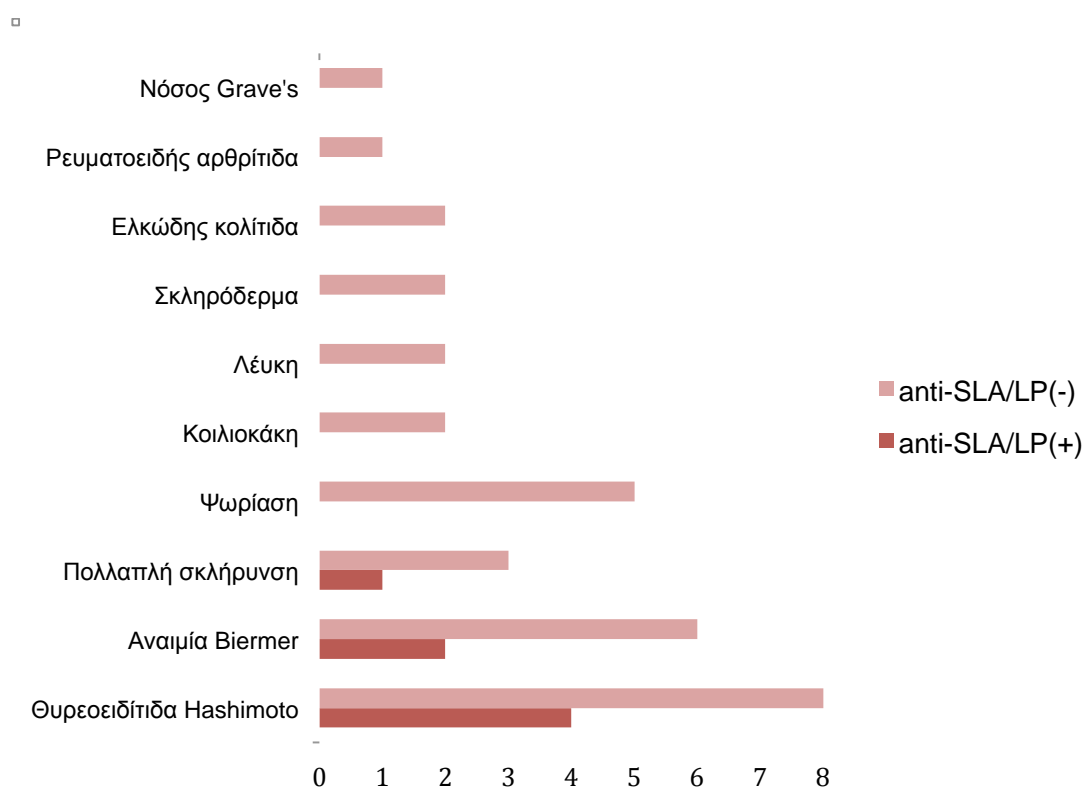
Η κλινική σημασία των anti-SLA/LP ελέγχθηκε συγκρίνοντας τα επιμέρους χαρακτηριστικά των ασθενών που ήταν θετικοί στην ELISA και αυτών που ήταν αρνητικοί. Συγκρίθηκαν λοιπόν δεδομένα κατά την εμφάνιση της νόσου, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά στοιχεία, η ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή καθώς επίσης η τελική έκβαση και η επιβίωση των ασθενών (πίνακας 13).

8.2.1 Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών

Από τη σύγκριση των επιμέρους χαρακτηριστικών των δύο ομάδων που προέκυψαν, φάνηκε ότι οι anti-SLA/LP(+) και οι anti-SLA/LP(-) ασθενείς δε διέφεραν σημαντικά ως προς το φύλο (θήλεια/άρρηνες: 20/3 και 74/32 αντίστοιχα), την ηλικία έναρξης της νόσου (43 ± 17 έναντι 50 ± 16 έτη) ή τη διάρκεια της νόσου ($95\pm 90,5$ μήνες έναντι $98\pm 67,4$). Επιπλέον, η συνολική διάρκεια της παρακολούθησης ήταν παρόμοια για τις δύο ομάδες ασθενών (47 ± 39 μήνες και 64 ± 43 αντίστοιχα) (πίνακας 13).

Όσον αφορά τη συνύπαρξη άλλων αυτοάνοσων νόσων, που είναι συχνή στην ΑΗ, διαπιστώθηκε η παρουσία αυτών σε 7 anti-SLA/LP(+) και 32 δύο anti-SLA/LP(-) ασθενείς (30% και 31% αυτών αντίστοιχα, $p>0,05$). Αναλυτικότερα, 4 από τους anti-SLA/LP(+) ασθενείς εμφάνιζαν θυροειδίτιδα Hashimoto, 2 αναιμία Biermer και ένας πολλαπλή σκλήρυνση (εικόνα 19).

Αντίστοιχα, στην ομάδα των anti-SLA/LP(-) καταγράφηκαν 8 ασθενείς με θυροειδίτιδα Hashimoto, 6 με αναιμία Biermer, 3 με πολλαπλή σκλήρυνση, 5 με ψωρίαση, 2 με κοιλιοκάκη, λεύκη, σκληρόδερμα και ελκώδη κολίτιδα και από ένας με ρευματοειδή αρθρίτιδα και νόσο Grave's. Σημειώνεται ότι ασθενείς με συνύπαρξη συνδρόμου Sicca ή SS είχαν αποκλειστεί εξαρχής από τη μελέτη.



Εικόνα 19: Παρουσία συνυπάρχουσας αυτοάνοσης διαταραχής σε ασθενείς με AH αναλόγως της παρουσίας anti-SLA/LP.

Πίνακας 13. Χαρακτηριστικά, ανταπόκριση στη θεραπεία και έκβαση των anti-SLA/LP (+) και anti-SLA/LP (-) ασθενών.

	anti-SLA/LP(+) n=23	anti-SLA/LP(-) n=106	p-value
Φύλο (θήλυ/άρρεν)	20/3	74/32	ns
Ηλικία	43±17	50±16	ns
Τρόπος εισβολής της νόσου (οξεία ικτερική/ ύπουλη)	5/18	27/79	ns
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	95 ± 90,5	98 ± 67,4	ns
Χρόνος έως τη διάγνωση (μήνες)	10 (0-240)	14 (0-216)	ns
Συμπτώματα κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	11/12	67/39	ns
Συνύπαρξη αυτοάνοσων νοσημάτων (ναι/όχι)	7/16	32/74	ns
Κίρρωση κατά τη διάγνωση	7/16	33/73	ns
Διάρκεια παρακολούθησης (μήνες)	47±39	64±43	ns
AST (U/L)	68 (35-1000)	142 (16-4150)	ns
ALT(U/L)	106 (31-561)	186 (9-3500)	ns
IgG (mg/dl)	1890 (1240-6327)	1822 (901-6410)	ns
σφαιρίνες (g/dl)	4,1 (2,9-6,1)	3,8 (2,2-7,3)	ns
Χολερυθρίνη (mg/dl)	0,72 (0,4-1,9)	0,95 (0,21-12,5)	ns
γ GT (U/L)	38 (15-613)	58 (10-618)	ns
ALP (U/L)	78 (39-173)	98 (25-223)	ns
Βιοψία προ έναρξης θεραπείας	(n=18)	(n=89)	
• φλεγμονή (ελάχιστη ή ήπια/ μέτρια ή σοβαρή)	10/8	55/34	ns
• ίνωση (ήπια ή μέτρια/ σοβαρή ή κίρρωση)	4/14	32/57	ns

Αγωγή (ναι/όχι)	21/2	87/19	ns
Παρουσία αυτοαντισωμάτων (ναι/όχι)			
ANA	16/7	77/29	ns
SMA	23/0	106/0	ns
LKM	0/23	7/99	ns
Παρουσία HLA (ναι/όχι)	(n=14)	(n=75)	
A2B8DR3	0/14	10/65	ns
DR3	5/9	30/45	ns
DR4	1/13	11/64	ns
DR7	0/14	7/68	ns
DR11	6/8	27/48	ns
DR13	4/10	16/59	ns
Ανταπόκριση στη θεραπεία	(n=21)	(n=87)	
Πλήρης	11/21	44/87	ns
Μερική	2/21	13/87	ns
Ανταπόκριση με υποτροπές	8/21	30/87	ns
Μη ανταπόκριση	0/21	0/87	ns
Διατήρηση της ύφεσης μετά τη διακοπή της θεραπείας (ναι/όχι)	(n=3)	(n=19)	
	1/2	12/7	ns
Βελτίωση του σταδίου της βιοψίας ήπατος μετά τη θεραπεία (ναι/όχι)	(n=2)	(n=22)	
	0/2	7/16	ns
Μεταμόσχευση ήπατος (ναι/όχι)	0/23	1/105	ns
Θάνατος οφειλόμενος σε ηπατικά αίτια (ναι/όχι)	1/22	13/93	ns

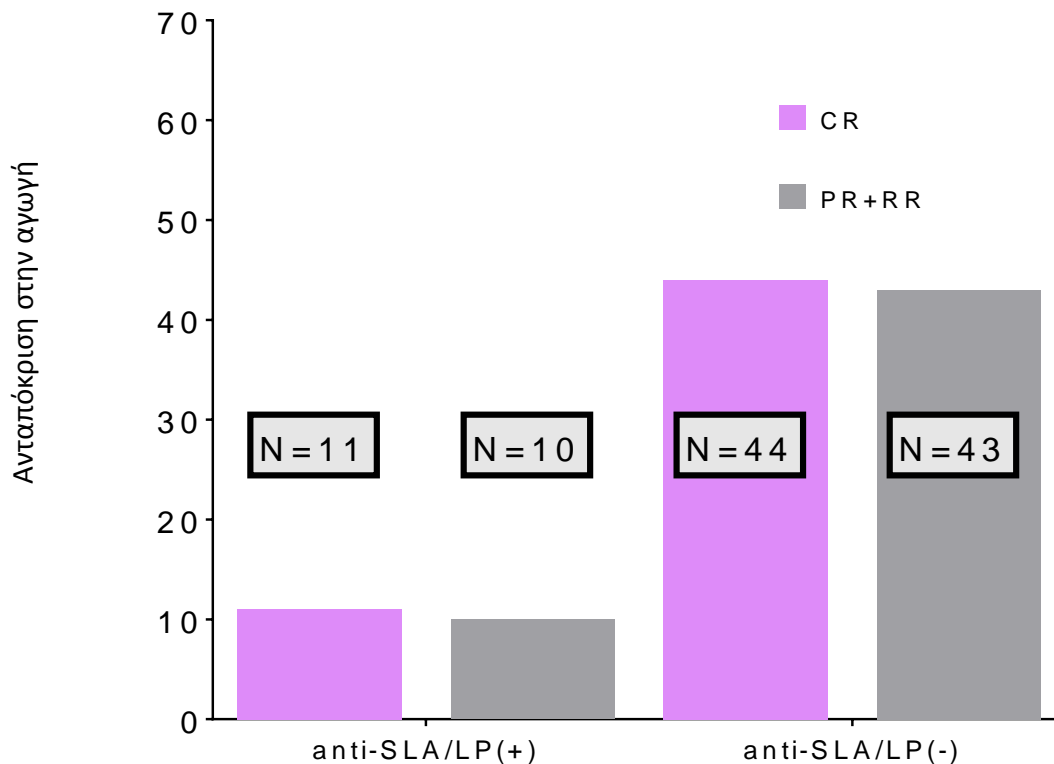
ns: μη στατιστικά σημαντικό

Ακόμη, όταν οι anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) συγκρίθηκαν ως προς τα συμπτώματά τους κατά τη διάγνωση της ΑΗ, τον τρόπο εισβολής της νόσου, την ιστολογική εικόνα και την παρουσία κίρρωσης κατά την διάγνωση δεν διαπιστώθηκαν διαφορές σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας.

8.2.2 Ανταπόκριση στη θεραπεία των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών

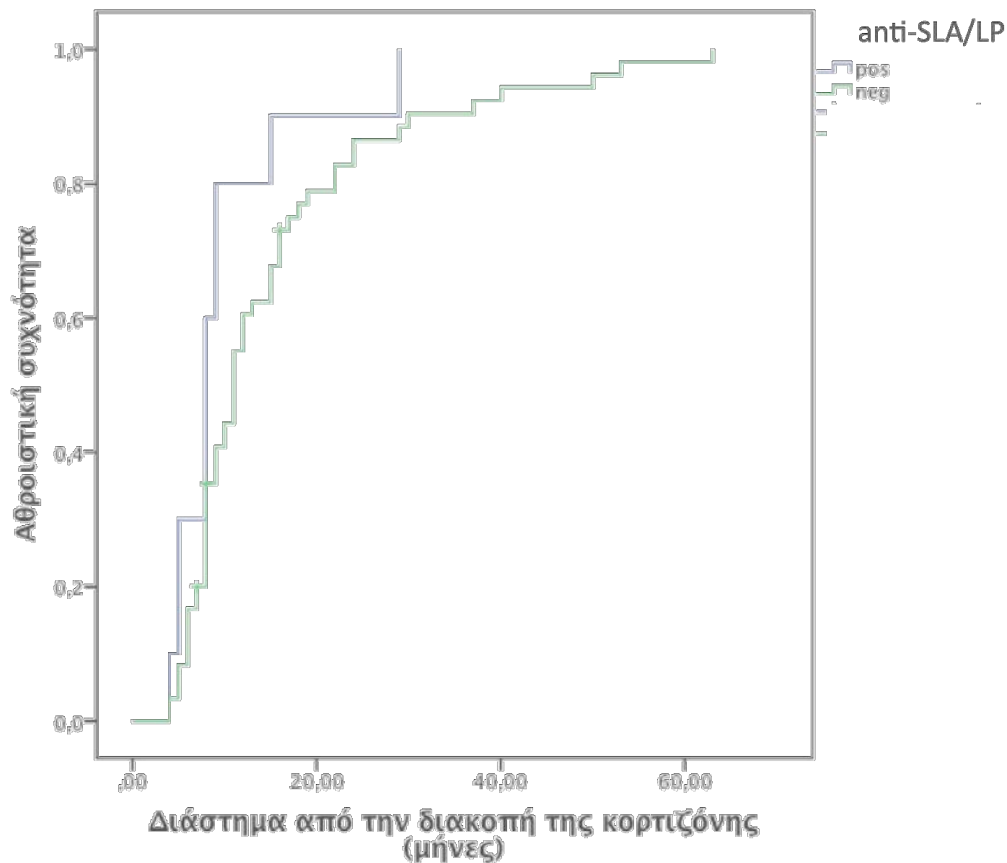
Τα ποσοστά αρχικής ανταπόκρισης στην ανοσοκατασταλτική αγωγή ήταν εξαιρετικά υψηλά τόσο στους anti-SLA/LP(+) όσο και στους anti-SLA/LP(-) ασθενείς. **Αρχική πλήρη ανταπόκριση (CR)** εμφάνισαν 19/21 anti-SLA/LP(+) ασθενείς που έλαβαν αγωγή (90%, 95% CI:68-98%). Παρόμοια 74/87 των anti-SLA/LP(-) ασθενών (85%, 95% CI:75-91) ανταποκρίθηκαν αρχικά στην ανοσοκατασταλτική αγωγή.

Επιπλέον, **κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης**, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενείς στην επίτευξη πλήρους ύφεσης (CR) ή μερικής ανταπόκρισης (PR) ή ανταπόκρισης με υποτροπές (RR) (εικόνα 20). Όσον αφορά στη **διακοπή της κορτιζόνης**, ήταν εφικτή σε 11/21 anti-SLA/LP(+) ασθενείς (52,4%, 95% CI: 30-73%). Από τους 11 αυτούς ασθενείς, οι 5 (45,5%, 95% CI:18-75%) ήταν δυνατό να αποδεσμευτούν από την κορτιζόνη μονίμως.



Εικόνα 20. Ανταπόκριση στην αγωγή των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης.

Τα αντίστοιχα αποτελέσματα διακοπής της κορτιζόνης στους anti-SLA/LP(-) ασθενείς ήταν 60/87 (69%, 95% CI:58-78%), εκ των οποίων οι 30 (50%, 95% CI:37-63%), ήταν δυνατό να παραμείνουν μόνιμα χωρίς κορτιζόνη ($p>0,05$). Η διάμεση διάρκεια θεραπείας με κορτιζόνη ήταν 8 μήνες, για τους anti-SLA/LP(+) ασθενείς (95% CI 5-11), ενώ για τους anti-SLA/LP(-) οι 11 μήνες (95% CI:9-12,8, $p>0.05$ - Εικόνα 21).



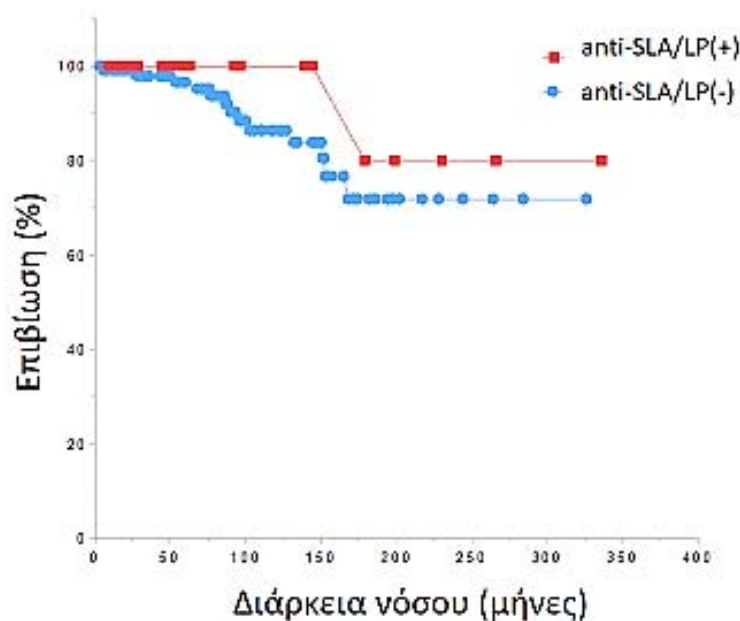
Εικόνα 21. Καμπύλη Kaplan Meier των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών μετά τη διακοπή της κορτιζόνης.

Κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων και τη συγγραφή της μελέτης, 22 ασθενείς συνολικά είχαν διακόψει την ανοσοκατασταλτική αγωγή. Εξ αυτών οι 3 ήταν anti-SLA/LP(+) και οι υπόλοιποι 19 αρνητικοί, με διάμεση διάρκεια θεραπείας 68 μήνες (16-96) για τους anti-SLA/LP(+) και 55,5 μήνες (12-101) για τους anti-SLA/LP(-), ενώ ο διάμεσος χρόνος της παρακολούθησης εκτός ανοσοκαταστολής ήταν 10 (3-96) και 12 (2-108) μήνες αντίστοιχα ($p > 0,05$ και στις δύο περιπτώσεις). Σημειώνεται ότι δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά στη διατήρηση

της πλήρους ύφεσης μεταξύ των δύο εξεταζόμενων ομάδων, μετά τη διακοπή της αγωγής (υποτροπή σε 2 anti-SLA/LP(+) και 7 anti-SLA/LP(-) ασθενείς, $p>0.05$).

8.2.3 Έκβαση των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών

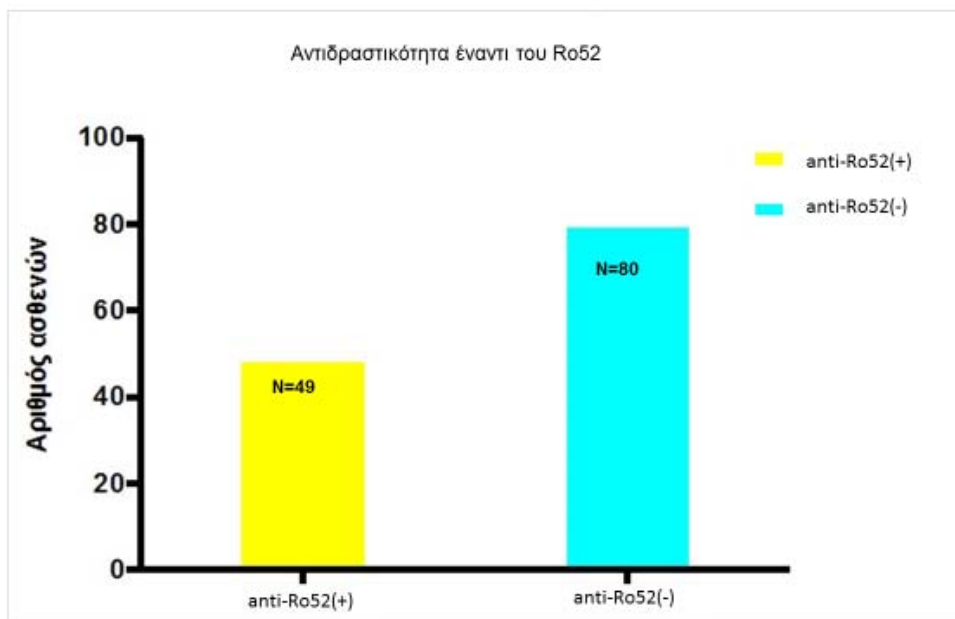
Η 10ετής επιβίωσης μεταξύ anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών δεν διέφερε σημαντικά. Η διάμεση διάρκεια της νόσου ήταν 58 μήνες (95% CI:40,7-70,5) για τους anti-SLA/LP(+) έναντι 96 (95% CI:75-118) στους anti-SLA/LP(-) ασθενείς ($p>0,05$, εικόνα 22).



Εικόνα 22. Καμπύλη Kaplan-Meier για την αθροιστική επιβίωση των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών.

8.3 Αντιδραστικότητα έναντι του Ro52

Από τον έλεγχο των ασθενών για την παρουσία anti-Ro52 αντισωμάτων με τη μέθοδο ELISA, προέκυψαν συνολικά 49/129 θετικοί ασθενείς (38%, 95% CI: 30-47%) και 80/129 αρνητικοί (62%, 95% CI: 55-69%, εικόνα 23). Οι ίδιοι ασθενείς ήταν επίσης θετικοί, όταν η παρουσία του anti-Ro52 ελέγχθηκε με τη μέθοδο Euroline.



Εικόνα 23. Αντιδραστικότητα έναντι anti-Ro52

8.4 Κλινική σημασία των anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων

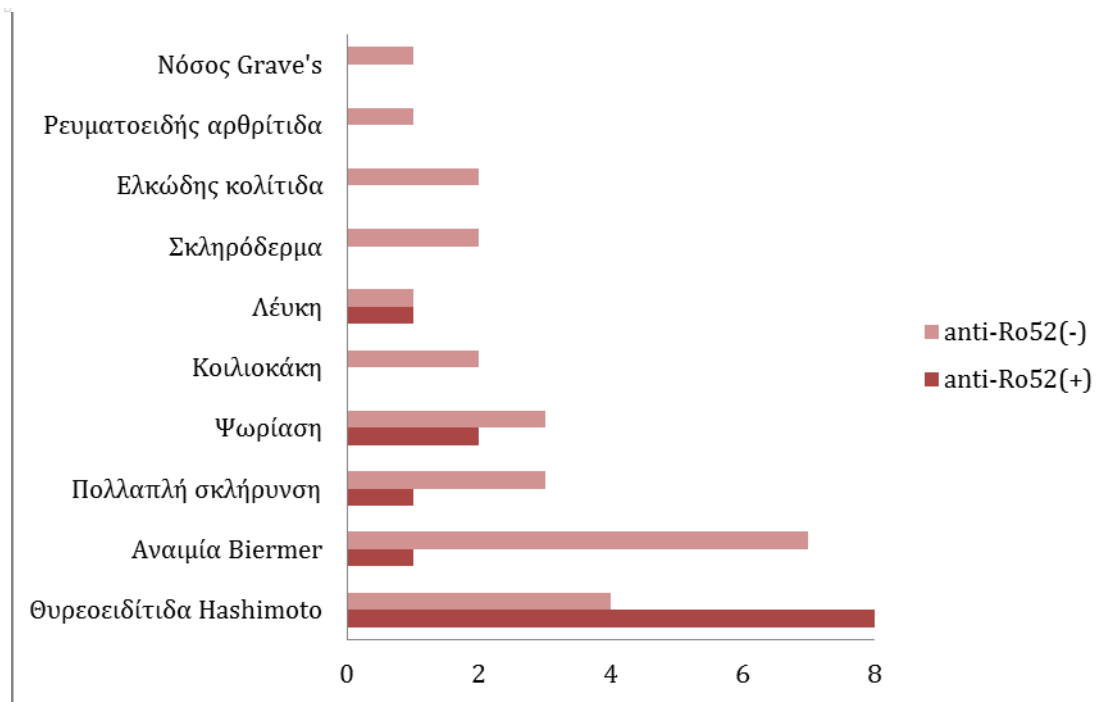
Παρόμοια με τα ανωτέρω, ελέγχθηκε η κλινική σημασία των anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων, συγκρίνοντας τα χαρακτηριστικά των ασθενών κατά την εμφάνιση της νόσου, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά στοιχεία, την ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή καθώς επίσης την τελική έκβαση και η επιβίωση των ασθενών (πίνακας 14).

8.4.1 Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών

Η σύγκριση των επιμέρους χαρακτηριστικών μεταξύ των anti-Ro52(+) και των anti-Ro52(-) ασθενών δεν ανέδειξε σημαντικές διαφορές ως προς το φύλο (θήλεια/άρρηνες: 36/13 και 58/22 αντίστοιχα, $p>0,05$) ή την ηλικία έναρξης της νόσου (43 ± 17 έναντι 50 ± 16 έτη, $p>0,05$). Τόσο η διάρκεια της νόσου ($98,7\pm 68,97$ μήνες έναντι $97,3\pm 73,8$) όσο και η συνολική διάρκεια της παρακολούθησης (47 ± 39 και 64 ± 43 μήνες αντίστοιχα) ήταν συγκρίσιμες για τις δύο ομάδες ασθενών ($p>0,05$ και στις δύο περιπτώσεις).

Η συνύπαρξη άλλης αυτοάνοσης διαταραχής ήταν εξίσου συχνή μεταξύ των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-), αφού διαπιστώθηκε αντίστοιχα σε 15/49 (30,6%) και 24/80 (30%, $p>0,05$) ασθενείς (εικόνα 24).

Επιπλέον, τα συμπτώματά τους κατά τη διάγνωση της ΑΗ, ο τρόπος της εισβολής της νόσου, η ιστολογική εικόνα και η παρουσία κίρρωσης κατά την διάγνωση δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των anti-Ro52(+)ασθενών και των anti-Ro52(-)(πίνακας 14).



Εικόνα 24: Παρουσία συνυπάρχουσας αυτοάνοσης διαταραχής σε ασθενείς με ΑΗ αναλόγως της παρουσίας anti-Ro52.

Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι οι anti-Ro52(-) ασθενείς είχαν συχνότερα τον απλότυπο HLA-DR3 σε σχέση με τους anti-Ro52 (+) ασθενείς (OR: 1,54; 95% CI:1,1-2,1, $p=0,026$) και χαμηλότερες τιμές IgG (1953 ± 859 mg/dl έναντι 2303 ± 1009 mg/dl, $p=0,028$).

Πίνακας 14. Χαρακτηριστικά, ανταπόκριση στη θεραπεία και έκβαση των anti-Ro52 (+) και anti-Ro52(-) ασθενών.

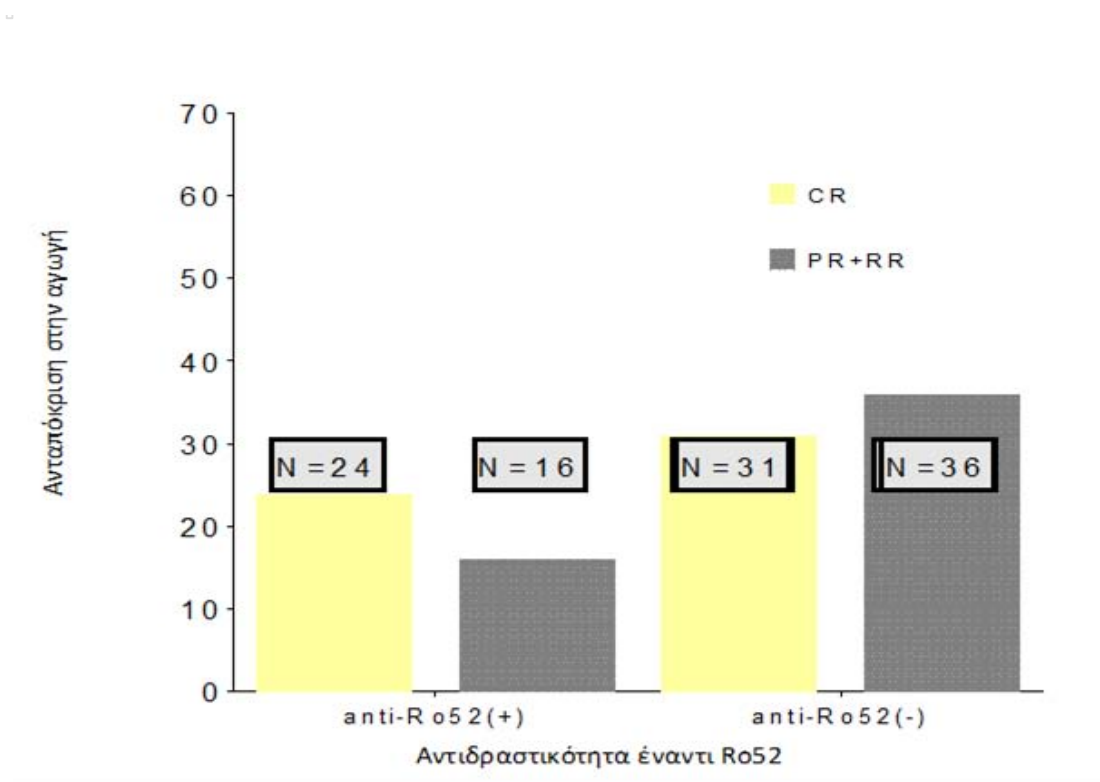
	anti-Ro52 (+) n=49	anti-Ro52 (-) n=80	p-value
Φύλο (θήλυ/άρρεν)	36/13	58/22	ns
Ηλικία	50 (12-73)	50 (6-76)	ns
Τρόπος εισβολής της νόσου (οξεία ικτερική/ ύπουλη)	10/39	22/58	ns
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	98,7±68,97	97,3±73,8	ns
Χρόνος έως τη διάγνωση (μήνες)	10 (0-240)	15 (0-240)	ns
Συμπτώματα κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	29/20	49/31	ns
Συνύπαρξη αυτοάνοσων νοσημάτων (ναι/όχι)	15/34	24/56	ns
Κίρρωση κατά τη διάγνωση	14/35	26/54	ns
Διάρκεια παρακολούθησης (μήνες)	57 (6-142)	45 (6-148)	ns
AST (U/L)	108 (27-2252)	145 (16-4150)	ns
ALT(U/L)	144 (22-2681)	206 (9-3500)	ns
IgG (mg/dl)	2040 (1190-6327)	1780 (901-6410)	p=0,028
σφαιρίνες (g/dl)	4,26 (2,2-7,3)	3,6 (3-5,3)	ns
Χολερυθρίνη (mg/dl)	1,2 (0,5-12)	0,95 (0,21-3,3)	ns
γ GT (U/L)	58 (24-160)	75 (10-643)	ns
ALP (U/L)	104 (25-173)	122 (72-223)	ns
Βιοψία προ έναρξης θεραπείας	(n=41)	(n=66)	
• φλεγμονή (ελάχιστη ή ήπια/ μέτρια ή σοβαρή)	13/28	23/43	ns
• ίνωση (ήπια ή μέτρια/ σοβαρή ή κίρρωση)	25/16	40/26	ns
Αγωγή (ναι/όχι)	40/9	68/12	ns
Παρουσία αυτοαντισωμάτων (ναι/όχι)			

ANA	40/9	53/27	ns
SMA	49/0	80/0	ns
LKM	1/48	6/74	ns
Παρουσία HLA (ναι/όχι)	(n=37)	(n=52)	
A2B8DR3	2/35	8/44	ns
DR3	9/28	26/26	p=0,026
DR4	7/30	5/47	ns
DR7	3/34	4/48	ns
DR11	12/25	21/31	ns
DR13	11/26	9/43	ns
Ανταπόκριση στη θεραπεία	(n=40)	(n=68)	
Πλήρης	24/40	31/68	ns
Μερική	4/40	10/68	ns
Ανταπόκριση με υποτροπές	12/40	26/68	ns
Μη ανταπόκριση	0/40	0/68	ns
Διατήρηση της ύφεσης μετά τη διακοπή της θεραπείας (ναι/όχι)	(n=10)	(n=12)	
	5/5	8/4	ns
Βελτίωση του σταδίου της βιοψίας ήπατος μετά τη θεραπεία (ναι/όχι)	(n=10)	(n=12)	
	3/7	4/10	ns
Μεταμόσχευση ήπατος (ναι/όχι)	0/49	1/79	ns
Θάνατος οφειλόμενος σε ηπατικά αίτια (ναι/όχι)	1/22	13/93	ns

8.4.2 Ανταπόκριση στη θεραπεία των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών

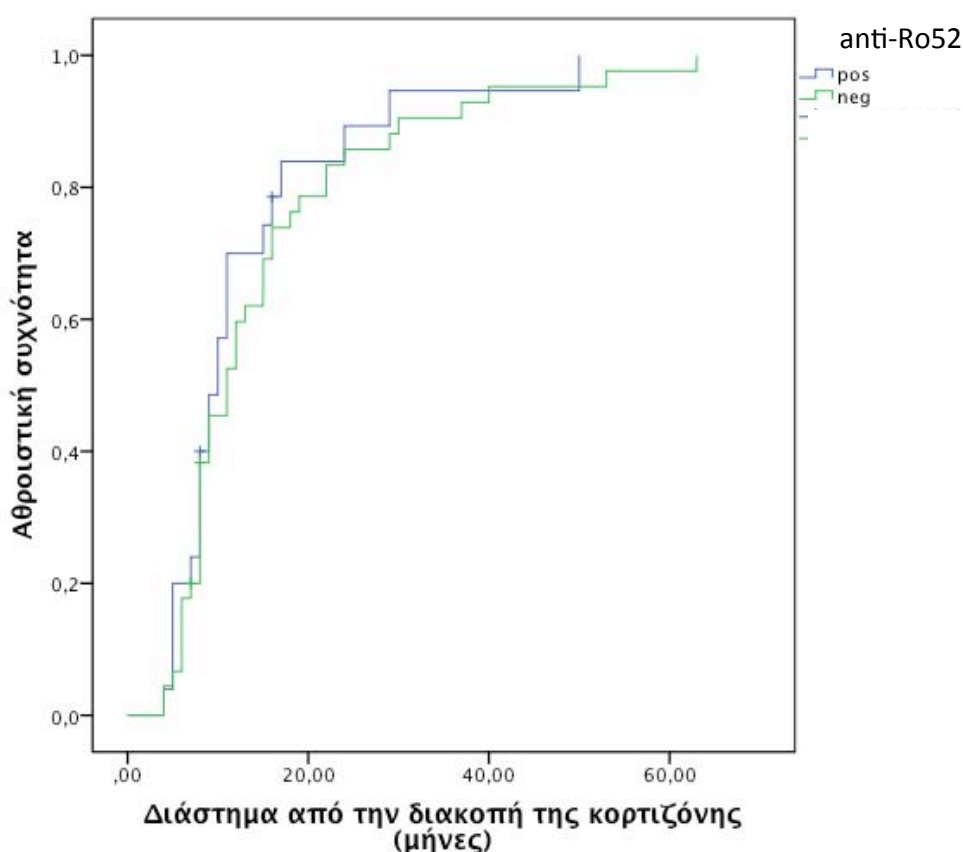
Ως προς την ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή, **αρχική πλήρη ανταπόκριση** (CR) είχαν 36 από τους 40 (90%, 95% CI: 80-99%) anti-Ro52(+) ασθενείς και 57 από τους 68 (84%, 95% CI: 75-93) anti-Ro52(-) που έλαβαν αγωγή ($p>0,05$).

Κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε αυτούς που πέτυχαν πλήρη ύφεση (CR) και αυτούς με μερική ανταπόκριση (PR) ή ανταπόκριση με υποτροπή (RR) αναλόγως της αντιδραστικότητάς τους έναντι του Ro52 (εικόνα 25).



Εικόνα 25. Ανταπόκριση στην αγωγή των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης.

Διακοπή της κορτιζόνης, επιτεύχθηκε σε 26/40 anti-Ro52(+) ασθενείς (62,5%, 95% CI: 47-78%), εκ των οποίων οι 17 (42,5%, 95% CI: 27-58%) ήταν δυνατό να αποδεσμευτούν από την κορτιζόνη μόνιμα. Τα αντίστοιχα αποτελέσματα της διακοπής της κορτιζόνης στους anti-Ro52(-) ασθενείς ήταν 45/68 (66%, 95% CI: 55-77%), με τους 31 εξ αυτών (45,5%, 95% CI: 34-57%) να παραμένουν χωρίς κορτιζόνη μόνιμως ($p>0.05$ και στις δύο περιπτώσεις). Η διάμεση διάρκεια θεραπείας πριν τη διακοπή της κορτιζόνης ήταν 9 μήνες για τους anti-Ro52(+) ασθενείς (95% CI: 8-16), ενώ για τους anti-Ro52(-) 11 μήνες (95% CI: 10,9-18), ($p>0.05$, εικόνα 26).

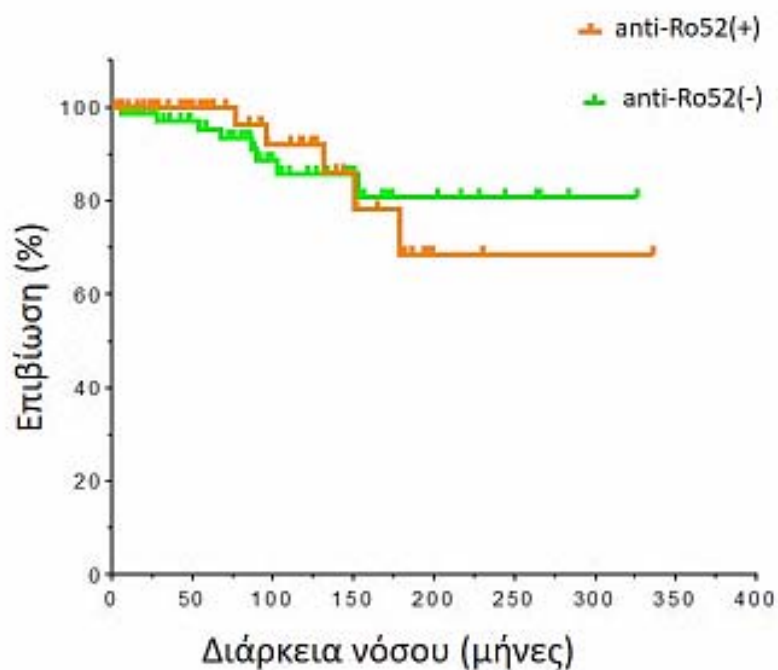


Εικόνα 26. Καμπύλη Kaplan Meier των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών μετά τη διακοπή της κορτιζόνης.

Όπως προαναφέρθηκε, κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, 22 ασθενείς συνολικά ήταν εκτός ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Εξ αυτών, οι 10 ήταν anti-Ro52(+) με διάμεση διάρκεια θεραπείας 58,5 μήνες (16-101) και οι υπόλοιποι 12 anti-Ro52(-), οι οποίοι διέκοψαν την αγωγή μετά από 54 (12-84) μήνες ($p>0,05$). Η διάμεση διάρκεια παρακολούθησης εκτός ανοσοκαταστολής ήταν 8,5 μήνες (3-96) και 12 μήνες (2-108) αντίστοιχα ($p>0,05$). Μεταξύ των δύο εξεταζόμενων ομάδων, δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά τη διατήρηση της πλήρους ύφεσης μετά τη διακοπή της ανοσοκαταστολής, αφού 5 anti-Ro52(+) ασθενείς και 8 anti-Ro52(-) παρέμειναν σε ύφεση κατά τη συγγραφή της μελέτης ($p>0,05$).

8.4.3 Έκβαση των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών

Η σύγκριση της 10ετούς επιβίωσης μεταξύ των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών δεν ανέδειξε αξιοσημείωτη διαφορά (εικόνα 27). Πιο συγκεκριμένα, η διάμεση διάρκεια της νόσου που καταγράφηκε για τους μεν anti-Ro-52(+) ήταν 92 μήνες (95% CI: 78,88-118,51), ενώ για τους anti-Ro52(-) 86,5 μήνες (95% CI: 80,88-113,71, $p>0,05$).



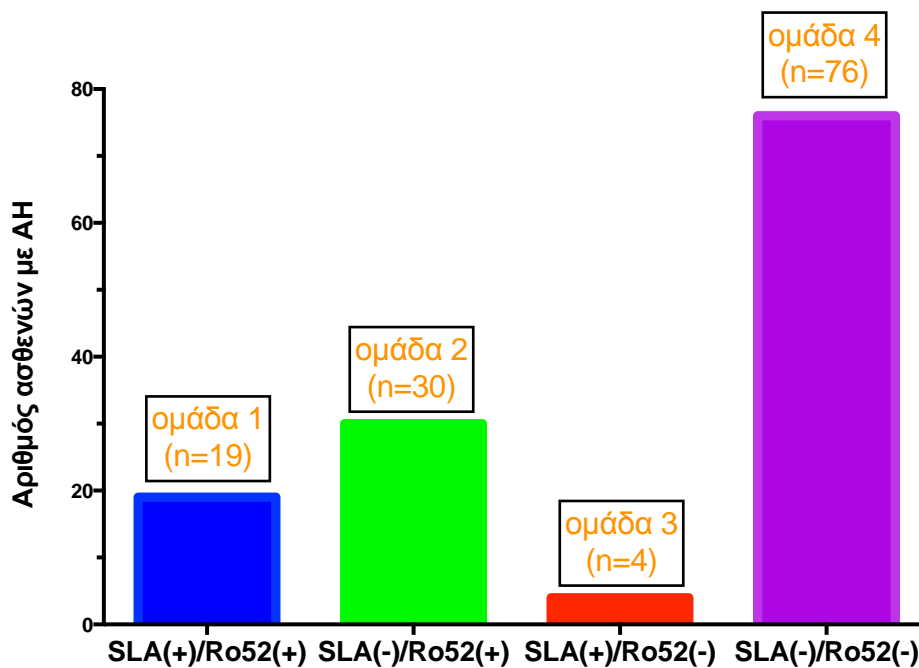
Εικόνα 27. Καμπύλη Kaplan-Meier για την αθροιστική επιβίωση των anti-Ro52(+) και anti-Ro52(-) ασθενών.

8.5 Συνδυασμένη α ντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP και του Ro52.

Η αντιδραστικότητα έναντι του Ro52 ήταν σημαντικά αυξημένη μεταξύ των anti-SLA/LP(+) ασθενών συγκριτικά με τους anti-SLA/LP(-). Πιο συγκεκριμένα, οι anti-SLA/LP(+) οροί σχεδόν στο σύνολό τους (19/23) εμφάνιζαν ταυτόχρονη αντιδραστικότητα έναντι του Ro52 (82,6%, 95% CI:60-94%). Αντίθετα, μόλις 30/106 anti-SLA/LP(-) (28,3%, 95% CI:20-38%) ήταν συγχρόνως και anti-Ro52(+) ($p < 0,001$, OR 7,8; 95% CI:2,8-25,1).

Με βάση λοιπόν την αντιδραστικότητα και προς τα δύο αντιγόνα (Ro52 και SLA/LP), προέκυψαν τελικά οι παρακάτω 4 ομάδες ασθενών (εικόνα 28):

- **ομάδα 1:** 19 ασθενείς anti-SLA/LP(+)/anti-Ro52(+)
- **ομάδα 2:** 30 ασθενείς anti-SLA/LP(-)/anti-Ro52(+)
- **ομάδα 3:** 4 ασθενείς anti-SLA/LP(+)/anti-Ro52(-) και
- **ομάδα 4:** 76 ασθενείς anti-SLA/LP(-)/anti-Ro52(-).



Εικόνα 28. Ομάδες ασθενών αναλόγως της συνδυασμένης αντιδραστικότητας έναντι Ro52 και SLA/LP.

8.6 Κλινική σημασία της συνδυασμένης αντιδραστικότητας έναντι SLA/LP και Ro52.

Η κλινική σημασία της συνδυασμένης παρουσίας των δύο αυτοαντισωμάτων ελέγχθηκε συγκρίνοντας τα βασικά χαρακτηριστικά (δημογραφικά, κλινικά, βιοχημικά, ορολογικά και ιστολογικά) των ασθενών των τεσσάρων ομάδων (Πίνακας 15).

Πίνακας 15. Χαρακτηριστικά, ανταπόκριση στη θεραπεία και έκβαση των ασθενών με ΑΗ αναλόγως της παρουσίας συνδυασμού anti-Ro52 και anti-SLA/LP αυτοαντισωμάτων.					
	ομάδα 1 anti-SLA(+)/ anti-Ro52(+) (n=19)	ομάδα 2 anti-SLA(-)/ anti-Ro52(+) (n=30)	ομάδα 3 anti-SLA(+)/ anti-Ro52(-) (n=4)	ομάδα 4 anti-SLA(-)/ anti-Ro52(-) (n=76)	p-value
Φύλο (θήλυ/άρρεν)	17/2	19/11	3/1	55/21	ns
Ηλικία	48 (18-70)	56 (12-73)	24 (16-55)	50 (6-76)	ns
Τρόπος εισβολής της νόσου(οξεία/ύπουλη)	4/15	6/24	1/3	21/55	ns
Διάρκεια της νόσου (μήνες)	60 (10-336)	96 (3-197)	52 (9-266)	87 (4-326)	ns
Χρόνος έως τη διάγνωση (μήνες)	10 (0-240)	10 (0-175)	8 (2-240)	15(0-216)	ns
Συμπτώματα κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	9/10	20/10	2/2	47/29	ns
Συνύπαρξη αυτοάνοσων νοσημάτων (ναι/όχι)	6/13	9/21	1/3	23/53	ns
Κίρρωση κατά τη διάγνωση (ναι/όχι)	6/13	8/22	1/3	25/51	ns
Διάρκεια παρακολούθησης (μήνες)	48 (6-133)	65 (6-142)	27 (9-45)	46 (6-148)	ns
AST (U/L)	68 (35-1000)	111 (27-2252)	66 (50-263)	168 (16-4150)	ns
ALT (U/L)	114 (31-561)	163 (22-2681)	103 (94-379)	206 (9-3500)	ns

IgG (mg/dl)	2270 (1351-6327)*,**	2010 (1190-3342)	1309 (1240-1820)*	1780 (901-6410)**	p<0.02
σφαιρίνες (g/dl)	3,9 (3,3-7)	4 (3-6,3)	3,7 (2,9-5,7)	3,6 (2,2-7,3)	ns
Χολερυθρίνη (mg/dl)	0,84 (0,4-19)	0,63 (0,3-12)	0,62 (0,44-0,91)	1,2 (0,21-12,5)	ns
γ GT (U/L)	51 (15-413)	59 (12-618)	182 (22-613)	75 (10-440)	ns
ALP (U/L)	103 (39-142)	94 (42-253)	66 (56-88)	118 (25-323)	ns
Βιοψία προ έναρξης θεραπείας	(n=14)	(n=27)	(n=4)	(n=62)	
• φλεγμονή (ελάχιστη ή ήπια/ μέτρια ή σοβαρή)	3/11	10/17	1/3	22/40	ns
• ίνωση (ήπια ή μέτρια/ σοβαρή ή κίρρωση)	7/7	18/9	3/1	37/25	ns
Αγωγή (ναι/όχι)	17/2	23/7	4/0	64/12	ns
Παρουσία αυτοαντισωμάτων (ναι/όχι)					
ANA	13/6	27/3	3/1	50/26	ns
SMA	19/0	30/0	4/0	76/0	ns
LKM	0/19	1/29	0/4	6/70	ns
Παρουσία HLA (ναι/όχι)	(n=11)	(n=26)	(n=3)	(n=49)	
• A2B8DR3	0/11	2/24	0/3	8/41	ns
• DR3	4/7	5/21	1/2	25/24	ns
• DR4	1/10	6/20	0/3	5/44	ns
• DR7	0/11	3/23	0/3	8/41	ns
• DR11	3/8	8/18	1/2	8/41	ns
• DR13					

Ανταπόκριση στη θεραπεία	(n=17)	(n=23)	(n=4)	(n=64)	
• Πλήρης	9/17	15/23	2/4	29/64	ns
• Μερική	0/17	4/23	2/4	8/64	ns
• Ανταπόκριση με υποτροπές	8/17	4/23	0/4	27/64	ns
• Μη ανταπόκριση	0/17	0/23	0/4	0/64	ns
Διάρκεια θεραπείας (μήνες)	42 (7-324)	57 (3-134)	28 (6-45)	45 (3-263)	ns
Διατήρηση της ύφεσης μετά τη διακοπή της θεραπείας (ναι/όχι)	(n=3) 1/2	(n=7) 4/3	(n=0)	(n=12) 8/4	ns
Βελτίωση του σταδίου της βιοψίας ήπατος μετά τη θεραπεία (ναι/όχι)	(n=2) 0/2	(n=8) 3/5	(n=0)	(n=14) 4/10	ns
Θάνατος οφειλόμενος σε ηπατικά αίτια (ναι/όχι)	0/19	0/30	0/4	8/68	ns
Μεταμόσχευση ήπατος (ναι/όχι)	0/19	0/30	0/4	1/75	ns

*p=0,005, **p<0,02 (Kruskal-Wallis). Οι τιμές εκφράζονται ως διάμεσος και εύρος.

8.6.1 Δημογραφικά, κλινικά, ορολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων

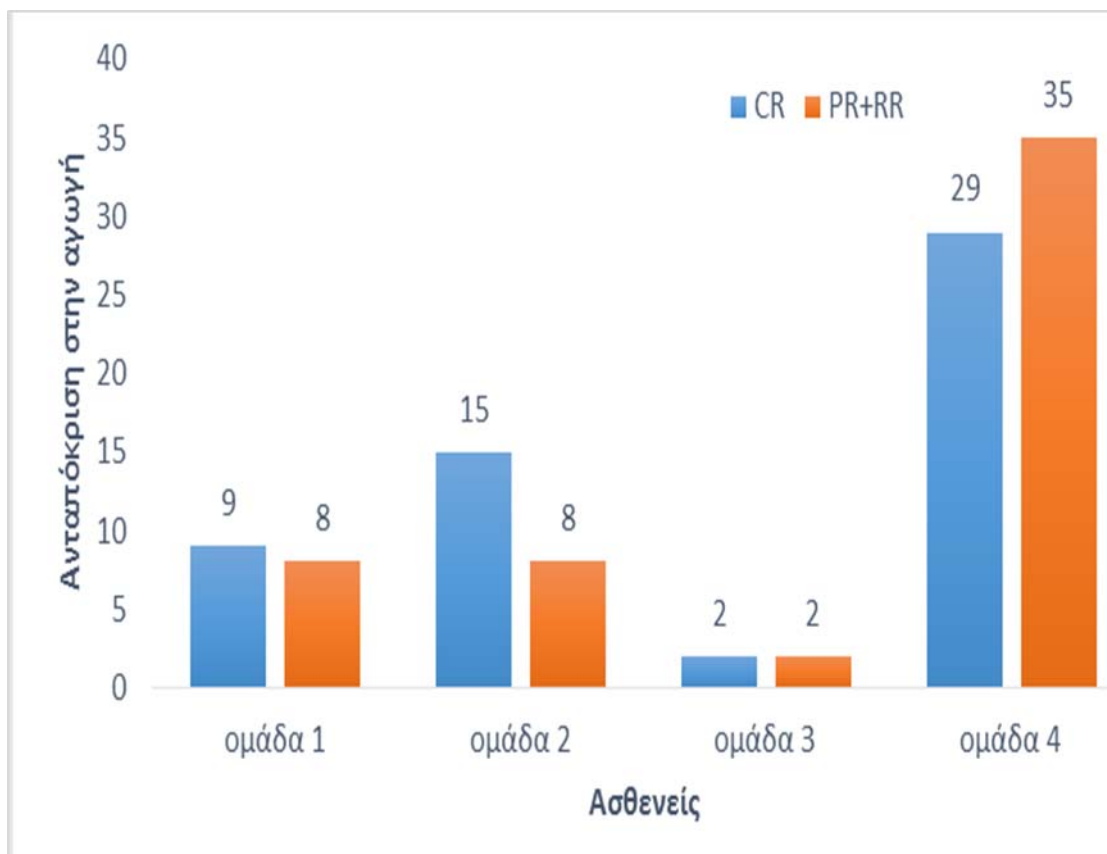
Σημειώνεται ότι η βασική διαφορά που καταγράφηκε αφορούσε τα επίπεδα της IgG ανοσοσφαιρίνης κατά την έναρξη της νόσου στους ασθενείς της ομάδας 1 (διπλή αντιδραστικότητα έναντι SLA/LP και Ro52) σε σύγκριση με την ομάδα 3 (μόνο anti-SLA/LP+) και την ομάδα 4 (αρνητικοί και για τα δύο αυτοαντισώματα). Έτσι, οι ασθενείς της ομάδας 1 είχαν υψηλότερη τιμή IgG

κατά την εμφάνιση της νόσου από αυτούς της ομάδας 3 ($p=0,005$) καθώς και συγκριτικά με αυτούς της ομάδας 4 ($p<0,02$ στη δοκιμασία Kruskal-Wallis).

8.6.2 Ανταπόκριση στη θεραπεία αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων

Όσον αφορά την *αρχική ανταπόκριση* στη θεραπευτική αγωγή, τη ν *ανταπόκριση στη διάρκεια* αυτής, αλλά και την *τελική έκβαση* των ασθενών δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιμέρους ομάδων (εικόνα 29).

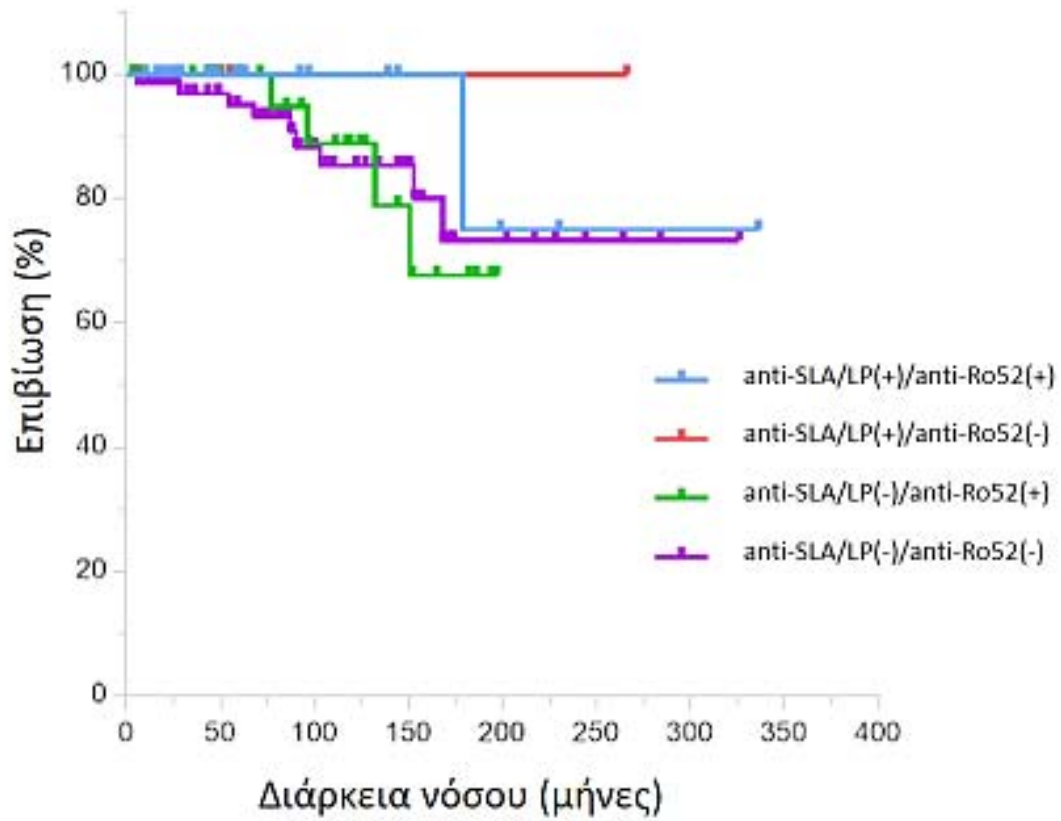
Πιο συγκεκριμένα, πλήρη ανταπόκριση εμφάνισαν 9 ασθενείς της ομάδας 1, 15 ασθενείς της ομάδας 2, 2 της ομάδας 3 και 29 της ομάδας 4, ενώ μερική ανταπόκριση ή ανταπόκριση με υποτροπές 8 ασθενείς στις ομάδες 1 και 2, 2 στην τρίτη και 35 στην τέταρτη ομάδα. Σε κάθε περίπτωση οι διαφορές δε ήταν στατιστικά σημαντικές.



Εικόνα 29. Ανταπόκριση στην αγωγή των ασθενών στη διάρκεια της παρακολούθησης αναλόγως της συνδυασμένης αντιδραστικότητάς τους έναντι SLA/LP και Ro52.

8.6.3 Έκβαση των ασθενών αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας anti-SLA/LP και anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων

Από την ανάλυση Kaplan-Meier δεν διαπιστώθηκαν διαφορές ως προς την επιβίωση μεταξύ των τεσσάρων ομάδων των ασθενών που προέκυψαν αναλόγως της συνδυασμένης παρουσίας των αυτοαντισωμάτων. Αναλυτικά, η διάμεση επιβίωση στην *ομάδα 1* ήταν 60 μήνες (95% CI: 38,6-81), στην *ομάδα 2*, 111 μήνες (95% CI: 79-142), στην *ομάδα 3*, 49 μήνες (95% CI: 4-94) και τέλος στην *ομάδα 4*, 92 μήνες (95% CI: 76-107) αντίστοιχα ($p > 0,05$, εικόνα 30).

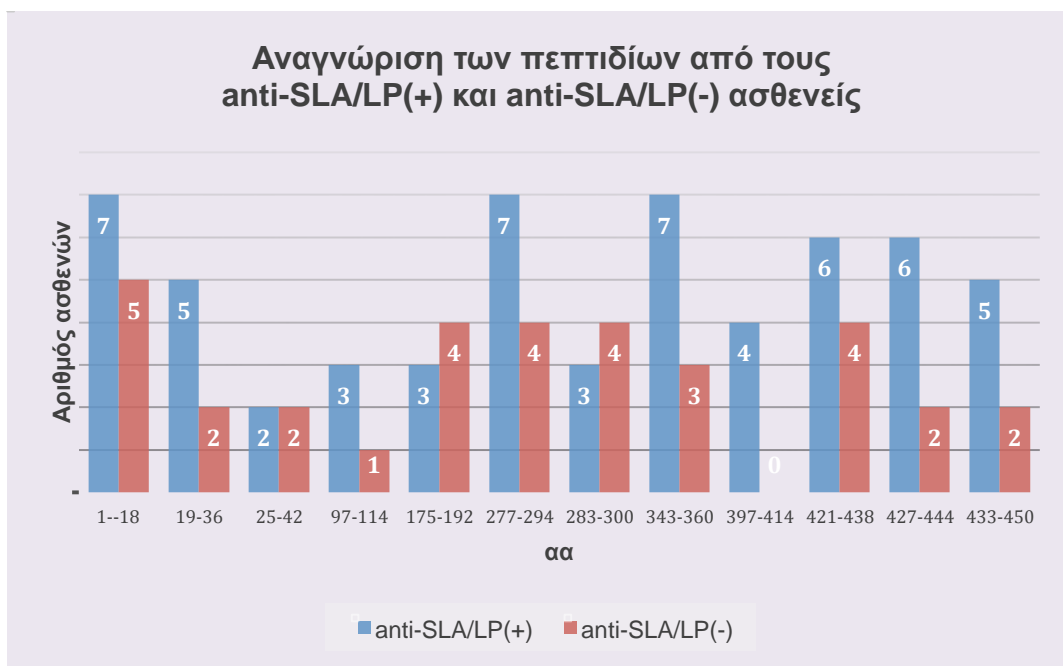


Εικόνα 30. Καμπύλες επιβίωσης Kaplan-Meier των ασθενών με ΑΗ αναλόγως της παρουσίας συνδυασμού αυτοαντισωμάτων έναντι SLA/Ro52.

8.7 Αντιγονικοί επίτοποι της πρωτεΐνης Ro52.

Οι οροί 26 συνολικά anti-Ro52(+) ασθενών με ΑΗ ελέγχθηκαν για την παρουσία αντιγονικών επιτόπων με ELISA, χρησιμοποιώντας 78 συνθετικά αλληλεπικαλυπτόμενα πεπτιδία και σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφηκε. Οι 14 εξ αυτών εμφάνιζαν ταυτόχρονη αντιδραστικότητα έναντι του SLA/LP, ενώ οι υπόλοιποι 12 ήταν αρνητικοί.

Μια σειρά από αλληλουχίες αναγνωρίστηκαν από τους ασθενείς με ΑΗ και μάλιστα τέσσερις διαφορετικές αλληλουχίες αναγνωρίστηκαν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 30% (Πίνακας 16). Πιο συγκεκριμένα, μεγάλος αριθμός ασθενών αναγνώρισε τις αλληλουχίες: **αα 1-18**, **αα 277-294**, **αα 343-360** και **αα 421-450** (εικόνα 31).



Εικόνα 31. Συχνότερα αναγνωριζόμενα πεπτιδία μεταξύ των anti-SLA/LP(+) και anti-SLA/LP(-) ασθενών.

Πίνακας 16: Αναγνώριση των πεπτιδίων από τους ασθενείς με ΑΗ.				
Πεπτίδιο	αα	Αλληλουχία	ΑΗ anti- SLA/LP(+)/ anti-Ro52(+) n=14 (%)	ΑΗ anti- SLA/LP(-)/ anti-Ro52(+) n=12 (%)
1	1-18	MASAARLTMMWEEVTCPI	7(50)	5(42)
2	7-24	LTMMWEEVTCPICLDPFV	2(14)	1
3	13-30	EVTCPICLDPFVEPVSIE	2(14)	1
4	19-36	CLDPFVEPVSIECGHSFC	5(36)	2(17)
5	25-42	EPVSIIECGHSFCQECISQ	2(14)	2(17)
6	31-48	CGHSFCQECISQVGKGGG	0	0
7	37-54	QECISQVGKGGGSVCPVC	1	0
8	43-60	VGKGGGSVCPVCRQRFL	0	0
9	49-66	SVCPVCRQRFLKLNLRPN	0	0
10	55-72	RQRFLKLNLRPNRQLANM	1	0
11	61-78	KNLRPNRQLANMVNNLKE	2(14)	0
12	67-84	RQLANMVNNLKEISQEAR	1	0
13	73-90	VNNLKEISQEARREGTQGE	1	0
14	79-96	ISQEARREGTQGERCAVHG	0	0
15	85-102	EGTQGERCAVHGERLHLF	1	0
16	91-108	RCAVHGERLHLFCEKDGK	0	0
17	97-114	ERLHLFCEKDGKALCWVC	3(21.5)	1
18	103-120	CEKDGKALCWVCAQSRKH	1	0
19	109-126	ALCWVCAQSRKHRDHAMV	2(14)	1
20	115-132	AQSRKHRDHAMVPLEEAA	1	0

21	121-138	RDHAMVPLEEAAQEYQEK	1	0
22	127-144	PLEEAAQEYQEKLQVALG	1	1
23	133-150	QEYQEKLQVALGELRRKQ	1	1
24	139-156	LQVALGELRRKQELAEKL	2(14)	0
25	145-162	ELRRKQELAEKLEVEIAI	0	1
26	151-168	ELAEKLEVEIAIKRADWK	3(21.5)	0
27	157-174	EVEIAIKRADWKKTVETQ	0	0
28	163-180	KRADWKKTVETQKSRIHA	1	0
29	169-186	KTVETQKSRIHAEFVQQ	0	0
30	175-192	KSRIHAEFVQQKNFLVEE	3(21.5)	4(33)
31	181-198	EFVQQKNFLVEEEQRQLQ	0	0
32	187-204	NFLVEEEQRQLQELEKDE	0	0
33	193-210	EQRQLQELEKDEREQLRI	0	0
34	199-216	ELEKDEREQLRILGEKEA	0	1
35	205-222	REQLRILGEKEAKLAQQS	0	0
36	211-228	LGEKEAKLAQQSQUALQEL	1	0
37	217-234	KLAQQSQUALQELISELDR	0	0
38	223-240	QALQELISELDRRCHSSA	1	1
39	229-246	ISELDRRCHSSALELLQE	0	0
40	235-252	RCHSSALELLQEVIIVLE	2(14)	0
41	241-258	LELLQEVIIVLERSSESWN	1	0
42	247-264	VIIVLERSSESWNLKDLDI	1	0
43	253-270	RSESWNLKDLDITSPELR	0	0
44	259-276	LKDLDITSPELRSVCHVP	0	0
45	265-282	TSPELRSVCHVPGLKKML	1	0
46	271-288	SVCHVPGLKKMLRTCAVH	0	0

47	277-294	GLKKMLRTCAVHITLDPD	7(50)	4(33)
48	283-300	RTCAVHITLDPDTANPWL	3(21.5)	2(17)
49	289-306	ITLDPDTANPWLILSEDR	0	0
50	295-312	TANPWLILSEDRRQVRLG	0	0
51	301-318	ILSEDRRQVRLGDTQQSI	0	0
52	307-324	RQVRLGDTQQSIPGNEER	0	1
53	313-330	DTQQSIPGNEERFDSYPM	0	1
54	319-336	PGNEERFDSYPMVLGAQH	0	1
55	325-342	FDSYPMVLGAQHFHSGKH	1	2(17)
56	331-348	VLGAQHFHSGKHYYWEVDV	1	0
57	337-354	FHSGKHYYWEVDVTGKEAW	0	0
58	343-360	YWEVDVTGKEAWDLGVCR	7(50)	3(25)
59	349-366	TGKEAWDLGVCRDSVRRK	0	0
60	355-372	DLGVCRDSVRRKGFHLLS	0	0
61	361-378	DSVRRKGFHLLSSKSGFW	0	0
62	367-384	GFHLLSSKSGFWTIWLWN	0	0
63	373-390	SKSGFWTIWLWNKQKYEAA	0	0
64	379-396	TIWLWNKQKYEAGTYPQT	2(14)	0
65	385-402	KQKYEAGTYPQTPLHLQV	0	0
66	391-408	GTYPQTPLHLQVPPCQVG	0	0
67	397-414	PLHLQVPPCQVGIFLDYE	4(28.6)	0
68	403-420	PPCQVGIFLDYEAGMVSF	3(21.5)	0
69	409-426	IFLDYEAGMVSFYNITDH	0	0
70	415-432	AGMVSFYNITDHGSLIYS	0	2(17)
71	421-438	YNITDHGSLIYSFSECAF	6(43)	4(33)
72	427-444	GSLIYSFSECAFTGPLRP	6(43)	2(17)

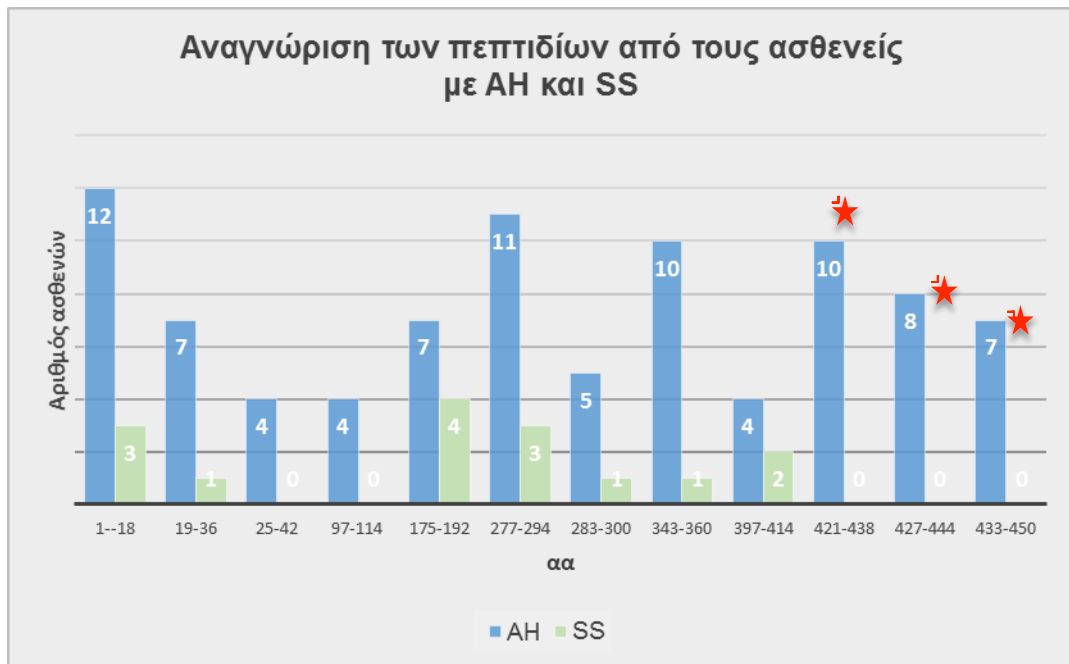
73	433-450	FSECAFTGPLRPFSPGF	5(36)	2(17)
74	439-456	TGPLRPFSPGFNDGGKN	2(14)	1
75	445-462	FFSPGFNDGGKNTAPLTL	1	0
76	451-468	NDGGKNTAPLTLCLNIG	3(21.5)	0
77	457-474	TAPLTLCLNIGSQGSTD	0	0
78	458-475	APLTLCLNIGSQGSTDY	1	1

Ιδιαίτερα οι αλληλουχίες *αα 1-18, αα 277-294* και *αα 343-360* αναγνωρίστηκαν από τους μισούς (50%) anti-SLA/LP(+) ασθενείς. Τα αντίστοιχα ποσοστά αναγνώρισης στους anti-SLA/LP(-) ασθενείς ήταν 42%, 33% και 25% ($p>0,05$). Στις συχνά αναγνωριζόμενες ακολουθίες αμινοξέων ανήκε επίσης αυτή που αφορούσε τα *αα 19-36*, αφού αναγνωρίστηκε από 36% των anti-SLA/LP(+) ασθενών και 17% των anti-SLA/LP(-) ασθενών, ενώ η αλληλουχία *αα 175-192* αναγνωρίστηκε αντίστοιχα από το 21% και το 33%.

Επιπλέον, η αλληλουχία *αα 421-456* (τρία διαδοχικά πεπτίδια κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο) αναγνωρίστηκε από σημαντικό αριθμό ασθενών, που έφθανε έως και το 43% στους anti-SLA/LP(+) και το 33% στους anti-SLA/LP(-) ασθενείς. Ωστόσο, οι όποιες διαφορές στη συχνότητα της αναγνώρισης των πεπτιδίων μεταξύ των ασθενών με ΑΗ αναλόγως του SLA/LP δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p>0,05$ σε όλες τις περιπτώσεις).

Οι ασθενείς με SS, που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, αναγνώρισαν επίσης μια σειρά από πεπτίδια και κυρίως τα *αα 1-18* (25%), *175-192* (33%) και *277-294* (25%). Στον πίνακα 17 και σχηματικά στην εικόνα 32 φαίνονται τα

θετικά πεπτίδια στους ασθενείς με ΑΗ (συνολικά) και στους ασθενείς με SS καθώς και οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.



Εικόνα 32. Συχνότερα αναγνωριζόμενα πεπτίδια μεταξύ των ασθενών με ΑΗ και αυτών με SS. Με αστερίσκο σημειώνονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές.

**Πίνακας 17: Αναγνώριση των πεπτιδίων
από τους ασθενείς με ΑΗ και SS.**

Πεπτίδιο	αα	Αλληλουχία	ΑΗ n=26 (%)	SS n=12 (%)	p- value
1	1-18	MASAARLTMMWEEVTCPI	12 (46)	3(25)	ns
2	7-24	LTMMWEEVTCPICLDPFV	3 (12)	1	ns
3	13-30	EVTCPICLDPFVEPVSI	3 (12)	1	ns
4	19-36	CLDPFVEPVSIIEGHSFC	7 (27)	1	ns
5	25-42	EPVSIIEGHSFCQECISQ	4 (15)	0	ns
6	31-48	CGHSFCQECISQVGKGGG	0	0	ns
7	37-54	QECISQVGKGGGSVCPVC	1	0	ns
8	43-60	VGKGGGSVCPVCRQRFL	0	0	ns
9	49-66	SVCPVCRQRFLLNLRPN	0	0	ns
10	55-72	RQRFLLNLRPNRQLANM	1	1	ns
11	61-78	KNLRPNRQLANMVNNLKE	2 (8)	0	ns
12	67-84	RQLANMVNNLKEISQEAR	1	0	ns
13	73-90	VNNLKEISQEARREGTQGE	1	1	ns
14	79-96	ISQEARREGTQGERCAVHG	0	1	ns
15	85-102	EGTQGERCAVHGERLHLF	1	1	ns
16	91-108	RCAVHGERLHLFCEKDGK	0	1	ns
17	97-114	ERLHLFCEKDGKALCWVC	4 (15)	0	ns
18	103-120	CEKDGKALCWVCAQSRKH	1	0	ns
19	109-126	ALCWVCAQSRKHRDHAMV	3 (12)	0	ns
20	115-132	AQSRKHRDHAMVPLEEAA	1	0	ns
21	121-138	RDHAMVPLEEAAQEYQEK	1	1	ns

22	127-144	PLEEAAQEYQEKLQVALG	2 (8)	0	ns
23	133-150	QEYQEKLQVALGELRRKQ	2 (8)	0	ns
24	139-156	LQVALGELRRKQELAEKL	2 (8)	0	ns
25	145-162	ELRRKQELAEKLEVEIAI	1	1	ns
26	151-168	ELAEKLEVEIAIKRADWK	3 (12)	1	ns
27	157-174	EVEIAIKRADWKKTVETQ	0	0	ns
28	163-180	KRADWKKTVETQKSRIHA	1	1	ns
29	169-186	KTVETQKSRIHAEFVQQ	0	0	ns
30	175-192	KSRIHAEFVQQKNFLVEE	7 (27)	4(33)	ns
31	181-198	EFVQQKNFLVEEEQRQLQ	0	0	ns
32	187-204	NFLVEEEQRQLQELEKDE	0	0	ns
33	193-210	EQRQLQELEKDEREQLRI	0	0	ns
34	199-216	ELEKDEREQLRILGEKEA	1	1	ns
35	205-222	REQLRILGEKEAKLAQQS	0	0	ns
36	211-228	LGEKEAKLAQQSQALQEL	1	1	ns
37	217-234	KLAQQSQALQELISELDR	0	0	ns
38	223-240	QALQELISELDRRCHSSA	2 (8)	1	ns
39	229-246	ISELDRRCHSSALELLQE	0	1	ns
40	235-252	RCHSSALELLQEVIIVLE	2 (8)	0	ns
41	241-258	LELLQEVIIVLERSESWN	1	1	ns
42	247-264	VIIVLERSESWNLKDLDI	1	1	ns
43	253-270	RSESWNLKDLDITSPELR	0	1	ns
44	259-276	LKDLDITSPELRSVCHVP	0	0	ns
45	265-282	TSPELRSVCHVPGLKKML	1	0	ns
46	271-288	SVCHVPGLKKMLRTCAVH	0	1	ns
47	277-294	GLKKMLRTCAVHITLDPD	11 (42)	3(25)	ns

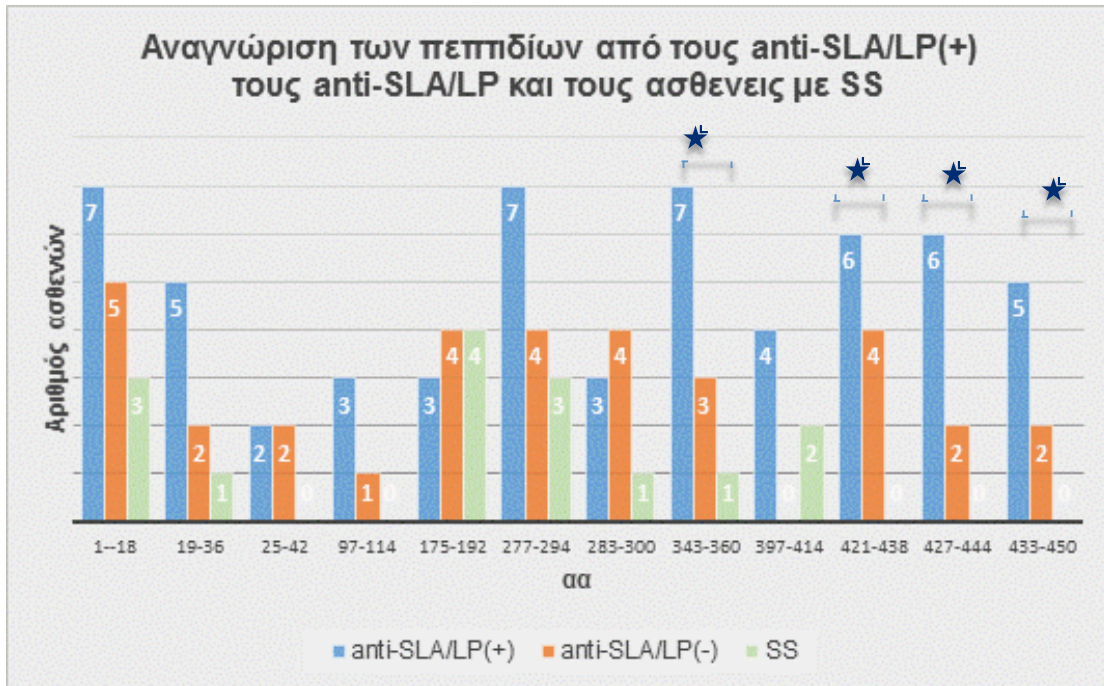
48	283-300	RTCAVHITLDPDTANPWL	5 (19)	1	ns
49	289-306	ITLDPDTANPWLILSEDR	0	0	ns
50	295-312	TANPWLILSEDRRQVRLG	0	1	ns
51	301-318	ILSEDRRQVRLGDTQQSI	0	0	ns
52	307-324	RQVRLGDTQQSIPGNEER	1	1	ns
53	313-330	DTQQSIPGNEERFDSYPM	1	1	ns
54	319-336	PGNEERFDSYPMVLGAQH	1	0	ns
55	325-342	FDSYPMVLGAQHFHSGKH	3 (12)	0	ns
56	331-348	VLGAQHFHSGKHYWEVDV	1	0	ns
57	337-354	FHSGKHYWEVDVTGKEAW	0	0	ns
58	343-360	YWEVDVTGKEAWDLGVCR	10 (38)	1	ns
59	349-366	TGKEAWDLGVCRDSVRRK	0	0	ns
60	355-372	DLGVCRDSVRRKGFHLLS	0	0	ns
61	361-378	DSVRRKGFHLLSSKSGFW	0	0	ns
62	367-384	GFHLLSSKSGFWTIWLWN	0	0	ns
63	373-390	SKSGFWTIWLWNKQKYEAG	0	1	ns
64	379-396	TIWLWNKQKYEAGTYPQT	2(8)	1	ns
65	385-402	KQKYEAGTYPQTPLHLQV	0	1	ns
66	391-408	GTYPQTPLHLQVPPCQVG	0	1	ns
67	397-414	PLHLQVPPCQVGIFLDYE	4(15)	2(17)	ns
68	403-420	PPCQVGIFLDYEAGMVSF	3(12)	1	ns
69	409-426	IFLDYEAGMVSFYNITDH	0	0	ns
70	415-432	AGMVSFYNITDHGSLIYS	0	0	ns
71	421-438	YNITDHGSLIYSFSECAF	10(38)	0	0,016
72	427-444	GSLIYSFSECAFTGPLRP	8 (31)	0	0,039
73	433-450	FSECAFTGPLRPFSPGF	7 (27)	0	<0,1

74	439-456	TGPLRPFSPGFNDGGKN	3(12)	0	ns
75	445-462	FFSPGFNDGGKNTAPLTL	1	1	ns
76	451-468	NDGGKNTAPLTLPLNIG	3(12)	0	ns
77	457-474	TAPLTLPLNIGSQGSTD	0	0	ns
78	458-475	APLTLPLNIGSQGSTDY	2 (8)	1	ns

Η ακολουθία αα 343-360 αναγνωρίστηκε με μεγαλύτερη συχνότητα από τους ασθενείς με ΑΗ (38%) συγκριτικά με το SS (8%), χωρίς ωστόσο να πρόκειται για στατιστικά σημαντική διαφορά.

Τα τρία διαδοχικά πεπτίδια (αα 421-450) που αναγνωρίστηκαν σε μεγάλο βαθμό από τους ασθενείς με ΑΗ (38%, 31% και 27% αντίστοιχα) δεν αναγνωρίστηκαν από κανέναν από τους ασθενείς με SS. Έτσι, για τα δύο πρώτα η διαφορά στην αναγνώρισή τους μεταξύ των ασθενών με ΑΗ και αυτών με SS ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,016$ για τα αα 421-438 και $p=0,039$ για τα αα 433-450). Για το τρίτο πεπτίδιο (αα 433-450) υπήρχε επίσης μια τάση συχνότερης εμφάνισης στους ασθενείς με ΑΗ συγκριτικά με αυτούς με SS ($p=0.072$).

Στον πίνακα 18 και σχηματικά στην εικόνα 33 φαίνεται συγκριτικά η επιμέρους αναγνώριση των πεπτιδίων από τους ασθενείς με ΑΗ αναλόγως της αντιδραστικότητάς τους ως προς το SLA/LP και αυτούς με SS.



Εικόνα 33. Συχνότερα αναγνωριζόμενα πεπτίδια μεταξύ των ασθενών με AH αναλόγως της παρουσίας anti-SLA/LP και αυτών με SS και στατιστικά σημαντικές διαφορές (αστερίσκοι).

Στατιστικά σημαντική ($p=0,036$) ήταν η διαφορά στην αναγνώριση των αα 343-360 από τους μισούς anti-SLA/LP(+) ασθενείς (50%) έναντι μόλις ενός ασθενούς με SS (8%). Όσον αφορά τις τρεις διαδοχικές αλληλουχίες 421-438, 427-444 και 433-450, διαπιστώθηκαν διαφορές κυρίως μεταξύ των anti-SLA/LP(+) ασθενών και αυτών με SS. Έτσι, τα πεπτίδια 421-438 και 427-444

Πίνακας 18. Αναγνώριση των πεπτιδίων από τους ασθενείς με ΑΗ αναλόγως της παρουσίας anti-SLA/LP και τους ασθενείς με SS

αα	AH anti-SLA/LP(+)/ anti-Ro52(+) n=14(%)	AH anti-SLA/LP(-)/ anti-Ro52(+) n=12(%)	SS n=12 (%)	p-value
1-18	7(50)	5(42)	3(25)	ns
7-24	2(14)	1	1	ns
13-30	2(14)	1	1	ns
19-36	5(36)	2(17)	1(8)	ns
25-42	2(14)	2(17)	0	ns
31-48	0	0	0	ns
37-54	1	0	0	ns
43-60	0	0	0	ns
49-66	0	0	0	ns
55-72	1	0	1	ns
61-78	2(14)	0	0	ns
67-84	1	0	0	ns
73-90	1	0	1	ns
79-96	0	0	1	ns
85-102	1	0	1	ns
91-108	0	0	1	ns
97-114	3(21.5)	1	0	ns
103-120	1	0	0	ns

109-126	2(14)	1	0	ns
115-132	1	0	0	ns
121-138	1	0	1	ns
127-144	1	1	0	ns
133-150	1	1	0	ns
139-156	2(14)	0	0	ns
145-162	0	1	1	ns
151-168	3(21.5)	0	1	ns
157-174	0	0	0	ns
163-180	1	0	1	ns
169-186	0	0	0	ns
175-192	3(21.5)	4(33)	4(33)	ns
181-198	0	0	0	ns
187-204	0	0	0	ns
193-210	0	0	0	ns
199-216	0	1	1	ns
205-222	0	0	0	ns
211-228	1	0	1	ns
217-234	0	0	0	ns
223-240	1	1	1	ns
229-246	0	0	1	ns
235-252	2(14)	0	0	ns
241-258	1	0	1	ns
247-264	1	0	1	ns
253-270	0	0	1	ns
259-276	0	0	0	ns
265-282	1	0	0	ns

271-288	0	0	1	ns
277-294	7(50)	4(33)	3(25)	ns
283-300	3(21.5)	2(17)	1	ns
289-306	0	0	0	ns
295-312	0	0	1	ns
301-318	0	0	0	ns
307-324	0	1	1	ns
313-330	0	1	1	ns
319-336	0	1	0	ns
325-342	1	2(17)	0	ns
331-348	1	0	0	ns
337-354	0	0	0	ns
343-360	7(50)*	3(25)	1(8)*	<0.05
349-366	0	0	0	ns
355-372	0	0	0	ns
361-378	0	0	0	ns
367-384	0	0	0	ns
373-390	0	0	1	ns
379-396	2(14)	0	1	ns
385-402	0	0	1	ns
391-408	0	0	1	ns
397-414	4(28.6)	0	2(17)	ns
403-420	3(21.5)	0	1	ns
409-426	0	0	0	ns

415-432	0	2(17)	0	ns
421-438	6(43)**	4(33)	0**	0.017
427-444	6(43)**	2(17)	0**	0.017
433-450	5(36)***	2(17)	0***	<0.05
439-456	2(14)	1	0	ns
445-462	1	0	1	ns
451-468	3(21.5)	0	0	ns
457-474	0	0	0	ns
458-475	1	1	1	ns

αναγνωρίστηκαν από το 43% των anti-SLA/LP(+), αλλά κανέναν με SS ($p=0,017$). Παρόμοια, η ακολουθία αα 433-450 αναγνωρίστηκε από το 36% των anti-SLA/LP(+) ασθενών, χωρίς να αναγνωριστεί από κάποιον από τους ασθενείς με SS που ελέγχθηκαν ($p=0,042$).

Ο έλεγχος για συσχέτιση των ανωτέρω επιτόπων με κλινικά, βιοχημικά, ορολογικά ή ιστολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών, δεν ανέδειξε την παρουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών, μεταξύ των ασθενών που αναγνώριζαν ή δεν αναγνώριζαν τους συγκεκριμένους επιτόπους.

8.8 Σύγκριση των επιτόπων του Ro52 με αυτούς τους SLA/LP

Επιπλέον, όταν οι αλληλουχίες του Ro52 που αναγνωρίστηκαν από τους ασθενείς με AH συγκρίθηκαν με αντίστοιχες που έχουν περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία για το SLA/LP δεν φάνηκε να υπάρχει ταύτιση.

Τέλος, ο έλεγχος των συγκεκριμένων αλληλουχιών σε πρωτεϊνικές βιβλιοθήκες με BLASTPROT δεν ανέδειξε ομοιότητα αυτών με γνωστές αλληλουχίες που ανευρίσκονται σε ιούς ή άλλους μικροβιακούς παράγοντες.

9 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα anti-SLA/LP θεωρούνται εξαιρετικά ειδικά αντισώματα για την ΑΗ (44, 46, 47, 58), χωρίς ωστόσο, να έχει διευκρινιστεί πλήρως μέχρι σήμερα η ακριβής κλινική τους σημασία. Κατά κανόνα η παρουσία τους θεωρείται ότι συνδέεται με μια πιο σοβαρή και επιθετική μορφή της νόσου (211, 445, 448, 449, 495).

Η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε μια μεγάλη σειρά 129 διαδοχικών ασθενών με ΑΗ, οι οποίοι παρακολούθηθηκαν για μεγάλο χρονικό διάστημα ($83 \pm 74,6$ μήνες). Στους ασθενείς αυτούς καταγράφηκαν τα κλινικά, βιοχημικά και ορολογικά χαρακτηριστικά σε όλη τη διάρκεια της παρακολούθησης καθώς επίσης η ανταπόκρισή τους στην ανοσοκατασταλτική αγωγή.

Ο προσδιορισμός των anti-SLA/LP πραγματοποιήθηκε στο σύνολο των ασθενών με τη χρήση τόσο εμπορικών όσο και in house μεθόδων. Η συχνότητα της ανίχνευσης των anti-SLA/LP στο δείγμα που ελέγχθηκε ανήλθε στο 18%, βρέθηκε δηλαδή σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία (495) .

Ωστόσο, η παρουσία ή αντίστοιχα η απουσία των anti-SLA/LP δε φάνηκε ικανή να διακρίνει μια ομάδα ασθενών με διαφορετική μορφή της νόσου, αφού δεν υπήρχαν διαφορές στα βασικά χαρακτηριστικά των ασθενών ή την τελική έκβασή τους. Κατά συνέπεια δεν επιβεβαιώθηκαν παλιότερες μελέτες, στις οποίες οι anti-SLA/LP(+) ασθενείς φέρονται να εκδηλώνουν πιο σοβαρή μορφή ΑΗ (378).

Επιπλέον, ο προσδιορισμός σε ολόκληρη τη σειρά των ασθενών των anti-Ro52 αντισωμάτων, επιβεβαίωσε τη συχνή εμφάνισή τους στους ασθενείς με

AH (403-4) και κυρίως τη συχνή συνύπαρξή τους με την παρουσία αντισωμάτων έναντι του SLA/LP. Η παρουσία των συγκεκριμένων αυτοαντισωμάτων είτε ανεξάρτητα είτε σε συνδυασμό με τα anti-SLA/LP έχει περιγραφεί να χαρακτηρίζει ασθενείς με χειρότερη πρόγνωση, συχνότερη παρουσία κίρρωσης κατά τη διάγνωση και εξέλιξη σε μεταμόσχευση ή θάνατο (176). Εντούτοις, στην παρούσα μελέτη, όπως και στην περίπτωση των anti-SLA/LP, έτσι και σε αυτή των anti-Ro52, η παρουσία των αυτοαντισωμάτων ή η συνύπαρξή τους δε φάνηκε να χαρακτηρίζει έναν υπότυπο ασθενών με διαφορετικά κλινικά χαρακτηριστικά ή διαφορετική σε γενικές γραμμές πορεία.

Τέλος, μελετήθηκαν για πρώτη φορά οι κυρίαρχοι αντιγονικοί καθοριστές του Ro52 σε ασθενείς με AH και διαπιστώθηκαν περιοχές της πρωτεΐνης με αντιγονικές ιδιότητες σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με AH. Επιπλέον, αναδείχθηκαν ορισμένες διαφορές συγκριτικά με όσα είναι ήδη γνωστά για τους επιτόπους αυτούς στους ασθενείς με SS ή άλλα αυτοάνοσα νοσήματα.

Τα anti-SLA/LP παραδοσιακά θεωρούνται δυσμενής προγνωστικός δείκτης της AH, καθώς μια σειρά μελετών έδειξαν ότι αυτά σχετίζονται με σοβαρή ιστολογικά νόσο, συχνή παρουσία κίρρωσης κατά τη διάγνωση, πτωχή ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή και μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής κατά την απόσυρση των κορτικοστεροειδών (211, 445, 495).

Η παρουσία αντιδραστικότητας έναντι ορισμένων διαμορφωτικών επιτόπων του SLA/LP φάνηκε στη μελέτη των Ma και συνεργατών (445) ικανή να διακρίνει μια ομάδα ασθενών με χειρότερη πρόγνωση. Οι συγκεκριμένοι

ασθενείς είχαν πιο ενεργή ιστολογικά νόσο κατά τη διάγνωση, χρειάστηκαν μεγαλύτερο διάστημα αγωγής προκειμένου να επιτευχθεί η ύφεση, εμφάνιζαν περισσότερες υποτροπές και μεγαλύτερη ανάγκη για μεταμόσχευση ή συνολική θνητότητα.

Στην παρούσα μελέτη, η παρουσία αντισωμάτων έναντι του SLA/LP δεν διαφοροποιούσε τους ασθενείς ως προς τα κλινικά, βιοχημικά και ορολογικά τους χαρακτηριστικά, τα ιστολογικά τους ευρήματα, την παρουσία κίρρωσης κατά τη διάγνωση του νοσήματος ή την τελική τους έκβαση.

Θα πρέπει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι στην συγκεκριμένη μελέτη συμπεριλήφθησαν ως επί το πλείστον ενήλικες και μόλις τρία παιδιά (ηλικίας 6, 12 και 14 ετών). Αντίθετα, οι Ma και συν αφενός χρησιμοποίησαν ραδιοανοσολογική μέθοδο, ενώ επιπλέον είχαν συμπεριλάβει κυρίως παιδιατρικό πληθυσμό, όπου η νόσος πιθανώς να εκδηλώνεται εξαρχής με πιο σοβαρή μορφή (496). Φαίνεται λοιπόν ότι οι μελέτες διέφεραν ως προς το σχεδιασμό, τη μέθοδο προσδιορισμού των anti-SLA/LP και το δείγμα των ασθενών και κατά συνέπεια τα αποτελέσματα τους δεν είναι ευθέως συγκρίσιμα.

Επιπρόσθετα, στην παρούσα εργασία, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία αναλόγως της παρουσίας anti-SLA/LP. Έτσι, η συνολική διάρκεια της θεραπείας έως την επίτευξη πλήρους ύφεσης, τα ποσοστά επιτυχούς απόσυρσης της κορτιζόνης και η υποτροπή της νόσου δε φάνηκε να επηρεάζονται από την παρουσία anti-SLA/LP αντισωμάτων. Τα

παραπάνω βρίσκονται σε αντίθεση με ορισμένες παλιότερες μελέτες (179,419), αλλά σε συμφωνία με ορισμένες πιο πρόσφατες (412-415).

Η εθνικότητα, το γενετικό υπόβαθρο, η ηλικία και η βαρύτητα κατά την εμφάνιση της νόσου φαίνεται ότι αποτελούν παράγοντες που επηρεάζουν την πρόγνωση της ΑΗ. Επιπρόσθετα, η έκβαση των ασθενών με ΑΗ μπορεί να σχετίζεται με το σκέλος της θεραπείας, το φαρμακευτικό σχήμα και τον εν γένει σχεδιασμό της (58). Συνεπώς, η όποια ασυμφωνία μεταξύ των μελετών, θα μπορούσε να αποδοθεί αφενός στα ατομικά χαρακτηριστικά και το διαφορετικό υπόβαθρο των ασθενών και αφετέρου στη χρήση διαφορετικών θεραπευτικών παραγόντων και αλγορίθμων.

Όλοι οι ασθενείς που μελετήθηκαν έλαβαν αγωγή με κορτικοστεροειδή και MMF, σύμφωνα με τις δημοσιεύσεις και την εμπειρία του τμήματος (158, 198). Επιπλέον, η διαδικασία της διακοπής των κορτικοστεροειδών ήταν προσαρμοσμένη σε κάθε ασθενή και τις ανάγκες του και δεν βασιζόταν σε προσχεδιασμένα χρονοδιαγράμματα, όπως υποδε ίκνυαν οι δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες (58). Τα εξαιρετικά λοιπόν ποσοστά ανταπόκρισης στην αγωγή και ο μικρός αριθμός των υποτροπών, πιθανότατα συνδέονται με την ίδια τη χρήση του MMF ή/και το εξατομικευμένο θεραπευτικό σχήμα.

Η ανίχνευση των anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων στο σύνολο των ασθενών με ΑΗ που μελετήθηκαν έφτασε το 40%. Τα συγκεκριμένα αυτοαντισώματα διαπιστώνονται μεν χαρακτηριστικά στον ορό των ασθενών με SS και ΣΕΛ και σε ποσοστά που φθάνουν το 90% και το 40% αντίστοιχα, αλλά δε φαίνεται να περιορίζονται στα νοσήματα αυτά (453).

Η παρουσία των anti-Ro52 έχει δειχθεί ότι σχετίζεται με την παρουσία HLA-DR3 αντιγόνων στην AH (176) ή και του απλότυπου A1/B8/DR3 στο SS αντίστοιχα (497). Στη συγκεκριμένη σειρά ασθενών δεν επιβεβαιώθηκαν τα παραπάνω. Αντίθετα, διαπιστώθηκε υψηλότερη συχνότητα HLA-DR3 μεταξύ των anti-Ro52(-) ασθενών σε στατιστικά σημαντικό βαθμό.

Τα anti-Ro52 έχουν περιγραφεί από τους Granito και συν (498), σε ορούς ασθενών με ένα άλλο αυτοάνοσο νόσημα του ήπατος, την ΠΧΧ. Μάλιστα βρέθηκε να είναι τα πλέον συχνά απαντώμενα αντισώματα έναντι πυρηνικών αντιγόνων, αφού το ποσοστό της ανίχνευσής τους προσέγγιζε το 28%. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, η παρουσία τους συνδέεται με ενεργό και προχωρημένη νόσο. Επιπλέον, η παρουσία τους φαίνεται να σχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα χολερυθρίνης και IgM ανοσοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση που αντανakλούν επίσης τη σοβαρότερη εικόνα του νοσήματος.

Αντίθετα, στους ασθενείς με AH στην παρούσα μελέτη, δε φάνηκε τα anti-Ro52 να συνδέονται με ιστολογικά πιο ενεργή νόσο, παρουσία κίρρωσης κατά τη διάγνωση και βαρύτερη μορφή της νόσου γενικά. Στην πραγματικότητα, η μόνη συσχέτιση που παρατηρήθηκε ήταν με τα επίπεδα της IgG ανοσοσφαιρίνης κατά τη διάγνωση της νόσου.

Παρόμοια, σε μια μελέτη των Kvarnstrom και συν (499), που αφορούσε ασθενείς με ΣΕΛ, δε φάνηκε η παρουσία των συγκεκριμένων αυτοαντισωμάτων να προδιαθέτει σε μια πιο σοβαρή μορφή ΣΕΛ, με την έννοια της προσβολής των οργάνων-στόχων. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη, μια

ομάδα ασθενών με αντισώματα έναντι της περιοχής του δακτυλίου (RING) του Ro52 είχαν περισσότερο προχωρημένη νόσο.

Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη, ο συνδυασμός των anti-Ro52 και anti-SLA/LP αυτοαντισωμάτων δε φάνηκε να συνδέεται με πιο σοβαρή μορφή της νόσου ή να έχει άλλες κλινικές συσχετίσεις.

Συνοπτικά, η δομή του Ro52 περιλαμβάνει μια περιοχή RING (1-54), ένα μοτίβο B-Box (αα 126-244) που ακολουθείται από μια περιοχή περιέλιξης (CC, αα 126-242) και την περιοχή B30.2/PRYSPRY (αα 268-465) κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο (455-458).

Ως προς τη λειτουργική σημασία των επιμέρους δομών της πρωτεΐνης Ro52, φαίνεται ότι ένα μέρος της CC περιοχής, και πιο συγκεκριμένα ένας δακτύλιος λευκίνης εντός αυτής, είναι απαραίτητος για την εντόπισή της στο κυτταρόπλασμα. Η περιοχή B30.2 θεωρείται απαραίτητη για τη μετατόπισή της στον πυρήνα. Επιπλέον, έχει περιγραφεί ότι το Ro52 συνδέεται με το Fc τμήμα της IgG μέσω της B 30.2/ PRYSPRY περιοχής με εξαιρετικά υψηλή συγγένεια αντίστοιχη αυτής του βακτηριακού υπεραντιγόνου A (410). Αντιδραστικότητα έναντι του συγκεκριμένου τμήματος του Ro52 δεν έχει περιγραφεί έως τώρα.

Πρόσφατα διατυπώθηκε η άποψη ότι το αυτοαντιγόνο Ro52 είναι μια RING-εξαρτώμενη-E3-λιγκάση με δράση ουμπικουϊνής (390,416). Σε ασθενείς με SS η παρουσία αντισωμάτων έναντι της RING-περιοχής του Ro52 φαίνεται να μπλοκάρει την οδό της ουμπικουϊνής. Εξάλλου, μελέτες σε ποντικούς με έλλειψη Ro52 έδειξαν ότι αυτοί αναπτύσσουν ανεξέλεγκτη

φλεγμονή και συστηματική αυτοανοσία (467). Θα μπορούσε λοιπόν να υποθέσει κανείς ότι τα anti-Ro52 διαδραματίζουν ακόμη και παθογενετικό ρόλο στην ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων, μεταξύ των οποίων η ΑΗ.

Όσον αφορά τη μελέτη των επιτόπων, θεωρείται σημαντική για την κατανόηση των μηχανισμών της αυτοανοσίας και συμβάλλει στο σχεδιασμό πιθανής ανοσοπαρέμβασης (32, 33, 224).

Οι επίτοποι του Ro52 έχουν εκτεταμένα διερευνηθεί στο SS και σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Αναλόγως της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκε και του νοσήματος ή του εξεταζόμενου πληθυσμού, έχουν προταθεί διαφορετικοί επίτοποι. Η CC περιοχή φαίνεται μάλιστα ότι αποτελεί περιοχή-στόχο ανεξαρτήτως της υποκείμενης νόσου (394-402). Στο SS έχει περιγραφεί πληθώρα επιτόπων, που αφορούν είτε τη RING ή το B-box είτε τη CC περιοχή (32). Στην περίπτωση της ΠΧΧ έχει βρεθεί στην περιοχή CC ένας μικρός επίτοπος (αα 228-245) που πρέκυψε από πειράματα με χιμαιρικές πρωτεΐνες, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν σε ELISA και ανοσοαποτύπωση (487).

Σε αντίθεση με το SS ή άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, οι επίτοποι του anti-Ro52 στην ΑΗ δεν έχουν μελετηθεί. Στην παρούσα μελέτη ελέγξαμε την παρουσία γραμμικών επιτόπων του Ro52 σε ασθενείς με ΑΗ με τη χρήση συνθετικών πεπτιδίων. Παρά το μικρό σχετικά δείγμα των ασθενών με ΑΗ στους οποίους μελετήθηκαν οι αντιγονικές περιοχές του Ro52 προέκυψαν ενδιαφέροντα συμπεράσματα.

Διαπιστώθηκε λοιπόν ότι τέσσερις περιοχές της πρωτεΐνης και αναλυτικότερα οι ακολουθίες αα 1-18, αα 277-294, αα 343-360 και αα 421-450 αναγνωρίστηκαν από ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με AH, οι μισοί εκ των οποίων ήταν anti-SLA/LP (+).

Επιπλέον, οι δύο τελευταίες ακολουθίες (αα 343-360 και 421-450) ανήκουν στην περιοχή B30.2/PRYSPRY, κοντά δηλαδή στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης. Μάλιστα η αλληλουχία αα 421-450 αναγνωρίστηκε αποκλειστικά από ασθενείς με AH και όχι από ασθενείς με SS. Όπως προαναφέρθηκε η συγκεκριμένη περιοχή είναι σημαντική για τη σύνδεση με το Fc τμήμα της IgG ανοσοσφαιρίνης, ενώ δεν έχει περιγραφεί προηγούμενα αντιδραστικότητα έναντι αυτής.

Μεταξύ των anti-SLA/LP(+) και των anti-SLA/LP(-) ασθενών, δεν παρατηρήθηκαν διαφοροποιήσεις στην αναγνώριση αντιγονικών περιοχών του Ro52. Θα μπορούσε συνεπώς να υποθέσει κάποιος ότι ο παθογενετικός μηχανισμός για την εμφάνιση anti-Ro52 αντισωμάτων στην AH είναι ενιαίος και δεν επηρεάζεται από την παρουσία anti-SLA/LP. Τέλος, η σύγκριση των ανωτέρω περιγραφέντων επιτόπων με επιτόπους που έχουν περιγραφεί για το SLA/LP δεν ανέδειξε παρουσία ομοιότητας μεταξύ αυτών.

Συμπερασματικά, η συγκεκριμένη μελέτη σχεδιάστηκε προκειμένου να διερευνηθεί την κλινική σημασία των anti-SLA/LP, των anti-Ro52 αντισωμάτων και της συνύπαρξής τους σε ασθενείς με AH. Σε αντίθεση με παλιότερες μελέτες, η παρουσία των παραπάνω αυτοαντισωμάτων είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό δε φάνηκε να συνδυάζεται με βαρύτερη

μορφή ΑΗ και χειρότερη έκβαση της νόσου. Επιπλέον, η μελέτη των επιτόπων του R052 σε ασθενείς με ΑΗ ανέδειξε νέους κυρίαρχους επιτόπους μέσα στην πρωτεΐνη, που θα μπορούσαν να σχετίζονται με την παθογένεια του νοσήματος.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Roitt's Essential Immunology, 12th edition. Wiley-Blackwell, 2011.
2. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology, 8th edition. Saunders, 2014.
3. Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. Immunology, Seventh Edition, MOSBY Elsevier, 2006.
4. Γερμενής Av. Ιατρική ανοσολογία. Εκδόσεις Παπαζήση, 2000.
5. Damjanov Παθοφυσιολογία (Χ. Μουτσόπουλος). Εκδόσεις Παρισιάνου, 2009.
6. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. The New England journal of medicine. 2000;343(1):37-49.
7. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. The New England journal of medicine. 2000; 343(2):108-17.
8. Cooper MD. The early history of B cells. Nature reviews Immunology. 2015;15(3):191-7.
9. Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM, Corcoran LM. The generation of antibody-secreting plasma cells. Nature reviews Immunology. 2015;15(3):160-71.
10. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. Annual review of immunology. 2009;27:591-619.
11. Kamradt T, Mitchison NA. Tolerance and autoimmunity. The New England journal of medicine. 2001;344(9):655-64.
12. Broere F, Apasov SG, Sitkovsky MV, van Eden W. A2 T cell subsets and T cell-mediated immunity. 2011:15-27.
13. Crotty S. A brief history of T cell help to B cells. Nature reviews Immunology. 2015;15(3):185-9.
14. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4(+)T cells: differentiation and functions. Clinical & developmental immunology. 2012;2012:925135.
15. Coico R, Sunshine G, Immunology, 6th edition, Wiley 2009.
16. Μουτσόπουλος Χ, Εμμανουήλ Δ. Βασικές αρχές παθοφυσιολογίας. Εκδόσεις Λίτσας, 2001.
17. Murphy K. Janeway's Immunobiology, 8th edition. Garland Science, 2012.
18. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. Ανοσολογία, 7^η έκδοση. Εκδόσεις Παρισιάνου 2010.

19. Collado JA, Guitart C, Ciudad MT, Alvarez I, Jaraquemada D. The Repertoires of Peptides Presented by MHC-II in the Thymus and in Peripheral Tissue: A Clue for Autoimmunity? *Frontiers in immunology*. 2013;4:442.
20. Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *The New England journal of medicine*. 2006;354(11):1166-76.
21. Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells - a brief history and perspective. *European journal of immunology*. 2007;37 Suppl 1:S116-23.
22. Askenasy N, Kaminitz A, Yarkoni S. Mechanisms of T regulatory cell function. *Autoimmunity reviews*. 2008;7(5):370-5.
23. Baecher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. Human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Seminars in immunology*. 2004;16(2):89-98.
24. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annual review of immunology*. 2012;30:531-64.
25. Piccirillo CA. Regulatory T cells in health and disease. *Cytokine*. 2008;43(3):395-401.
26. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 2008;133(5):775-87.
27. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(7):523-32.
28. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nature immunology*. 2005;6(4):345-52.
29. Chang X, Zheng P, Liu Y. FoxP3: a genetic link between immunodeficiency and autoimmune diseases. *Autoimmunity reviews*. 2006;5(6):399-402.
30. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nature genetics*. 2001;27(1):20-1.
31. Gambineri E, Torgerson TR, Ochs HD. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Current opinion in rheumatology*. 2003;15(4):430-5.

32. Routsias JG, Tzioufas AG. B-cell epitopes of the intracellular autoantigens Ro/SSA and La/SSB: tools to study the regulation of the autoimmune response. *Journal of autoimmunity*. 2010;35(3):256-64.
33. Moutsopoulos NM, Routsias JG, Vlachoyiannopoulos PG, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. B-cell epitopes of intracellular autoantigens: myth and reality. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 2000;6(3):141-51.
34. Van Gegenmortel MHV, Muller S. *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology (Synthetic peptides as antigens)*. Elsevier, 1999
35. Naparstek Y, Plotz PH. The role of autoantibodies in autoimmune disease. *Annual review of immunology*. 1993;11:79-104.
36. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *The New England journal of medicine*. 1996;334(14):897-903.
37. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. *The New England journal of medicine*. 2006;354(1):54-66.
38. Zachou K, Muratori P, Koukoulis GK, Granito A, Gatselis N, Fabbri A, et al. Review article: autoimmune hepatitis - current management and challenges. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2013;38(8):887-913.
39. Werner M, Prytz H, Ohlsson B, Almer S, Bjornsson E, Bergquist A, et al. Epidemiology and the initial presentation of autoimmune hepatitis in Sweden: a nationwide study. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2008;43(10):1232-40.
40. Chen J, Eslick GD, Weltman M. Systematic review with meta-analysis: clinical manifestations and management of autoimmune hepatitis in the elderly. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;39(2):117-24.
41. Feld JJ, Heathcote EJ. Epidemiology of autoimmune liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2003;18(10):1118-28.
42. Liberal R, Grant CR, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2013;41:126-39.
43. Manns MP, Lohse AW, Vergani D. Autoimmune hepatitis--Update 2015. *Journal of hepatology*. 2015;62(1 Suppl):S100-11.
44. EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2015;63(4):971-1004.
45. Johnson PJ, McFarlane IG. Meeting report: International Autoimmune Hepatitis Group. *Hepatology*. 1993;18(4):998-1005.

46. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1999;31(5):929-38.
47. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ, Pares A, Dalekos GN, Krawitt EL, et al. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2008;48(1):169-76.
48. Gatselis NK, Zachou K, Koukoulis GK, Dalekos GN. Autoimmune hepatitis, one disease with many faces: etiopathogenetic, clinico-laboratory and histological characteristics. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2015;21(1):60-83.
49. Heneghan MA, Yeoman AD, Verma S, Smith AD, Longhi MS. Autoimmune hepatitis. *The Lancet*. 2013;382(9902):1433-44.
50. Waldenstrom J. [Liver, blood proteins and nutritive protein]. *Deutsche Zeitschrift fur Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten*. 1953;9:113-9.
51. Joske RA, King WE. The L.E.-cell phenomenon in active chronic viral hepatitis. *Lancet (London, England)*. 1955;269(6888):477-80.
52. Cowling DC, Mackay IR, Taft LI. Lupoid hepatitis. *Lancet (London, England)*. 1956;271(6957):1323-6.
53. Mackay I-R. Historical reflections on autoimmune hepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3292.
54. Reuben A. A sheep in wolf's clothing. *Hepatology*. 2003;38(6):1596-601.
55. Kirk AP, Jain S, Pocock S, Thomas HC, Sherlock S. Late results of the Royal Free Hospital prospective controlled trial of prednisolone therapy in hepatitis B surface antigen negative chronic active hepatitis. *Gut*. 1980;21(1):78-83.
56. Murray-Lyon IM, Stern RB, Williams R. Controlled trial of prednisone and azathioprine in active chronic hepatitis. *Lancet (London, England)*. 1973;1(7806):735-7.
57. Γ.Ν. Νταλέκος, Κ. Ζάχου, Ν.Κ. Γατσέλης, Γ.Κ. Κουκούλης, Ι. Κοσκίνας Κατευθυντήριες Οδηγίες της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Ήπατος (ΕΕΜΗ) για τη Διάγνωση και Αντιμετώπιση της Αυτοανόσου Ηπατίτιδας. Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Ήπατος, Απρίλιος 2015.
58. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, et al. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;51(6):2193-213.
59. Mackay IR. The problem of persisting destructive disease of the liver. *Gastroenterology*. 1961;40:617-26.

60. Mackay IR. A 50-year experience with autoimmune hepatitis: and where are we now? *Journal of gastroenterology*. 2011;46 Suppl 1:17-28.
61. Ngu JH, Bechly K, Chapman BA, Burt MJ, Barclay ML, Geary RB, et al. Population-based epidemiology study of autoimmune hepatitis: a disease of older women? *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2010;25(10):1681-6.
62. Al-Chalabi T, Underhill JA, Portmann BC, McFarlane IG, Heneghan MA. Impact of gender on the long-term outcome and survival of patients with autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2008;48(1):140-7.
63. McFarlane IG. The relationship between autoimmune markers and different clinical syndromes in autoimmune hepatitis. *Gut*. 1998;42(5):599-602.
64. Czaja AJ, Carpenter HA. Distinctive clinical phenotype and treatment outcome of type 1 autoimmune hepatitis in the elderly. *Hepatology*. 2006;43(3):532-8.
65. Liberal R, Vergani D, Mieli-Vergani G. Update on Autoimmune Hepatitis. *Journal of clinical and translational hepatology*. 2015;3(1):42-52.
66. Al-Chalabi T, Boccato S, Portmann BC, McFarlane IG, Heneghan MA. Autoimmune hepatitis (AIH) in the elderly: a systematic retrospective analysis of a large group of consecutive patients with definite AIH followed at a tertiary referral centre. *Journal of hepatology*. 2006;45(4):575-83.
67. Parker DR, Kingham JG. Type I autoimmune hepatitis is primarily a disease of later life. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*. 1997;90(4):289-96.
68. Invernizzi P. Geoepidemiology of autoimmune liver diseases. *Journal of autoimmunity*. 2010;34(3):J300-6.
69. Boberg KM. Prevalence and epidemiology of autoimmune hepatitis. *Clinics in liver disease*. 2002;6(3):635-47.
70. Wong RJ, Gish R, Frederick T, Bzowej N, Frenette C. The impact of race/ethnicity on the clinical epidemiology of autoimmune hepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2012;46(2):155-61.
71. Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, Lohse AW, Manns MP, Schrupf E, et al. Overlap syndromes: the International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *Journal of hepatology*. 2011;54(2):374-85.

72. Berdal JE, Ebbesen J, Rydning A. [Incidence and prevalence of autoimmune liver diseases]. *Tidsskrift for den Norske laegeforening : tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke*. 1998;118(29):4517-9.
73. Primo J, Maroto N, Martinez M, Anton MD, Zaragoza A, Giner R, et al. Incidence of adult form of autoimmune hepatitis in Valencia (Spain). *Acta gastro-enterologica Belgica*. 2009;72(4):402-6.
74. Hurlburt KJ, McMahon BJ, Deubner H, Hsu-Trawinski B, Williams JL, Kowdley KV. Prevalence of autoimmune liver disease in Alaska Natives. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(9):2402-7.
75. Gronbaek L, Vilstrup H, Jepsen P. Autoimmune hepatitis in Denmark: incidence, prevalence, prognosis, and causes of death. A nationwide registry-based cohort study. *Journal of hepatology*. 2014;60(3):612-7.
76. Michitaka K, Nishiguchi S, Aoyagi Y, Hiasa Y, Tokumoto Y, Onji M, et al. Etiology of liver cirrhosis in Japan: a nationwide survey. *Journal of gastroenterology*. 2010;45(1):86-94.
77. Minuk GY, Liu S, Kaita K, Wong S, Renner E, Rempel J, et al. Autoimmune hepatitis in a North American Aboriginal/First Nations population. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie*. 2008;22(10):829-34.
78. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis in diverse ethnic populations and geographical regions. *Expert review of gastroenterology & hepatology*. 2013;7(4):365-85.
79. van Gerven NM, Verwer BJ, Witte BI, van Erpecum KJ, van Buuren HR, Maijers I, et al. Epidemiology and clinical characteristics of autoimmune hepatitis in the Netherlands. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2014;49(10):1245-54.
80. Lim KN, Casanova RL, Boyer TD, Bruno CJ. Autoimmune hepatitis in African Americans: presenting features and response to therapy. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(12):3390-4.
81. Verma S, Torbenson M, Thuluvath PJ. The impact of ethnicity on the natural history of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2007;46(6):1828-35.
82. Munoz-Espinosa LE, Cordero-Perez P, Cura-Esquivel I, Torres-Gonzalez L, Zuniga-Noriega J. Autoimmune hepatitis in Mexican patients. *Journal of clinical gastroenterology*. 2013;47(4):372.

83. Zolfino T, Heneghan MA, Norris S, Harrison PM, Portmann BC, McFarlane IG. Characteristics of autoimmune hepatitis in patients who are not of European Caucasoid ethnic origin. *Gut*. 2002;50(5):713-7.
84. Vergani D. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3306.
85. Vergani D, Mieli-Vergani G. Cutting edge issues in autoimmune hepatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2012;42(3):309-21.
86. Longhi MS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Regulatory T cells in autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2012;57(4):932-3; author reply 3-4.
87. Liberal R, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Pathogenesis of autoimmune hepatitis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2011;25(6):653-64.
88. Czaja AJ, Manns MP. Advances in the diagnosis, pathogenesis, and management of autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(1):58-72 e4.
89. Longhi MS, Ma Y, Mieli-Vergani G, Vergani D. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis. *Journal of autoimmunity*. 2010;34(1):7-14.
90. Czaja AJ, Doherty DG, Donaldson PT. Genetic bases of autoimmune hepatitis. *Digestive diseases and sciences*. 2002;47(10):2139-50.
91. Manabe K, Donaldson PT, Underhill JA, Doherty DG, Mieli-Vergani G, McFarlane IG, et al. Human leukocyte antigen A1-B8-DR3-DQ2-DP1*0401 extended haplotype in autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1993;18(6):1334-7.
92. de Boer YS, van Gerven NM, Zwiers A, Verwer BJ, van Hoek B, van Erpecum KJ, et al. Genome-wide association study identifies variants associated with autoimmune hepatitis type 1. *Gastroenterology*. 2014;147(2):443-52 e5.
93. Donaldson PT, Doherty DG, Hayllar KM, McFarlane IG, Johnson PJ, Williams R. Susceptibility to autoimmune chronic active hepatitis: human leukocyte antigens DR4 and A1-B8-DR3 are independent risk factors. *Hepatology*. 1991;13(4):701-6.
94. Czaja AJ. Genetic factors affecting the occurrence, clinical phenotype, and outcome of autoimmune hepatitis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2008;6(4):379-88.

95. van Gerven NM, de Boer YS, Zwiers A, Verwer BJ, Drenth JP, van Hoek B, et al. HLA-DRB1*03:01 and HLA-DRB1*04:01 modify the presentation and outcome in autoimmune hepatitis type-1. *Genes and immunity*. 2015;16(4):247-52.
96. Duarte-Rey C, Pardo AL, Rodriguez-Velosa Y, Mantilla RD, Anaya JM, Rojas-Villarraga A. HLA class II association with autoimmune hepatitis in Latin America: a meta-analysis. *Autoimmunity reviews*. 2009;8(4):325-31.
97. Bittencourt PL, Goldberg AC, Cancado EL, Porta G, Carrilho FJ, Farias AQ, et al. Genetic heterogeneity in susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2. *The American journal of gastroenterology*. 1999;94(7):1906-13.
98. Ma Y, Bogdanos DP, Hussain MJ, Underhill J, Bansal S, Longhi MS, et al. Polyclonal T-cell responses to cytochrome P450IID6 are associated with disease activity in autoimmune hepatitis type 2. *Gastroenterology*. 2006;130(3):868-82.
99. Agarwal K, Czaja AJ, Jones DE, Donaldson PT. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphisms and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2000;31(1):49-53.
100. Bittencourt PL, Palacios SA, Cancado EL, Porta G, Carrilho FJ, Laudanna AA, et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene polymorphisms do not confer susceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2 in Brazil. *The American journal of gastroenterology*. 2003;98(7):1616-20.
101. Qin B, Li J, Liang Y, Yang Z, Zhong R. The association between Cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, Fas, tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms and autoimmune hepatitis: a meta-analysis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2014;46(6):541-8.
102. Hiraide A, Imazeki F, Yokosuka O, Kanda T, Kojima H, Fukai K, et al. Fas polymorphisms influence susceptibility to autoimmune hepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 2005;100(6):1322-9.
103. Agarwal K, Czaja AJ, Donaldson PT. A functional Fas promoter polymorphism is associated with a severe phenotype in type 1 autoimmune hepatitis characterized by early development of cirrhosis. *Tissue antigens*. 2007;69(3):227-35.
104. Lessard CJ, Ice JA, Adrianto I, Wiley GB, Kelly JA, Gaffney PM, et al. The genomics of autoimmune disease in the era of genome-wide association studies and beyond. *Autoimmunity reviews*. 2012;11(4):267-75.

105. Obermayer–Straub P, Perheentupa J, Braun S, Kayser A, Barut A, Loges S, et al. Hepatic autoantigens in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Gastroenterology*. 2001;121(3):668-77.
106. De Martino L, Capalbo D, Improda N, D'Elia F, Di Mase R, D'Assante R, et al. APECED: A Paradigm of Complex Interactions between Genetic Background and Susceptibility Factors. *Frontiers in immunology*. 2013;4:331.
107. Mathis D, Benoist C. *Aire*. *Annual review of immunology*. 2009;27:287-312.
108. Simmonds MJ, Gough SC. Genetic insights into disease mechanisms of autoimmunity. *British medical bulletin*. 2004;71:93-113.
109. Hardtke-Wolenski M, Taubert R, Noyan F, Sievers M, Dywicky J, Schlue J, et al. Autoimmune hepatitis in a murine autoimmune polyendocrine syndrome type 1 model is directed against multiple autoantigens. *Hepatology*. 2015;61(4):1295-305.
110. Cusick MF, Libbey JE, Fujinami RS. Molecular mimicry as a mechanism of autoimmune disease. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2012;42(1):102-11.
111. Bogdanos DP, Choudhuri K, Vergani D. Molecular mimicry and autoimmune liver disease: virtuous intentions, malign consequences. *Liver*. 2001;21(4):225-32.
112. Kerkar N, Choudhuri K, Ma Y, Mahmoud A, Bogdanos DP, Muratori L, et al. Cytochrome P450D6193-212: A New Immunodominant Epitope and Target of Virus/Self Cross-Reactivity in Liver Kidney Microsomal Autoantibody Type 1-Positive Liver Disease. *The Journal of Immunology*. 2003;170(3):1481-9.
113. Manns MP, Griffin KJ, Sullivan KF, Johnson EF. LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. *The Journal of clinical investigation*. 1991;88(4):1370-8.
114. Manns MP, Jentsch M, Mergener K. Discordant manifestation of LKM-1 antibody positive autoimmune hepatitis in identical twins [abstract] *Hepatology*. 1990;12:840.
115. Ma Y, Thomas MG, Okamoto M, Bogdanos DP, Nagl S, Kerkar N, et al. Key Residues of a Major Cytochrome P450D6 Epitope Are Located on the Surface of the Molecule. *The Journal of Immunology*. 2002;169(1):277-85.
116. Mackay IR. Hepatoimmunology: a perspective. *Immunology and cell biology*. 2002;80(1):36-44.

117. Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):S54-62.
118. Tiegs G, Lohse AW. Immune tolerance: what is unique about the liver. *Journal of autoimmunity*. 2010;34(1):1-6.
119. Trivedi PJ, Adams DH. Mucosal immunity in liver autoimmunity: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:97-111.
120. Crispe IN. Liver antigen-presenting cells. *Journal of hepatology*. 2011;54(2):357-65.
121. Hudspeth K, Pontarini E, Tentorio P, Cimino M, Donadon M, Torzilli G, et al. The role of natural killer cells in autoimmune liver disease: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:55-65.
122. Doherty DG. Immunity, tolerance and autoimmunity in the liver: A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2015.
123. Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Immunohistochemical features of the portal tract mononuclear cell infiltrate in chronic aggressive hepatitis. *Archives of disease in childhood*. 1992;67(12):1447-53.
124. Zingaretti C, Arigo M, Cardaci A, Moro M, Crosti M, Sinisi A, et al. Identification of new autoantigens by protein array indicates a role for IL4 neutralization in autoimmune hepatitis. *Molecular & cellular proteomics : MCP*. 2012;11(12):1885-97.
125. Grant CR, Liberal R, Holder BS, Cardone J, Ma Y, Robson SC, et al. Dysfunctional CD39(POS) regulatory T cells and aberrant control of T-helper type 17 cells in autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2014;59(3):1007-15.
126. Longhi MS, Liberal R, Holder B, Robson SC, Ma Y, Mieli-Vergani G, et al. Inhibition of interleukin-17 promotes differentiation of CD25(-) cells into stable T regulatory cells in patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2012;142(7):1526-35 e6.
127. Peiseler M, Sebode M, Franke B, Wortmann F, Schwinge D, Quaas A, et al. FOXP3+ regulatory T cells in autoimmune hepatitis are fully functional and not reduced in frequency. *Journal of hepatology*. 2012;57(1):125-32.
128. Grant CR, Liberal R, Mieli-Vergani G, Vergani D, Longhi MS. Regulatory T-cells in autoimmune diseases: challenges, controversies and--yet--unanswered questions. *Autoimmunity reviews*. 2015;14(2):105-16.

129. Holder BS, Grant CR, Liberal R, Ma Y, Heneghan MA, Mieli-Vergani G, et al. Retinoic acid stabilizes antigen-specific regulatory T-cell function in autoimmune hepatitis type 2. *Journal of autoimmunity*. 2014;53:26-32.
130. Muratori L, Longhi MS. The interplay between regulatory and effector T cells in autoimmune hepatitis: Implications for innovative treatment strategies. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:74-80.
131. Speletas M, Argentou N, Germanidis G, Vasiliadis T, Mantzoukis K, Patsiaoura K, et al. Foxp3 expression in liver correlates with the degree but not the cause of inflammation. *Mediators of inflammation*. 2011;2011:827565.
132. Vergani GM, Vergani D, Jenkins PJ, Portmann B, Mowat AP, Eddleston AL, et al. Lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in HBsAg-negative chronic active hepatitis. *Clinical and experimental immunology*. 1979;38(1):16-21.
133. Muratori L, Parola M, Ripalti A, Robino G, Muratori P, Bellomo G, et al. Liver/kidney microsomal antibody type 1 targets CYP2D6 on hepatocyte plasma membrane. *Gut*. 2000;46(4):553-61.
134. Vergani D, Mieli-Vergani G, Mondelli M, Portmann B, Eddleston AL. Immunoglobulin on the surface of isolated hepatocytes is associated with antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity and liver damage. *Liver*. 1987;7(6):307-15.
135. Christen U, Hintermann E, Jaeckel E. New animal models for autoimmune hepatitis. *Seminars in liver disease*. 2009;29(3):262-72.
136. Christen U, Holdener M, Hintermann E. Animal models for autoimmune hepatitis. *Autoimmunity reviews*. 2007;6(5):306-11.
137. Hardtke-Wolenski M, Jaeckel E. Mouse models for experimental autoimmune hepatitis: limits and chances. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2010;28(1):70-9.
138. Jaeckel E. Animal models of autoimmune hepatitis. *Seminars in liver disease*. 2002;22(4):325-38.
139. Jaeckel E, Hardtke-Wolenski M, Fischer K. The benefit of animal models for autoimmune hepatitis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2011;25(6):643-51.
140. Lapierre P, Djilali-Saiah I, Vitozzi S, Alvarez F. A murine model of type 2 autoimmune hepatitis: Xenoimmunization with human antigens. *Hepatology*. 2004;39(4):1066-74.

141. Hintermann E, Ehser J, Christen U. The CYP2D6 animal model: how to induce autoimmune hepatitis in mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2012(60).
142. Lapierre P, Beland K, Djilali-Saiah I, Alvarez F. Type 2 autoimmune hepatitis murine model: the influence of genetic background in disease development. *Journal of autoimmunity*. 2006;26(2):82-9.
143. Lapierre P, Beland K, Yang R, Alvarez F. Adoptive transfer of ex vivo expanded regulatory T cells in an autoimmune hepatitis murine model restores peripheral tolerance. *Hepatology*. 2013;57(1):217-27.
144. Holdener M, Hintermann E, Bayer M, Rhode A, Rodrigo E, Hintereder G, et al. Breaking tolerance to the natural human liver autoantigen cytochrome P450 2D6 by virus infection. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(6):1409-22.
145. Kido M, Watanabe N, Okazaki T, Akamatsu T, Tanaka J, Saga K, et al. Fatal autoimmune hepatitis induced by concurrent loss of naturally arising regulatory T cells and PD-1-mediated signaling. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1333-43.
146. Lohse AW, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2011;55(1):171-82.
147. Crapper RM, Bhathal PS, Mackay IR, Frazer IH. 'Acute' autoimmune hepatitis. *Digestion*. 1986;34(3):216-25.
148. Amontree JS, Stuart TD, Bredfeldt JE. Autoimmune chronic active hepatitis masquerading as acute hepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 1989;11(3):303-7.
149. Mieli-Vergani G. Autoimmune paediatric liver disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3360.
150. Fujiwara K, Fukuda Y, Yokosuka O. Precise histological evaluation of liver biopsy specimen is indispensable for diagnosis and treatment of acute-onset autoimmune hepatitis. *Journal of gastroenterology*. 2008;43(12):951-8.
151. Yasui S, Fujiwara K, Yonemitsu Y, Oda S, Nakano M, Yokosuka O. Clinicopathological features of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis. *Journal of gastroenterology*. 2011;46(3):378-90.
152. Muratori P, Granito A, Quarneti C, Ferri S, Menichella R, Cassani F, et al. Autoimmune hepatitis in Italy: the Bologna experience. *Journal of hepatology*. 2009;50(6):1210-8.

153. Feld JJ, Dinh H, Arenovich T, Marcus VA, Wanless IR, Heathcote EJ. Autoimmune hepatitis: effect of symptoms and cirrhosis on natural history and outcome. *Hepatology*. 2005;42(1):53-62.
154. Rigopoulou EI, Dalekos G, Bogdanos DP. How common are connective tissue disorders in patients with autoimmune hepatitis? *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2007;36(5):332; author reply 3.
155. Wong GW, Yeong T, Lawrence D, Yeoman AD, Verma S, Heneghan MA. Concurrent extrahepatic autoimmunity in autoimmune hepatitis: implications for diagnosis, clinical course and long-term outcomes. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2016.
156. Dalekos GN, Bogdanos DP, Neuberger J. Celiac disease-related autoantibodies in end-stage autoimmune liver diseases: what is the message? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2008;28(4):426-8.
157. Germenis AE, Yiannaki EE, Zachou K, Roka V, Barbanis S, Liaskos C, et al. Prevalence and clinical significance of immunoglobulin A antibodies against tissue transglutaminase in patients with diverse chronic liver diseases. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. 2005;12(8):941-8.
158. Zachou K, Gatselis NK, Arvaniti P, Gabeta S, Rigopoulou EI, Koukoulis GK, et al. A real-world study focused on the long-term efficacy of mycophenolate mofetil as first-line treatment of autoimmune hepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2016;43(10):1035-47.
159. Gatselis NK, Zachou K, Norman GL, Tzellas G, Speletas M, Gabeta S, et al. IgA antibodies against deamidated gliadin peptides in patients with chronic liver diseases. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2012;413(19-20):1683-8.
160. Strassburg CP, Manns MP. Therapy of autoimmune hepatitis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2011;25(6):673-87.
161. Roberts SK, Therneau TM, Czaja AJ. Prognosis of histological cirrhosis in type 1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1996;110(3):848-57.
162. Wang KK, Czaja AJ, Beaver SJ, Go VL. Extrahepatic malignancy following long-term immunosuppressive therapy of severe hepatitis B surface antigen-negative chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1989;10(1):39-43.

163. Ngu JH, Garry RB, Frampton CM, Stedman CA. Mortality and the risk of malignancy in autoimmune liver diseases: a population-based study in Canterbury, New Zealand. *Hepatology*. 2012;55(2):522-9.
164. Czaja AJ, Wang KK, Shiels MT, Katzmann JA. Oral pulse prednisone therapy after relapse of severe autoimmune chronic active hepatitis. A prospective randomized treatment trial evaluating clinical, biochemical, and lymphocyte subset responses. *Journal of hepatology*. 1993;17(2):180-6.
165. Johnson PJ, McFarlane IG, Williams R. Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis. *The New England journal of medicine*. 1995;333(15):958-63.
166. Stellon AJ, Keating JJ, Johnson PJ, McFarlane IG, Williams R. Maintenance of remission in autoimmune chronic active hepatitis with azathioprine after corticosteroid withdrawal. *Hepatology*. 1988;8(4):781-4.
167. Tage-Jensen U, Schlichting P, Thomsen HF, Hoybye G, Thomsen AC. Malignancies following long-term azathioprine treatment in chronic liver disease. A report from the Copenhagen Study Group for Liver Diseases. *Liver*. 1987;7(2):81-3.
168. Joshi D, James A, Quaglia A, Westbrook RH, Heneghan MA. Liver disease in pregnancy. *The Lancet*. 2010;375(9714):594-605.
169. Westbrook RH, Yeoman AD, Kriese S, Heneghan MA. Outcomes of pregnancy in women with autoimmune hepatitis. *Journal of autoimmunity*. 2012;38(2-3):J239-44.
170. Candia L, Marquez J, Espinoza LR. Autoimmune hepatitis and pregnancy: a rheumatologist's dilemma. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2005;35(1):49-56.
171. Heneghan MA, Norris SM, O'Grady JG, Harrison PM, McFarlane IG. Management and outcome of pregnancy in autoimmune hepatitis. *Gut*. 2001;48(1):97-102.
172. Czaja AJ. Autoimmune hepatitis in special patient populations. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2011;25(6):689-700.
173. Chaouat G. The Th1/Th2 paradigm: still important in pregnancy? *Seminars in immunopathology*. 2007;29(2):95-113.
174. Buchel E, Van Steenberg W, Nevens F, Fevery J. Improvement of autoimmune hepatitis during pregnancy followed by flare-up after delivery. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(12):3160-5.

175. Muratori P, Loffreda S, Muratori L, Ferrari R, Afandi K, Cassani F, et al. Spontaneous remission of autoimmune hepatitis during pregnancy. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2002;34(8):608-9.
176. Montano-Loza AJ, Shums Z, Norman GL, Czaja AJ. Prognostic implications of antibodies to Ro/SSA and soluble liver antigen in type 1 autoimmune hepatitis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2012;32(1):85-92.
177. Schramm C, Herkel J, Beuers U, Kanzler S, Galle PR, Lohse AW. Pregnancy in autoimmune hepatitis: outcome and risk factors. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101(3):556-60.
178. Newton JL, Burt AD, Park JB, Mathew J, Bassendine MF, James OF. Autoimmune hepatitis in older patients. *Age and ageing*. 1997;26(6):441-4.
179. Peng M, Li Y, Zhang M, Jiang Y, Xu Y, Tian Y, et al. Clinical features in different age groups of patients with autoimmune hepatitis. *Experimental and therapeutic medicine*. 2014;7(1):145-8.
180. Czaja AJ. Clinical features, differential diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis in the elderly. *Drugs & aging*. 2008;25(3):219-39.
181. Vento S, Guella L, Mirandola F, Cainelli F, Di Perri G, Solbiati M, et al. Epstein-Barr virus as a trigger for autoimmune hepatitis in susceptible individuals. *Lancet (London, England)*. 1995;346(8975):608-9.
182. Kerkar N, Hadzic N, Davies ET, Portmann B, Donaldson PT, Rela M, et al. De-novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *The Lancet*. 1998;351(9100):409-13.
183. Salcedo M, Rodriguez-Mahou M, Rodriguez-Sainz C, Rincon D, Alvarez E, Vicario JL, et al. Risk factors for developing de novo autoimmune hepatitis associated with anti-glutathione S-transferase T1 antibodies after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2009;15(5):530-9.
184. Montano-Loza AJ, Vargas-Vorackova F, Ma M, Bain VG, Burak K, Kumar T, et al. Incidence and risk factors associated with de novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2012;32(9):1426-33.

185. Duclos-Vallee JC, Sebagh M. Recurrence of autoimmune disease, primary sclerosing cholangitis, primary biliary cirrhosis, and autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2009;15 Suppl 2:S25-34.
186. Vogel A, Heinrich E, Bahr MJ, Rifai K, Flemming P, Melter M, et al. Long-term outcome of liver transplantation for autoimmune hepatitis. *Clinical transplantation*. 2004;18(1):62-9.
187. Liberal R, Longhi MS, Grant CR, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2012;10(4):346-53.
188. Montano-Loza AJ, Mason AL, Ma M, Bastiampillai RJ, Bain VG, Tandon P. Risk factors for recurrence of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2009;15(10):1254-61.
189. Castiella A, Zapata E, Lucena MI, Andrade RJ. Drug-induced autoimmune liver disease: A diagnostic dilemma of an increasingly reported disease. *World journal of hepatology*. 2014;6(4):160-8.
190. Bjornsson E, Talwalkar J, Treeprasertsuk S, Kamath PS, Takahashi N, Sanderson S, et al. Drug-induced autoimmune hepatitis: clinical characteristics and prognosis. *Hepatology*. 2010;51(6):2040-8.
191. Czaja AJ. Drug-induced autoimmune-like hepatitis. *Digestive diseases and sciences*. 2011;56(4):958-76.
192. Saitis A, Gatselis N, Zachou K, Dalekos GN. Use of TNFalpha antagonists in refractory AIH: revealing the unforeseen. *Journal of hepatology*. 2013;59(1):197-8.
193. Efe C, Purnak T, Ozaslan E, Wahlin S. Drug-induced autoimmune hepatitis caused by anti-tumor necrosis factor alpha agents. *Hepatology*. 2010;52(6):2246-7.
194. Fathalla BM, Goldsmith DP, Pascasio JM, Baldrige A. Development of autoimmune hepatitis in a child with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis during therapy with etanercept. *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*. 2008;14(5):297-8.

195. Grasland A, Sterpu R, Boussoukaya S, Mahe I. Autoimmune hepatitis induced by adalimumab with successful switch to abatacept. *European journal of clinical pharmacology*. 2012;68(5):895-8.
196. Zellos A, Spoulou V, Roma-Giannikou E, Karentzou O, Dalekos GN, Theodoridou M. Autoimmune hepatitis type-2 and Epstein-Barr virus infection in a toddler: art of facts or an artifact? *Annals of hepatology*. 2013;12(1):147-51.
197. Vento S, Garofano T, Di Perri G, Dolci L, Concia E, Bassetti D. Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals. *Lancet (London, England)*. 1991;337(8751):1183-7.
198. Zachou K, Gatselis N, Papadamou G, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Mycophenolate for the treatment of autoimmune hepatitis: prospective assessment of its efficacy and safety for induction and maintenance of remission in a large cohort of treatment-naive patients. *Journal of hepatology*. 2011;55(3):636-46.
199. Gleeson D, Heneghan MA, British Society of G. British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for management of autoimmune hepatitis. *Gut*. 2011;60(12):1611-29.
200. Liberal R, Mieli-Vergani G, Vergani D. Clinical significance of autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:17-24.
201. 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. *Journal of hepatology*. 2004;41(4):677-83.
202. Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. *Journal of autoimmune diseases*. 2004;1(1):2.
203. Vergani D, Longhi MS, Bogdanos DP, Ma Y, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis. *Seminars in immunopathology*. 2009;31(3):421-35.
204. Liberal R, Grant CR, Longhi MS, Mieli-Vergani G, Vergani D. Diagnostic criteria of autoimmune hepatitis. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(4-5):435-40.
205. Czaja AJ. Autoantibodies in Autoimmune Liver Disease. 2005;40:127-64.
206. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Fairfax A, Swana G, Doniach D, Groeschel-Stewart U. Classification of smooth muscle autoantibodies

- detected by immunofluorescence. *Journal of clinical pathology*. 1976;29(5):403-10.
207. Bogdanos D-P. Autoimmune liver serology: Current diagnostic and clinical challenges. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3374.
208. Czaja AJ, Cassani F, Cataleta M, Valentini P, Bianchi FB. Frequency and significance of antibodies to actin in type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1996;24(5):1068-73.
209. Granito A, Muratori L, Muratori P, Pappas G, Guidi M, Cassani F, et al. Antibodies to filamentous actin (F-actin) in type 1 autoimmune hepatitis. *Journal of clinical pathology*. 2006;59(3):280-4.
210. Liaskos C, Bogdanos DP, Davies ET, Dalekos GN. Diagnostic relevance of anti-filamentous actin antibodies in autoimmune hepatitis. *Journal of clinical pathology*. 2007;60(1):107-8.
211. Czaja AJ. Autoantibodies as prognostic markers in autoimmune liver disease. *Digestive diseases and sciences*. 2010;55(8):2144-61.
212. Dbouk N, Parekh S. Impact of pretransplant antinuclear antibody and antismooth muscle antibody titers on disease recurrence and graft survival following liver transplantation in autoimmune hepatitis patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2013;28(3):537-42.
213. Palioura S, Herkel J, Simonovic M, Lohse AW, Soll D. Human SepSecS or SLA/LP: selenocysteine formation and autoimmune hepatitis. *Biological chemistry*. 2010;391(7):771-6.
214. Wies I, Brunner S, Henninger J, Herkel J, Kanzler S, zum Büschenfelde K-HM, et al. Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *The Lancet*. 2000;355(9214):1510-5.
215. Volkmann M, Luithle D, Zentgraf H, Schnolzer M, Fiedler S, Heid H, et al. SLA/LP/tRNP((Ser)Sec) antigen in autoimmune hepatitis: identification of the native protein in human hepatic cell extract. *Journal of autoimmunity*. 2010;34(1):59-65.
216. Bogdanos DP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis. *Seminars in liver disease*. 2009;29(3):241-53.
217. Targan SR, Landers C, Vidrich A, Czaja AJ. High-titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1995;108(4):1159-66.

218. Zauli D, Ghetti S, Grassi A, Descovich C, Cassani F, Ballardini G, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1997;25(5):1105-7.
219. Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology*. 2000;119(2):310-22.
220. Terjung B, Worman HJ, Herzog V, Sauerbruch T, Spengler U. Differentiation of antineutrophil nuclear antibodies in inflammatory bowel and autoimmune liver diseases from antineutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) using immunofluorescence microscopy. *Clinical and experimental immunology*. 2001;126(1):37-46.
221. Manns MP, Obermayer-Straub P. Cytochromes P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, virus-induced, and autoimmune liver disease. *Hepatology*. 1997;26(4):1054-66.
222. Rizzetto M, Swana G, Doniach D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clinical and experimental immunology*. 1973;15(3):331-44.
223. Manns MP, Johnson EF, Griffin KJ, Tan EM, Sullivan KF. Major antigen of liver kidney microsomal autoantibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450db1. *The Journal of clinical investigation*. 1989;83(3):1066-72.
224. Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P, Kayser A, Barut A, Frank H, et al. Epitope mapping of cytochrome P4502D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. *Journal of hepatology*. 1999;30(3):366-75.
225. Muratori L, Lenzi M, Cataleta M, Giostra F, Cassani F, Ballardini G, et al. Interferon therapy in liver/kidney microsomal antibody type 1-positive patients with chronic hepatitis C. *Journal of hepatology*. 1994;21(2):199-203.
226. Vento S, Cainelli F, Renzini C, Concia E. Autoimmune hepatitis type 2 induced by HCV and persisting after viral clearance. *Lancet (London, England)*. 1997;350(9087):1298-9.
227. Homberg JC, Andre C, Abuaf N. A new anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM2) in tienilic acid-induced hepatitis. *Clinical and experimental immunology*. 1984;55(3):561-70.

228. Crivelli O, Lavarini C, Chiaberge E, Amoroso A, Farci P, Negro F, et al. Microsomal autoantibodies in chronic infection with the HBsAg associated delta (delta) agent. *Clinical and experimental immunology*. 1983;54(1):232-8.
229. Philipp T, Durazzo M, Trautwein C, Alex B, Straub P, Lamb JG, et al. Recognition of uridine diphosphate glucuronosyl transferases by LKM-3 antibodies in chronic hepatitis D. *Lancet (London, England)*. 1994;344(8922):578-81.
230. Strassburg CP, Obermayer-Straub P, Alex B, Durazzo M, Rizzetto M, Tukey RH, et al. Autoantibodies against glucuronosyltransferases differ between viral hepatitis and autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 1996;111(6):1576-86.
231. Durazzo M, Philipp T, Van Pelt FN, Luttig B, Borghesio E, Michel G, et al. Heterogeneity of liver-kidney microsomal autoantibodies in chronic hepatitis C and D virus infection. *Gastroenterology*. 1995;108(2):455-62.
232. Fabien N, Desbos A, Bienvenu J, Magdalou J. Autoantibodies directed against the UDP-glucuronosyltransferases in human autoimmune hepatitis. *Autoimmunity reviews*. 2004;3(1):1-9.
233. Abuaf N, Johanet C, Chretien P, Martini E, Soulier E, Laperche S, et al. Characterization of the liver cytosol antigen type 1 reacting with autoantibodies in chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1992;16(4):892-8.
234. Muratori L, Sztul E, Muratori P, Gao Y, Ripalti A, Ponti C, et al. Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology*. 2001;34(3):494-501.
235. Aaltonen J, Bjorses P, Sandkuijl L, Perheentupa J, Peltonen L. An autosomal locus causing autoimmune disease: autoimmune polyglandular disease type I assigned to chromosome 21. *Nature genetics*. 1994;8(1):83-7.
236. Bogdanos DP, Dalekos GN. Enzymes as Target Antigens of Liver-Specific Autoimmunity: The Case of Cytochromes P450s. *Current Medicinal Chemistry*. 2008;15(22):2285-92.
237. Bourdi M, Larrey D, Nataf J, Bernuau J, Pessayre D, Iwasaki M, et al. Anti-liver endoplasmic reticulum autoantibodies are directed against human cytochrome P-450IA2. A specific marker of dihydralazine-induced hepatitis. *The Journal of clinical investigation*. 1990;85(6):1967-73.

238. Gabeta S, Norman GL, Gatselis N, Liaskos C, Papamichalis PA, Garagounis A, et al. IgA anti-b2GPI antibodies in patients with autoimmune liver diseases. *Journal of clinical immunology*. 2008;28(5):501-11.
239. Liaskos C, Rigopoulou E, Zachou K, Georgiadou S, Gatselis N, Papamihali R, et al. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. *Journal of autoimmunity*. 2005;24(3):251-60.
240. 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;48(2):550-6.
241. Himoto T, Murota M, Yoneyama H, Deguchi A, Kurokuchi K, Senda S, et al. Clinical characteristics of patients with autoimmune hepatitis seropositive for anticentromere antibody. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2010;40(8):786-92.
242. Hausdorf G, Roggenbuck D, Feist E, Buttner T, Jungblut PR, Conrad K, et al. Autoantibodies to asialoglycoprotein receptor (ASGPR) measured by a novel ELISA--revival of a disease-activity marker in autoimmune hepatitis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2009;408(1-2):19-24.
243. Rigopoulou EI, Roggenbuck D, Smyk DS, Liaskos C, Mytilinaiou MG, Feist E, et al. Asialoglycoprotein receptor (ASGPR) as target autoantigen in liver autoimmunity: lost and found. *Autoimmunity reviews*. 2012;12(2):260-9.
244. Chantran Y, Ballot E, Johanet C. Autoantibodies in autoimmune hepatitis: anti-asialoglycoprotein receptor (anti-ASGPR) antibodies. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2012;36(5):510-2.
245. Oikonomou KG, Zachou K, Dalekos GN. Alpha-actinin: a multidisciplinary protein with important role in B-cell driven autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2011;10(7):389-96.
246. Renaudineau Y, Croquefer S, Jousse S, Renaudineau E, Devauchelle V, Gueguen P, et al. Association of alpha-actinin-binding anti-double-stranded DNA antibodies with lupus nephritis. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(8):2523-32.
247. Renaudineau Y, Deocharan B, Jousse S, Renaudineau E, Putterman C, Youinou P. Anti-alpha-actinin antibodies: a new marker of lupus nephritis. *Autoimmunity reviews*. 2007;6(7):464-8.

248. Gueguen P, Dalekos G, Nousbaum JB, Zachou K, Putterman C, Youinou P, et al. Double reactivity against actin and alpha-actinin defines a severe form of autoimmune hepatitis type 1. *Journal of clinical immunology*. 2006;26(6):495-505.
249. Zachou K, Oikonomou K, Renaudineau Y, Chauveau A, Gatselis N, Youinou P, et al. Anti-alpha actinin antibodies as new predictors of response to treatment in autoimmune hepatitis type 1. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;35(1):116-25.
250. Zachou K, Oikonomou K, Renaudineau Y, Chauveau A, Gatselis N, Youinou P, et al. Anti- α actinin antibodies as new predictors of response to treatment in autoimmune hepatitis type 1. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;35(1):116-25.
251. Liaskos C, Bogdanos DP, Rigopoulou EI, Dalekos GN. Development of antimitochondrial antibodies in patients with autoimmune hepatitis: art of facts or an artifact? *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2007;22(3):454-5.
252. Montano-Loza AJ, Carpenter HA, Czaja AJ. Frequency, behavior, and prognostic implications of antimitochondrial antibodies in type 1 autoimmune hepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2008;42(9):1047-53.
253. Nezu S, Tanaka A, Yasui H, Imamura M, Nakajima H, Ishida H, et al. Presence of antimitochondrial autoantibodies in patients with autoimmune hepatitis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2006;21(9):1448-54.
254. Czaja AJ. Cholestatic Phenotypes of Autoimmune Hepatitis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2013.
255. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver D. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009;49(3):1017-44.
256. Czaja AJ. Autoantibody-negative autoimmune hepatitis. *Digestive diseases and sciences*. 2012;57(3):610-24.
257. Tiniakos DG, Brain JG, Bury YA. Role of Histopathology in Autoimmune Hepatitis. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2015;33 Suppl 2:53-64.
258. Efe C, Ozaslan E, Purnak T, Ozseker B, Kav T, Bayraktar Y. Liver biopsy is a superior diagnostic method in some patients showing the typical laboratory features of autoimmune hepatitis. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2012;36(2):185-8.

259. Dienes HP, Popper H, M MA, Baumann W, Thoenes W, Meyer Zum Buschenfelde KH. Histologic features in autoimmune hepatitis. *Zeitschrift fur Gastroenterologie*. 1989;27(6):325-30.
260. Guindi M. Histology of autoimmune hepatitis and its variants. *Clinics in liver disease*. 2010;14(4):577-90.
261. Czaja AJ, Carpenter HA. Autoimmune hepatitis with incidental histologic features of bile duct injury. *Hepatology*. 2001;34(4 Pt 1):659-65.
262. Lee H, Stapp RT, Ormsby AH, Shah VV. The usefulness of IgG and IgM immunostaining of periportal inflammatory cells (plasma cells and lymphocytes) for the distinction of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis and their staining pattern in autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *American journal of clinical pathology*. 2010;133(3):430-7.
263. Daniels JA, Torbenson M, Anders RA, Boitnott JK. Immunostaining of plasma cells in primary biliary cirrhosis. *American journal of clinical pathology*. 2009;131(2):243-9.
264. Dienes HP, Erberich H, Dries V, Schirmacher P, Lohse A. Autoimmune hepatitis and overlap syndromes. *Clinics in liver disease*. 2002;6(2):349-62, vi.
265. de Boer YS, van Nieuwkerk CM, Witte BI, Mulder CJ, Bouma G, Bloemena E. Assessment of the histopathological key features in autoimmune hepatitis. *Histopathology*. 2015;66(3):351-62.
266. Benseler V, Warren A, Vo M, Holz LE, Tay SS, Le Couteur DG, et al. Hepatocyte entry leads to degradation of autoreactive CD8 T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(40):16735-40.
267. Miao Q, Bian Z, Tang R, Zhang H, Wang Q, Huang S, et al. Emperipolesis mediated by CD8 T cells is a characteristic histopathologic feature of autoimmune hepatitis. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2015;48(2-3):226-35.
268. Suzuki A, Brunt EM, Kleiner DE, Miquel R, Smyrk TC, Andrade RJ, et al. The use of liver biopsy evaluation in discrimination of idiopathic autoimmune hepatitis versus drug-induced liver injury. *Hepatology*. 2011;54(3):931-9.
269. Schramm C, Kanzler S, zum Buschenfelde KH, Galle PR, Lohse AW. Autoimmune hepatitis in the elderly. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(5):1587-91.

270. Te HS, Koukoulis G, Ganger DR. Autoimmune hepatitis: a histological variant associated with prominent centrilobular necrosis. *Gut*. 1997;41(2):269-71.
271. Stravitz RT, Lefkowitz JH, Fontana RJ, Gershwin ME, Leung PS, Sterling RK, et al. Autoimmune acute liver failure: proposed clinical and histological criteria. *Hepatology*. 2011;53(2):517-26.
272. Trivedi PJ, Hirschfield GM. Review article: overlap syndromes and autoimmune liver disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;36(6):517-33.
273. Chazouilleres O, Wendum D, Serfaty L, Montebault S, Rosmorduc O, Poupon R. Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome: clinical features and response to therapy. *Hepatology*. 1998;28(2):296-301.
274. Kuiper EM, Zondervan PE, van Buuren HR. Paris criteria are effective in diagnosis of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2010;8(6):530-4.
275. Lewin M, Vilgrain V, Ozenne V, Lemoine M, Wendum D, Paradis V, et al. Prevalence of sclerosing cholangitis in adults with autoimmune hepatitis: a prospective magnetic resonance imaging and histological study. *Hepatology*. 2009;50(2):528-37.
276. Luth S, Kanzler S, Frenzel C, Kasper HU, Dienes HP, Schramm C, et al. Characteristics and long-term prognosis of the autoimmune hepatitis/primary sclerosing cholangitis overlap syndrome. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009;43(1):75-80.
277. Zenouzi R, Lohse AW. Long-term outcome in PSC/AIH "overlap syndrome": does immunosuppression also treat the PSC component? *Journal of hepatology*. 2014;61(5):1189-91.
278. Gregorio GV, Portmann B, Karani J, Harrison P, Donaldson PT, Vergani D, et al. Autoimmune hepatitis/sclerosing cholangitis overlap syndrome in childhood: a 16-year prospective study. *Hepatology*. 2001;33(3):544-53.
279. Stone JH, Zen Y, Deshpande V. IgG4-related disease. *The New England journal of medicine*. 2012;366(6):539-51.
280. Culver EL, Chapman RW. IgG4-related hepatobiliary disease: an overview. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2016;13(10):601-12.

281. Joshi D, Webster GJ. Biliary and hepatic involvement in IgG4-related disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;40(11-12):1251-61.
282. Umemura T, Zen Y, Hamano H, Ichijo T, Kawa S, Nakanuma Y, et al. IgG4 associated autoimmune hepatitis: a differential diagnosis for classical autoimmune hepatitis. *Gut*. 2007;56(10):1471-2.
283. Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, et al. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. *Journal of gastroenterology*. 2011;46 Suppl 1:48-55.
284. Umemura T, Zen Y, Nakanuma Y, Kiyosawa K. Another cause of autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;52(1):389-90.
285. Chung H, Watanabe T, Kudo M, Maenishi O, Wakatsuki Y, Chiba T. Identification and characterization of IgG4-associated autoimmune hepatitis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2010;30(2):222-31.
286. Gatselis NK, Zachou K, Papamichalis P, Koukoulis GK, Gabeta S, Dalekos GN, et al. Comparison of simplified score with the revised original score for the diagnosis of autoimmune hepatitis: a new or a complementary diagnostic score? *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010;42(11):807-12.
287. Lohse AW, Wiegand C. Diagnostic criteria for autoimmune hepatitis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2011;25(6):665-71.
288. Papamichalis PA, Zachou K, Koukoulis GK, Veloni A, Karacosta EG, Kypri L, et al. The revised international autoimmune hepatitis score in chronic liver diseases including autoimmune hepatitis/overlap syndromes and autoimmune hepatitis with concurrent other liver disorders. *Journal of autoimmune diseases*. 2007;4:3.
289. Munoz-Espinosa L, Alarcon G, Mercado-Moreira A, Cordero P, Caballero E, Avalos V, et al. Performance of the international classifications criteria for autoimmune hepatitis diagnosis in Mexican patients. *Autoimmunity*. 2011;44(7):543-8.
290. Czaja AJ, Davis GL, Ludwig J, Baggenstoss AH, Taswell HF. Autoimmune features as determinants of prognosis in steroid-treated chronic active hepatitis of uncertain etiology. *Gastroenterology*. 1983;85(3):713-7.
291. Sanchez-Urdazpal L, Czaja AJ, van Hoek B, Krom RA, Wiesner RH. Prognostic features and role of liver transplantation in severe corticosteroid-

- treated autoimmune chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1992;15(2):215-21.
292. Cook GC, Mulligan R, Sherlock S. Controlled prospective trial of corticosteroid therapy in active chronic hepatitis. *The Quarterly journal of medicine*. 1971;40(158):159-85.
293. Soloway RD, Summerskill WH, Baggenstoss AH, Geall MG, Gitnick GL, Elveback IR, et al. Clinical, biochemical, and histological remission of severe chronic active liver disease: a controlled study of treatments and early prognosis. *Gastroenterology*. 1972;63(5):820-33.
294. Czaja AJ. Features and consequences of untreated type 1 autoimmune hepatitis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2009;29(6):816-23.
295. Heneghan MA, Allan ML, Bornstein JD, Muir AJ, Tendler DA. Utility of thiopurine methyltransferase genotyping and phenotyping, and measurement of azathioprine metabolites in the management of patients with autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2006;45(4):584-91.
296. Langley PG, Underhill J, Tredger JM, Norris S, McFarlane IG. Thiopurine methyltransferase phenotype and genotype in relation to azathioprine therapy in autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2002;37(4):441-7.
297. Lamers MMH, van Oijen MGH, Pronk M, Drenth JPH. Treatment options for autoimmune hepatitis: A systematic review of randomized controlled trials. *Journal of hepatology*. 2010;53(1):191-8.
298. Muratori L, Muratori P, Lanzoni G, Ferri S, Lenzi M. Application of the 2010 American Association for the study of liver diseases criteria of remission to a cohort of Italian patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2010;52(5):1857; author reply -8.
299. Czaja AJ. Difficult treatment decisions in autoimmune hepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2010;16(8):934.
300. Czaja AJ. Current and prospective pharmacotherapy for autoimmune hepatitis. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2014;15(12):1715-36.
301. Aw MM, Dhawan A, Samyn M, Bargiota A, Mieli-Vergani G. Mycophenolate mofetil as rescue treatment for autoimmune liver disease in children: A 5-year follow-up. *Journal of hepatology*. 51(1):156-60.
302. Baven-Pronk AM, Coenraad MJ, van Buuren HR, de Man RA, van Erpecum KJ, Lamers MM, et al. The role of mycophenolate mofetil in the

- management of autoimmune hepatitis and overlap syndromes. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011;34(3):335-43.
303. Weiler-Normann C, Schramm C, Quaas A, Wiegard C, Glaubke C, Pannicke N, et al. Infliximab as a rescue treatment in difficult-to-treat autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2013;58(3):529-34.
304. Burak KW, Swain MG, Santodomingo-Garzon T, Lee SS, Urbanski SJ, Aspinall AI, et al. Rituximab for the treatment of patients with autoimmune hepatitis who are refractory or intolerant to standard therapy. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie*. 2013;27(5):273-80.
305. Fernandes NF, Redeker AG, Vierling JM, Villamil FG, Fong TL. Cyclosporine therapy in patients with steroid resistant autoimmune hepatitis. *The American journal of gastroenterology*. 1999;94(1):241-8.
306. Larsen FS, Vainer B, Eefsen M, Bjerring PN, Adel Hansen B. Low-dose tacrolimus ameliorates liver inflammation and fibrosis in steroid refractory autoimmune hepatitis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2007;13(23):3232-6.
307. Yeoman AD, Longhi MS, Heneghan MA. Review article: the modern management of autoimmune hepatitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2010;31(8):771-87.
308. Manns MP, Woynarowski M, Kreisel W, Lurie Y, Rust C, Zuckerman E, et al. Budesonide induces remission more effectively than prednisone in a controlled trial of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(4):1198-206.
309. Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 1996;335(21):1570-80.
310. Kaplan MM, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 2005;353(12):1261-73.
311. Lindor KD, Gershwin ME, Poupon R, Kaplan M, Bergasa NV, Heathcote EJ, et al. Primary biliary cirrhosis. *Hepatology*. 2009;50(1):291-308.
312. Selmi C, Bowlus CL, Gershwin ME, Coppel RL. Primary biliary cirrhosis. *The Lancet*. 2011;377(9777):1600-9.
313. Ludwig J. The pathology of primary biliary cirrhosis and autoimmune cholangitis. *Bailliere's best practice & research Clinical gastroenterology*. 2000;14(4):601-13.

314. Beuers U, Gershwin ME, Gish RG, Invernizzi P, Jones DE, Lindor K, et al. Changing nomenclature for PBC: from 'cirrhosis' to 'cholangitis'. *Gut*. 2015;64(11):1671-2.
315. Boonstra K, Kunst AE, Stadhouders PH, Tuynman HA, Poen AC, van Nieuwkerk KM, et al. Rising incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis: a large population-based study. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2014;34(6):e31-8.
316. Griffiths L, Dyson JK, Jones DE. The new epidemiology of primary biliary cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 2014;34(3):318-28.
317. Boonstra K, Beuers U, Ponsioen CY. Epidemiology of primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis: a systematic review. *Journal of hepatology*. 2012;56(5):1181-8.
318. Floreani A, Ostuni PA, Ferrara F, Guido M. Primary biliary cirrhosis: when and why does the disease develop? *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2006;38(4):272-5.
319. Giorgini A, Selmi C, Invernizzi P, Podda M, Zuin M, Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis: solving the enigma. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1051:185-93.
320. Selmi C, Zuin M, Gershwin ME. The unfinished business of primary biliary cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2008;49(3):451-60.
321. Bogdanos DP, Baum H, Okamoto M, Montalto P, Sharma UC, Rigopoulou EI, et al. Primary biliary cirrhosis is characterized by IgG3 antibodies cross-reactive with the major mitochondrial autoepitope and its *Lactobacillus* mimic. *Hepatology*. 2005;42(2):458-65.
322. Burroughs AK, Rosenstein IJ, Epstein O, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W, Sherlock S. Bacteriuria and primary biliary cirrhosis. *Gut*. 1984;25(2):133-7.
323. Prince MI, Ducker SJ, James OF. Case-control studies of risk factors for primary biliary cirrhosis in two United Kingdom populations. *Gut*. 2010;59(4):508-12.
324. Rieger R, Gershwin ME. The X and why of xenobiotics in primary biliary cirrhosis. *Journal of autoimmunity*. 2007;28(2-3):76-84.
325. Bogdanos DP, Smyk DS, Rigopoulou EI, Mytilinaiou MG, Heneghan MA, Selmi C, et al. Twin studies in autoimmune disease: genetics, gender and environment. *Journal of autoimmunity*. 2012;38(2-3):J156-69.

326. 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;127(2):485-92.
327. 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 journal of gastroenterology : WJG*. 2012;18(34):4721-8.
328. Juran BD, Lazaridis KN. Genetics and genomics of primary biliary cirrhosis. *Clinics in liver disease*. 2008;12(2):349-65; ix.
329. Qin B, Wang J, Chen J, Liang Y, Yang Z, Zhong R. Association of human leukocyte antigen class II with susceptibility to primary biliary cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2013;8(11):e79580.
330. Gulamhusein AF, Juran BD, Lazaridis KN. Genome-Wide Association Studies in Primary Biliary Cirrhosis. *Seminars in liver disease*. 2015;35(4):392-401.
331. Nguyen DL, Juran BD, Lazaridis KN. Primary biliary cirrhosis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2010;24(5):647-54.
332. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *Journal of hepatology*. 2009;51(2):237-67.
333. 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. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2004;16(4):425-8.
334. Bogdanos DP, Komorowski L. Disease-specific autoantibodies in primary biliary cirrhosis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2011;412(7-8):502-12.
335. 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. *Journal of clinical immunology*. 2007;27(4):378-87.
336. 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;54(4):528-32.
337. 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 international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2007;27(9):1226-31.
338. Granito A, Muratori P, Quarneti C, Pappas G, Cicola R, Muratori L. Antinuclear antibodies as ancillary markers in primary biliary cirrhosis. *Expert review of molecular diagnostics*. 2012;12(1):65-74.
339. Corpechot C, Carrat F, Bahr A, Chrétien Y, Poupon R-E, Poupon R. The effect of ursodeoxycholic acid therapy on the natural course of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2005;128(2):297-303.
340. Rudic JS, Poropat G, Krstic MN, Bjelakovic G, Gluud C. Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2012;12:Cd000551.
341. Nevens F, Andreone P, Mazzella G, Strasser SI, Bowlus C, Invernizzi P, et al. A Placebo-Controlled Trial of Obeticholic Acid in Primary Biliary Cholangitis. *The New England journal of medicine*. 2016;375(7):631-43.
342. Poupon R. Ursodeoxycholic acid and bile-acid mimetics as therapeutic agents for cholestatic liver diseases: An overview of their mechanisms of action. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*. 2012;36:S3-S12.
343. Chapman RW. Primary sclerosing cholangitis. *Medicine*. 2011;39(10):588-91.
344. Karlsen TH, Schrumpf E, Boberg KM. Update on primary sclerosing cholangitis. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010;42(6):390-400.
345. Lazaridis KN, LaRusso NF. Primary Sclerosing Cholangitis. *The New England journal of medicine*. 2016;375(25):2501-2.
346. Card TR, Solaymani-Dodaran M, West J. Incidence and mortality of primary sclerosing cholangitis in the UK: A population-based cohort study. *Journal of hepatology*. 2008;48(6):939-44.
347. Tischendorf JJ, Hecker H, Kruger M, Manns MP, Meier PN. Characterization, outcome, and prognosis in 273 patients with primary sclerosing cholangitis: A single center study. *The American journal of gastroenterology*. 2007;102(1):107-14.

348. Molodecky NA, Kareemi H, Parab R, Barkema HW, Quan H, Myers RP, et al. Incidence of primary sclerosing cholangitis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2011;53(5):1590-9.
349. Tanaka A, Takikawa H. Geoepidemiology of primary sclerosing cholangitis: a critical review. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:35-40.
350. Aron JH, Bowlus CL. The immunobiology of primary sclerosing cholangitis. *Seminars in immunopathology*. 2009;31(3):383-97.
351. Chapman R. Etiopathogenesis of primary sclerosing cholangitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2008;14(21):3350.
352. Hirschfield GM, Karlsen TH, Lindor KD, Adams DH. Primary sclerosing cholangitis. *The Lancet*. 2013;382(9904):1587-99.
353. Bergquist A, Lindberg G, Saarinen S, Broome U. Increased prevalence of primary sclerosing cholangitis among first-degree relatives. *Journal of hepatology*. 2005;42(2):252-6.
354. Karlsen TH, Boberg KM. Update on primary sclerosing cholangitis. *Journal of hepatology*. 2013;59(3):571-82.
355. Karlsen TH, Chung BK. Genetic Risk and the Development of Autoimmune Liver Disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2015;33 Suppl 2:13-24.
356. Chapman R, Fevery J, Kalloo A, Nagorney DM, Boberg KM, Shneider B, et al. Diagnosis and management of primary sclerosing cholangitis. *Hepatology*. 2010;51(2):660-78.
357. Angulo P, Maor-Kendler Y, Lindor KD. Small-duct primary sclerosing cholangitis: a long-term follow-up study. *Hepatology*. 2002;35(6):1494-500.
358. Lindor KD, Kowdley KV, Harrison ME, American College of G. ACG Clinical Guideline: Primary Sclerosing Cholangitis. *The American journal of gastroenterology*. 2015;110(5):646-59; quiz 60.
359. Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome: autoimmune epithelitis. *Clinical immunology and immunopathology*. 1994;72(2):162-5.
360. Fox RI. Sjögren's syndrome. *The Lancet*. 2005;366(9482):321-31.
361. Amador-Patarroyo MJ, Arbelaez JG, Mantilla RD, Rodriguez-Rodriguez A, Cardenas-Roldan J, Pineda-Tamayo R, et al. Sjogren's syndrome at the crossroad of polyautoimmunity. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(3):199-205.
362. Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome: A forty-year scientific journey. *Journal of autoimmunity*. 2014.

363. Morgan WS, Castleman B. A clinicopathologic study of Mikulicz's disease. *The American journal of pathology*. 1953;29(3):471-503.
364. Sjogren H. Some new investigations concerning the Siccasynndrome. *Acta ophthalmologica*. 1961;39:619-22.
365. Risselada AP, Kruize AA, Bijlsma JW. Clinical features distinguishing lymphoma development in primary Sjogren's Syndrome--a retrospective cohort study. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2013;43(2):171-7.
366. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjogren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis and rheumatism*. 1993;36(3):340-7.
367. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002;61(6):554-8.
368. Αλαμάνος Γ, Βούλγαρη Π, Δρόσος Α. Επιδημιολογία του πρωτογενούς Συνδρόμου Sjögren (Ανασκόπηση). *Ιατρικά Χρονικά Βορειοδυτικής Ελλάδος* 2011;7(1).
369. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. The geoepidemiology of Sjogren's syndrome. *Autoimmunity reviews*. 2010;9(5):A305-10.
370. Pillemer SR, Matteson EL, Jacobsson LTH, Martens PB, Melton Iii LJ, O'Fallon WM, et al. Incidence of Physician-Diagnosed Primary Sjögren Syndrome in Residents of Olmsted County, Minnesota. *Mayo Clinic Proceedings*. 2001;76(6):593-9.
371. Plesivcnik Novljan M, Rozman B, Hocevar A, Grmek M, Kveder T, Tomsic M. Incidence of primary Sjogren's syndrome in Slovenia. *Annals of the rheumatic diseases*. 2004;63(7):874-6.
372. Alamanos Y, Tsifetaki N, Voulgari PV, Venetsanopoulou AI, Siozos C, Drosos AA. Epidemiology of primary Sjogren's syndrome in north-west Greece, 1982-2003. *Rheumatology*. 2006;45(2):187-91.
373. Drosos AA, Tsiakou EK, Tsifetaki N, Politi EN, Siamopoulou-Mavridou A. Subgroups of primary Sjogren's syndrome. Sjogren's syndrome in male and paediatric Greek patients. *Annals of the rheumatic diseases*. 1997;56(5):333-5.

374. Cimaz R, Casadei A, Rose C, Bartunkova J, Sediva A, Falcini F, et al. Primary Sjogren syndrome in the paediatric age: a multicentre survey. *European journal of pediatrics*. 2003;162(10):661-5.
375. Miyasaka N. [Epidemiology and pathogenesis of Sjogren's syndrome]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine*. 1995;53(10):2367-70.
376. Thomas E, Hay EM, Hajeer A, Silman AJ. Sjogren's syndrome: a community-based study of prevalence and impact. *British journal of rheumatology*. 1998;37(10):1069-76.
377. Bowman SJ, Ibrahim GH, Holmes G, Hamburger J, Ainsworth JR. Estimating the prevalence among Caucasian women of primary Sjogren's syndrome in two general practices in Birmingham, UK. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2004;33(1):39-43.
378. Dafni UG, Tzioufas AG, Staikos P, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Prevalence of Sjogren's syndrome in a closed rural community. *Annals of the rheumatic diseases*. 1997;56(9):521-5.
379. Tzioufas AG, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Pathogenesis of Sjogren's syndrome: what we know and what we should learn. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):4-8.
380. Nikolov NP, Illei GG. Pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Current opinion in rheumatology*. 2009;21(5):465-70.
381. Brandt JE, Priori R, Valesini G, Fairweather D. Sex differences in Sjogren's syndrome: a comprehensive review of immune mechanisms. *Biology of sex differences*. 2015;6:19.
382. Anaya JM, Tobon GJ, Vega P, Castiblanco J. Autoimmune disease aggregation in families with primary Sjogren's syndrome. *The Journal of rheumatology*. 2006;33(11):2227-34.
383. Fye KH, Terasaki PI, Moutsopoulos H, Daniels TE, Michalski JP, Talal N. Association of Sjogren's syndrome with HLA-B8. *Arthritis and rheumatism*. 1976;19(5):883-6.
384. Foster H, Stephenson A, Walker D, Cavanagh G, Kelly C, Griffiths I. Linkage studies of HLA and primary Sjogren's syndrome in multicase families. *Arthritis and rheumatism*. 1993;36(4):473-84.
385. Fye KH, Terasaki PI, Michalski JP, Daniels TE, Opelz G, Talal N. Relationship of HLA-Dw3 and HLA-B8 to Sjogren's syndrome. *Arthritis and rheumatism*. 1978;21(3):337-42.

386. Cruz-Tapias P, Rojas-Villarraga A, Maier-Moore S, Anaya JM. HLA and Sjogren's syndrome susceptibility. A meta-analysis of worldwide studies. *Autoimmunity reviews*. 2012;11(4):281-7.
387. Ice JA, Li H, Adrianto I, Lin PC, Kelly JA, Montgomery CG, et al. Genetics of Sjogren's syndrome in the genome-wide association era. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):57-63.
388. Appel S, Le Hellard S, Bruland O, Brun JG, Omdal R, Kristjansdottir G, et al. Potential association of muscarinic receptor 3 gene variants with primary Sjögren's syndrome. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(7):1327-9.
389. Nordmark G, Kristjansdottir G, Theander E, Appel S, Eriksson P, Vasaitis L, et al. Association of EBF1, FAM167A(C8orf13)-BLK and TNFSF4 gene variants with primary Sjogren's syndrome. *Genes and immunity*. 2011;12(2):100-9.
390. Sherman AC, Sherman KE. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection: navigating CHASM. *Current HIV/AIDS reports*. 2015;12(3):353-61.
391. Sipsas NV, Gamaletsou MN, Moutsopoulos HM. Is Sjogren's syndrome a retroviral disease? *Arthritis research & therapy*. 2011;13(2):212.
392. Haddad J, Deny P, Munz-Gotheil C, Ambrosini JC, Trinchet JC, Pateron D, et al. Lymphocytic sialadenitis of Sjogren's syndrome associated with chronic hepatitis C virus liver disease. *Lancet (London, England)*. 1992;339(8789):321-3.
393. Triantafyllopoulou A, Moutsopoulos HM. Autoimmunity and coxsackievirus infection in primary Sjogren's syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1050:389-96.
394. Vitali C. Immunopathologic differences of Sjogren's syndrome versus sicca syndrome in HCV and HIV infection. *Arthritis research & therapy*. 2011;13(4):233.
395. Mavragani CP, Fragoulis GE, Moutsopoulos HM. Endocrine alterations in primary Sjogren's syndrome: an overview. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(4):354-8.
396. Ishimaru N, Arakaki R, Watanabe M, Kobayashi M, Miyazaki K, Hayashi Y. Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome in estrogen-deficient mice of healthy background. *The American journal of pathology*. 2003;163(4):1481-90.
397. Ishimaru N, Arakaki R, Yoshida S, Yamada A, Noji S, Hayashi Y. Expression of the retinoblastoma protein RbAp48 in exocrine glands leads

- to Sjogren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(12):2915-27.
398. Manoussakis MN, Tsinti M, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. The salivary gland epithelial cells of patients with primary Sjogren's syndrome manifest significantly reduced responsiveness to 17beta-estradiol. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):64-8.
399. Konttinen YT, Fuellen G, Bing Y, Porola P, Stegaev V, Trokovic N, et al. Sex steroids in Sjogren's syndrome. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):49-56.
400. Shim GJ, Warner M, Kim HJ, Andersson S, Liu L, Ekman J, et al. Aromatase-deficient mice spontaneously develop a lymphoproliferative autoimmune disease resembling Sjogren's syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(34):12628-33.
401. Singh N, Cohen PL. The T cell in Sjogren's syndrome: force majeure, not spectateur. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(3):229-33.
402. Cornec D, Devauchelle-Pensec V, Tobon GJ, Pers JO, Jousse-Joulin S, Saraux A. B cells in Sjogren's syndrome: from pathophysiology to diagnosis and treatment. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(3):161-7.
403. Youinou P, Saraux A, Pers JO. B-lymphocytes govern the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(10):2071-7.
404. Mitsias DI, Tzioufas AG, Veiopoulou C, Zintzaras E, Tassios IK, Kogopoulou O, et al. The Th1/Th2 cytokine balance changes with the progress of the immunopathological lesion of Sjogren's syndrome. *Clinical and experimental immunology*. 2002;128(3):562-8.
405. Manoussakis MN, Kapsogeorgou EK. The role of epithelial cells in the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2007;32(3):225-30.
406. Manoussakis MN, Spachidou MP, Maratheftis CI. Salivary epithelial cells from Sjogren's syndrome patients are highly sensitive to anoikis induced by TLR-3 ligation. *Journal of autoimmunity*. 2010;35(3):212-8.
407. Manoussakis MN, Boiu S, Korkolopoulou P, Kapsogeorgou EK, Kavantzias N, Ziakas P, et al. Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjogren's syndrome: correlation with certain features

- of immune hyperactivity and factors associated with high risk of lymphoma development. *Arthritis and rheumatism*. 2007;56(12):3977-88.
408. Manoussakis MN, Fragoulis GE, Vakrakou AG, Moutsopoulos HM. Impaired clearance of early apoptotic cells mediated by inhibitory IgG antibodies in patients with primary Sjogren's syndrome. *PLoS one*. 2014;9(11):e112100.
409. Peri Y, Agmon-Levin N, Theodor E, Shoenfeld Y. Sjogren's syndrome, the old and the new. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2012;26(1):105-17.
410. Manoussakis MN, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome: autoimmune epithelitis. *Bailliere's best practice & research Clinical rheumatology*. 2000;14(1):73-95.
411. Bernacchi E, Amato L, Parodi A, Cottoni F, Rubegni P, De Pita O, et al. Sjogren's syndrome: a retrospective review of the cutaneous features of 93 patients by the Italian Group of Immunodermatology. *Clinical and experimental rheumatology*. 2004;22(1):55-62.
412. Ramos-Casals M, Anaya JM, Garcia-Carrasco M, Rosas J, Bove A, Claver G, et al. Cutaneous vasculitis in primary Sjogren syndrome: classification and clinical significance of 52 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2004;83(2):96-106.
413. Haga HJ, Peen E. A study of the arthritis pattern in primary Sjogren's syndrome. *Clinical and experimental rheumatology*. 2007;25(1):88-91.
414. Vitali C, Del Papa N. Pain in primary Sjogren's syndrome. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2015;29(1):63-70.
415. Lindvall B, Bengtsson A, Ernerudh J, Eriksson P. Subclinical myositis is common in primary Sjogren's syndrome and is not related to muscle pain. *The Journal of rheumatology*. 2002;29(4):717-25.
416. Pavlakis PP, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Mamali I, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG, et al. Peripheral neuropathies in Sjogren's syndrome: a critical update on clinical features and pathogenetic mechanisms. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):27-33.
417. Hoitsma E, Reulen JP, de Baets M, Drent M, Spaans F, Faber CG. Small fiber neuropathy: a common and important clinical disorder. *Journal of the neurological sciences*. 2004;227(1):119-30.
418. Yan SM, Zhao Y, Zeng XF, Zhang FC, Dong Y. [Lung involvement of primary Sjogren's syndrome]. *Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua*

- jiehe he huxi zazhi = Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases. 2008;31(7):513-6.
419. Parambil JG, Myers JL, Lindell RM, Matteson EL, Ryu JH. Interstitial lung disease in primary Sjogren syndrome. *Chest*. 2006;130(5):1489-95.
420. Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Autoimmune epitheliitis: Sjogren's syndrome. *Clinical and experimental rheumatology*. 1994;12 Suppl 11:S9-11.
421. Fulop M, Mackay M. Renal tubular acidosis, Sjogren syndrome, and bone disease. *Archives of internal medicine*. 2004;164(8):905-9.
422. Pertovaara M, Korpela M, Pasternack A. Factors predictive of renal involvement in patients with primary Sjogren's syndrome. *Clinical nephrology*. 2001;56(1):10-8.
423. Collin P, Karvonen AL, Korpela M, Laippala P, Helin H. Gastritis classified in accordance with the Sydney system in patients with primary Sjogren's syndrome. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1997;32(2):108-11.
424. Szodoray P, Barta Z, Lakos G, Szakall S, Zeher M. Coeliac disease in Sjogren's syndrome--a study of 111 Hungarian patients. *Rheumatology international*. 2004;24(5):278-82.
425. Routsias JG, Goules JD, Charalampakis G, Tzima S, Papageorgiou A, Voulgarelis M. Malignant lymphoma in primary Sjogren's syndrome: an update on the pathogenesis and treatment. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2013;43(2):178-86.
426. Papageorgiou A, Voulgarelis M, Tzioufas AG. Clinical picture, outcome and predictive factors of lymphoma in Sjogren syndrome. *Autoimmunity reviews*. 2015.
427. Ioannidis JP, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long-term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjogren's syndrome. *Arthritis and rheumatism*. 2002;46(3):741-7.
428. Bournia VK, Vlachoyiannopoulos PG. Subgroups of Sjogren syndrome patients according to serological profiles. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):15-26.
429. Fauchais AL, Martel C, Gondran G, Lambert M, Launay D, Jauberteau MO, et al. Immunological profile in primary Sjogren syndrome: clinical significance, prognosis and long-term evolution to other auto-immune disease. *Autoimmunity reviews*. 2010;9(9):595-9.

430. Locht H, Pelck R, Manthorpe R. Clinical manifestations correlated to the prevalence of autoantibodies in a large (n=321) cohort of patients with primary Sjogren's syndrome: a comparison of patients initially diagnosed according to the Copenhagen classification criteria with the American-European consensus criteria. *Autoimmunity reviews*. 2005;4(5):276-81.
431. Kyriakidis NC, Kapsogeorgou EK, Tzioufas AG. A comprehensive review of autoantibodies in primary Sjogren's syndrome: clinical phenotypes and regulatory mechanisms. *Journal of autoimmunity*. 2014;51:67-74.
432. Galvez J, Saiz E, Lopez P, Pina MF, Carrillo A, Nieto A, et al. Diagnostic evaluation and classification criteria in Sjogren's Syndrome. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 2009;76(1):44-9.
433. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, Baer AN, Challacombe S, Lanfranchi H, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: A data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort. *Arthritis Care & Research*. 2012;64(4):475-87.
434. Thanou-Stavraki A, James JA. Primary Sjogren's syndrome: current and prospective therapies. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2008;37(5):273-92.
435. Tobon GJ, Pers JO, Youinou P, Saraux A. B cell-targeted therapies in Sjogren's syndrome. *Autoimmunity reviews*. 2010;9(4):224-8.
436. Tzioufas AG, Vlachoyiannopoulos PG. Sjogren's syndrome: an update on clinical, basic and diagnostic therapeutic aspects. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):1-3.
437. Stechemesser E, Strienz J, Berg PA. Serological definition of new subgroup of patients with autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet (London, England)*. 1987;1(8534):683.
438. Stechemesser E, Klein R, Berg PA. Characterization and clinical relevance of liver-pancreas antibodies in autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 1993;18(1):1-9.
439. Costa M, Rodriguez-Sanchez JL, Czaja AJ, Gelpi C. Isolation and characterization of cDNA encoding the antigenic protein of the human tRNP(Ser)Sec complex recognized by autoantibodies from patients with type-1 autoimmune hepatitis. *Clinical and experimental immunology*. 2000;121(2):364-74.

440. Wachter B, Kyriatsoulis A, Lohse AW, Gerken G, Meyer zum Buschenfelde KH, Manns M. Characterization of liver cyokeratin as a major target antigen of anti-SLA antibodies. *Journal of hepatology*. 1990;11(2):232-9.
441. Volkmann M, Martin L, Baurle A, Heid H, Strassburg CP, Trautwein C, et al. Soluble liver antigen: isolation of a 35-kd recombinant protein (SLA-p35) specifically recognizing sera from patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology*. 2001;33(3):591-6.
442. Palioura S, Sherrer RL, Steitz TA, Soll D, Simonovic M. The human SepSecS-tRNA^{Sec} complex reveals the mechanism of selenocysteine formation. *Science*. 2009;325(5938):321-5.
443. Palioura S, Herkel J, Simonovic M, Lohse AW, Soll D. Human SepSecS or SLA/LP: selenocysteine formation and autoimmune hepatitis. *Biological chemistry*. 2010;391(7):771-6.
444. Herkel J, Heidrich B, Nieraad N, Wies I, Rother M, Lohse AW. Fine specificity of autoantibodies to soluble liver antigen and liver/pancreas. *Hepatology*. 2002;35(2):403-8.
445. 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;35(3):658-64.
446. Mix H, Weiler-Normann C, Thimme R, Ahlenstiel G, Shin EC, Herkel J, et al. Identification of CD4 T-cell epitopes in soluble liver antigen/liver pancreas autoantigen in autoimmune hepatitis. *Gastroenterology*. 2008;135(6):2107-18.
447. Miyakawa H. Low frequency of anti-SLA/LP autoantibody in Japanese adult patients with autoimmune liver diseases: analysis with recombinant antigen assay. *Journal of autoimmunity*. 2003;21(1):77-82.
448. Kanzler S, Weidemann C, Gerken G, Lohr HF, Galle PR, Meyer zum Buschenfelde KH, et al. Clinical significance of autoantibodies to soluble liver antigen in autoimmune hepatitis. *Journal of hepatology*. 1999;31(4):635-40.
449. Ballot E, Homberg JC, Johanet C. Antibodies to soluble liver antigen: an additional marker in type 1 auto-immune hepatitis. *Journal of hepatology*. 2000;33(2):208-15.
450. Anderson JR, Gray KG, Beck JS, Buchanan WW, Mc EA. Precipitating autoantibodies in the connective tissue diseases. *Annals of the rheumatic diseases*. 1962;21:360-9.

451. Clark G, Reichlin M, Tomasi TB, Jr. Characterization of a soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythmatosus. *Journal of immunology*. 1969;102(1):117-22.
452. Alspaugh MA, Tan EM. Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 1975;55(5):1067-73.
453. Versteegen G, Duyck MC, Meeus P, Ravelingien I, De Vlam K. Detection and identification of antinuclear antibodies (ANA) in a large community hospital. *Acta clinica Belgica*. 2009;64(4):317-23.
454. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmunity reviews*. 2009;8(7):632-7.
455. Oke V, Wahren-Herlenius M. The immunobiology of Ro52 (TRIM21) in autoimmunity: a critical review. *Journal of autoimmunity*. 2012;39(1-2):77-82.
456. Ozato K, Shin DM, Chang TH, Morse HC, 3rd. TRIM family proteins and their emerging roles in innate immunity. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(11):849-60.
457. Rajsbaum R, Garcia-Sastre A, Versteeg GA. TRIMmunity: the roles of the TRIM E3-ubiquitin ligase family in innate antiviral immunity. *Journal of molecular biology*. 2014;426(6):1265-84.
458. Hennig J, Bresell A, Sandberg M, Hennig KD, Wahren-Herlenius M, Persson B, et al. The fellowship of the RING: the RING-B-box linker region interacts with the RING in TRIM21/Ro52, contains a native autoantigenic epitope in Sjogren syndrome, and is an integral and conserved region in TRIM proteins. *Journal of molecular biology*. 2008;377(2):431-49.
459. Reymond A, Meroni G, Fantozzi A, Merla G, Cairo S, Luzi L, et al. The tripartite motif family identifies cell compartments. *The EMBO journal*. 2001;20(9):2140-51.
460. Wada K, Kamitani T. Autoantigen Ro52 is an E3 ubiquitin ligase. *Biochemical and biophysical research communications*. 2006;339(1):415-21.
461. Liu YC. Ubiquitin ligases and the immune response. *Annual review of immunology*. 2004;22:81-127.
462. Kong HJ, Anderson DE, Lee CH, Jang MK, Tamura T, Tailor P, et al. Cutting Edge: Autoantigen Ro52 Is an Interferon Inducible E3 Ligase That Ubiquitinates IRF-8 and Enhances Cytokine Expression in Macrophages. *The Journal of Immunology*. 2007;179(1):26-30.

463. Yang K, Shi HX, Liu XY, Shan YF, Wei B, Chen S, et al. TRIM21 is essential to sustain IFN regulatory factor 3 activation during antiviral response. *Journal of immunology*. 2009;182(6):3782-92.
464. McNab FW, Rajsbaum R, Stoye JP, O'Garra A. Tripartite-motif proteins and innate immune regulation. *Current opinion in immunology*. 2011;23(1):46-56.
465. Higgs R, Ni Gabhann J, Ben Larbi N, Breen EP, Fitzgerald KA, Jefferies CA. The E3 ubiquitin ligase Ro52 negatively regulates IFN-beta production post-pathogen recognition by polyubiquitin-mediated degradation of IRF3. *Journal of immunology*. 2008;181(3):1780-6.
466. Young JA, Sermwittayawong D, Kim HJ, Nandu S, An N, Erdjument-Bromage H, et al. Fas-associated death domain (FADD) and the E3 ubiquitin-protein ligase TRIM21 interact to negatively regulate virus-induced interferon production. *The Journal of biological chemistry*. 2011;286(8):6521-31.
467. Bolland S, Garcia-Sastre A. Vicious circle: systemic autoreactivity in Ro52/TRIM21-deficient mice. *The Journal of experimental medicine*. 2009;206(8):1647-51.
468. Ishii T, Ohnuma K, Murakami A, Takasawa N, Yamochi T, Iwata S, et al. SS-A/Ro52, an autoantigen involved in CD28-mediated IL-2 production. *Journal of immunology*. 2003;170(7):3653-61.
469. Crispin JC, Liossis SN, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kyttaris VC, Juang YT, et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends in molecular medicine*. 2010;16(2):47-57.
470. Espinosa A, Zhou W, Ek M, Hedlund M, Brauner S, Popovic K, et al. The Sjogren's syndrome-associated autoantigen Ro52 is an E3 ligase that regulates proliferation and cell death. *Journal of immunology*. 2006;176(10):6277-85.
471. Routsias JG, Tzioufas AG. Autoimmune response and target autoantigens in Sjogren's syndrome. *European journal of clinical investigation*. 2010;40(11):1026-36.
472. Keeble AH, Khan Z, Forster A, James LC. TRIM21 is an IgG receptor that is structurally, thermodynamically, and kinetically conserved. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(16):6045-50.
473. Rhodes DA, Trowsdale J. TRIM21 is a trimeric protein that binds IgG Fc via the B30.2 domain. *Molecular immunology*. 2007;44(9):2406-14.

474. Yang Y, Eversole T, Lee DJ, Sontheimer RD, Capra JD. Protein-protein interactions between native Ro52 and immunoglobulin G heavy chain. *Scandinavian journal of immunology*. 1999;49(6):620-8.
475. James LC, Keeble AH, Khan Z, Rhodes DA, Trowsdale J. Structural basis for PRYSPRY-mediated tripartite motif (TRIM) protein function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(15):6200-5.
476. Yoshimi R, Ishigatsubo Y, Ozato K. Autoantigen TRIM21/Ro52 as a Possible Target for Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *International journal of rheumatology*. 2012;2012:718237.
477. Wahren-Herlenius M, Muller S, Isenberg D. Analysis of B-cell epitopes of the Ro/SS-A autoantigen. *Immunology today*. 1999;20(5):234-40.
478. Scofield RH, Farris AD, Horsfall AC, Harley JB. Fine specificity of the autoimmune response to the Ro/SSA and La/SSB ribonucleoproteins. *Arthritis and rheumatism*. 1999;42(2):199-209.
479. Bozic B, Pruijn GJ, Rozman B, van Venrooij WJ. Sera from patients with rheumatic diseases recognize different epitope regions on the 52-kD Ro/SS-A protein. *Clinical and experimental immunology*. 1993;94(2):227-35.
480. Blange I, Ringertz NR, Pettersson I. Identification of antigenic regions of the human 52kD Ro/SS-A protein recognized by patient sera. *Journal of autoimmunity*. 1994;7(2):263-74.
481. Buyon JP, Slade SG, Reveille JD, Hamel JC, Chan EK. Autoantibody responses to the "native" 52-kDa SS-A/Ro protein in neonatal lupus syndromes, systemic lupus erythematosus, and Sjogren's syndrome. *Journal of immunology*. 1994;152(7):3675-84.
482. Frank MB, Itoh K, McCubbin V. Epitope mapping of the 52-kD Ro/SSA autoantigen. *Clinical and experimental immunology*. 1994;95(3):390-6.
483. Ricchiuti V, Briand JP, Meyer O, Isenberg DA, Pruijn G, Muller S. Epitope mapping with synthetic peptides of 52-kD SSA/Ro protein reveals heterogeneous antibody profiles in human autoimmune sera. *Clinical and experimental immunology*. 1994;95(3):397-407.
484. McCauliffe DP, Yin H, Wang LX, Lucas L. Autoimmune sera react with multiple epitopes on recombinant 52 and 60 kDa Ro(SSA) proteins. *The Journal of rheumatology*. 1994;21(6):1073-80.

485. Kato T, Sasakawa H, Suzuki S, Shirako M, Tashiro F, Nishioka K, et al. Autoepitopes of the 52-kd SS-A/Ro molecule. *Arthritis and rheumatism*. 1995;38(7):990-8.
486. Dorner T, Feist E, Wagenmann A, Kato T, Yamamoto K, Nishioka K, et al. Anti-52 kDa Ro(SSA) autoantibodies in different autoimmune diseases preferentially recognize epitopes on the central region of the antigen. *The Journal of rheumatology*. 1996;23(3):462-8.
487. Dorner T, Feist E, Held C, Conrad K, Burmester GR, Hiepe F. Differential recognition of the 52-kd Ro(SS-A) antigen by sera from patients with primary biliary cirrhosis and primary Sjogren's syndrome. *Hepatology*. 1996;24(6):1404-7.
488. Strandberg L, Winqvist O, Sonesson SE, Mohseni S, Salomonsson S, Bremme K, et al. Antibodies to amino acid 200-239 (p200) of Ro52 as serological markers for the risk of developing congenital heart block. *Clinical and experimental immunology*. 2008;154(1):30-7.
489. Salomonsson S, Ottosson L, Safsten P, Hof D, Brauner H, Sunnerhagen M, et al. Cloning and characterization of two human Ro52-specific monoclonal autoantibodies directed towards a domain associated with congenital heart block. *Journal of autoimmunity*. 2004;22(2):167-77.
490. Pourmand N, Pettersson I. The Zn²⁺ binding domain of the human Ro 52 kDa protein is a target for conformation-dependent autoantibodies. *Journal of autoimmunity*. 1998;11(1):11-7.
491. Liaskos C, Bogdanos DP, Rigopoulou EI, Norman GL, Shums Z, Al-Chalabi T, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Czaja AJ, Vergani D, Dalekos GN. Antibody responses specific for soluble liver antigen co-occur with Ro-52 autoantibodies in patients with autoimmune hepatitis. *J Hepatol*. 2007;46(Suppl 1):S250.
492. Eyraud V, Chazouilleres O, Ballot E, Corpechot C, Poupon R, Johanet C. Significance of antibodies to soluble liver antigen/liver pancreas: a large French study. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2009;29(6):857-64.
493. Parveen S, Morshed SA, Arima K, Nishioka M, Czaja AJ, Chow WC, et al. Antibodies to Ro/La, Cenp-B, and snRNPs antigens in autoimmune hepatitis of North America versus Asia: patterns of immunofluorescence, ELISA reactivities, and HLA association. *Digestive diseases and sciences*. 1998;43(6):1322-31.

494. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-5.
495. Baeres M, Herkel J, Czaja AJ, Wies I, Kanzler S, Cancado ELR, et al. Establishment of standardised SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut*. 2002;51(2):259-64.
496. Floreani A, Liberal R, Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune hepatitis: Contrasts and comparisons in children and adults - A comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 2013;46:7-16.
497. Ricchiuti V, Isenberg D, Muller S. HLA association of anti-Ro60 and anti-Ro52 antibodies in Sjogren's syndrome. *Journal of autoimmunity*. 1994;7(5):611-21.
498. Granito A, Muratori P, Muratori L, Pappas G, Cassani F, Worthington J, et al. Antibodies to SS-A/Ro-52kD and centromere in autoimmune liver disease: a clue to diagnosis and prognosis of primary biliary cirrhosis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2007;26(6):831-8.
499. Kvarnstrom M, Dzikaite-Ottosson V, Ottosson L, Gustafsson JT, Gunnarsson I, Svenungsson E, et al. Autoantibodies to the functionally active RING-domain of Ro52/SSA are associated with disease activity in patients with lupus. *Lupus*. 2013;22(5):477-85.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ) είναι μια αγνώστου αιτιολογίας χρόνια ηπατική νόσος που προσβάλλει συνηθέστερα γυναίκες. Χαρακτηρίζεται από υπεργαμμασφαιριναιμία, κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα, παρουσία HLA DR3 ή DR4, περιπυλαία ηπατίτιδα στη βιοψία ήπατος και ευνοϊκή ανταπόκριση στην ανοσοκατασταλτική αγωγή.

Τα αυτοαντισώματα έναντι διαλυτού αντιγόνου ήπατος/αντιγόνου ήπατος παγκρέατος (anti-SLA/LP) είναι εξαιρετικά ειδικά για τη νόσο. Διαπιστώνονται στο 10-30% των ασθενών και μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις αποτελούν το μοναδικό αυτοαντισώμα που ανευρίσκεται στον ορό των ασθενών. Ο μοριακός τους στόχος (SepSecS) έχει ταυτοποιηθεί και οι κυρίαρχοι Β- και Τ-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι έχουν περιγραφεί κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο του αυτοαντιγόνου. Η παρουσία τους έχει συσχετιστεί με μια ομάδα ασθενών με σοβαρή μορφή ΑΗ και χειρότερη πρόγνωση. Στην πλειοψηφία των ασθενών με anti-SLA/LP έχει διαπιστωθεί επίσης η παρουσία anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων, χωρίς να έχει καθοριστεί η κλινική τους σημασία και συνεπώς αν τα τελευταία επηρεάζουν την πορεία της νόσου.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της κλινικής σημασίας των anti-SLA/LP, των anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων και της συνύπαρξής τους σε μια μεγάλη σειρά ασθενών με ΑΗ. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε χαρτογράφηση των κυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων του Ro52 σε ασθενείς με ΑΗ αναλόγως της αντιδραστικότητάς τους έναντι του anti-SLA/LP.

Στη μελέτη συμπεριλήφθησαν 129 διαδοχικοί ασθενείς με ΑΗ, οι οποίοι εξετάστηκαν για την παρουσία anti-SLA/LP και anti-Ro52 με τη χρήση ELISA

και/ή ανοσοαποτύπωσης. Η χαρτογράφηση των επιτόπων του αντιγόνου Ro52 πραγματοποιήθηκε σε 26 ασθενείς με ΑΗ με ELISA. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 78 αλληλεπικαλυπτόμενα 18-μερή συνθετικά πεπτίδια που κάλυπταν όλο το μήκος του αυτοαντιγόνου. Ομάδα ελέγχου για τη χαρτογράφηση των επιτόπων αποτέλεσαν 12 ασθενείς με σύνδρομο Sjögren και 25 υγιείς μάρτυρες.

Από τον έλεγχο της παρουσίας αυτοαντισωμάτων διαπιστώθηκε ότι 23 από τους 129 ασθενείς με ΑΗ (18%, 95% CI: 11-25%) ήταν θετικοί για την παρουσία anti-SLA/LP, ενώ οι 49 (38%, 95% CI: 30-47%) ήταν θετικοί για anti-Ro52. Στους 19 από τους 23 anti-SLA/LP θετικούς ασθενείς (82.6%, 95% CI: 60-94%) συνυπήρχαν anti-Ro52 αυτοαντισώματα. Η παρουσία των anti-SLA/LP, των anti-Ro52 ή της συνύπαρξής τους δεν σχετιζόταν με κλινικές, βιοχημικές ή ιστολογικές παραμέτρους. Επιπλέον, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στην ανταπόκριση στη θεραπεία, τη δυνατότητα αποδέσμευσης από την ανοσοκαταστολή, την πιθανή υποτροπή και τη συνολική πρόγνωση στους ασθενείς αναλόγως της παρουσίας αυτοαντισωμάτων.

Η χαρτογράφηση του αυτοαντιγόνου Ro52 ανέδειξε ως πιθανούς επιτόπους τις αλληλουχίες αμινοξέων 1-18, 277-294, 343-360 και 421-450, ανεξάρτητα από την παρουσία anti-SLA/LP. Τρία διαδοχικά πεπτίδια κοντά στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης (αλληλουχία αμινοξέων 421-450) αναγνωρίστηκαν μόνο από ασθενείς με ΑΗ.

Συμπερασματικά, η παρουσία anti-SLA/LP, anti-Ro52 αυτοαντισωμάτων ή του συνδυασμού τους δε φαίνεται να διακρίνει μια ομάδα ασθενών με διαφορετικά κλινικά χαρακτηριστικά, ανταπόκριση στη θεραπεία ή τελική έκβαση. Οι ασθενείς με ΑΗ αναγνωρίζουν επιτόπους του αυτοαντιγόνου Ro52

ανεξάρτητα από την παρουσία των anti-SLA/LP. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διευκρινιστεί εάν οι νέοι επίτοποι του anti-Ro52 που διαπιστώθηκαν αποκλειστικά σε ασθενείς με ΑΗ έχουν κλινική ή παθογενετική σημασία.

SUMMARY

Autoimmune hepatitis (AIH) is a chronic liver disease of unknown aetiology, which predominates among women. It is characterized by hypergammaglobulinaemia, circulating autoantibodies (Abs), association with HLA DR3 or DR4, interface hepatitis and a favourable response to immunosuppression.

Autoantibodies (Abs) to soluble liver antigen/liver pancreas (anti-SLA/LP) are considered highly specific markers for AIH. They are identified in 10-30% of patients being particularly useful for AIH diagnosis in patients who are negative for conventional Abs. The molecular target of anti-SLA/LP has been identified (SepSecS) with dominant B-cell epitopes and T-cell epitopes described in the carboxyterminal sequence of the autoantigen. Anti-SLA/LP Abs are considered markers of worse prognosis and outcome in patients with AIH, although this assumption has recently been attributed to their frequent co-expression with Abs against Ro52 (anti-Ro52).

The aim of the present study was to assess the clinical significance of anti-SLA/LP Abs alone or in combination with anti-Ro52 in a large cohort of AIH patients. Furthermore, we aimed to determine the immunodominant Ro52 B- cell epitopes in AIH patients with respect to the anti-SLA/LP status.

129 consecutive AIH patients were included in the study. Presence of anti-SLA/LP and anti-Ro52 Abs was determined by ELISA and/or immunoblot. Epitope mapping was performed in 26 AIH patients with the use of 78 overlapping synthetic 18-mer peptides in ELISA. 12 patients with Sjögren syndrome and 25 healthy individuals served as controls for epitope mapping.

Testing for autoantibodies revealed that 23 of 129 patients with AIH (18%, 95% CI: 11-25%) were positive for anti-SLA/LP whereas 49 were positive for anti-Ro52 Abs (38%, 95% CI: 30-47%). Of note, 19 of the 23 patients with reactivity against anti-SLA/LP, co-expressed anti-Ro52 Abs (82.6%, 95% CI: 60-94%). Presence of per se anti-SLA/LP or anti-Ro52 Abs or dual reactivity were not associated with clinical, biochemical or histological characteristics. Response to treatment, weaning of immunosuppression, relapse and overall outcome were not associated with the presence of the abovementioned Abs either alone or in combination.

Ro52 epitope mapping showed that peptides covering aminoacid sequences (aa) 1-18, 277-294, 343-360 και 421-450 were largely identified by patients with AIH regardless of anti-SLA/LP presence. Moreover, three consecutive peptides close to the carboxyterminal end of Ro52 (aa 421-450) were identified exclusively from patients with AIH.

In conclusion, neither anti-SLA/LP nor anti-Ro52 Abs or their combination could specify a distinct group of AIH patients in terms of clinical characteristics, treatment response and outcome. Ro52 epitope mapping revealed several immunodominant epitopes in patients with AIH irrespectively of their anti-SLA/LP status. Further studies are needed to clarify whether the newly discovered immunodominant epitopes of Ro52 antigen which were associated specifically with AIH are of any clinical or pathogenetic potential in AIH.