



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η διαγνωστική και κλινική σημασία των
αυτοαντισωμάτων έναντι του C1q σε
ρευματολογικές και νευρολογικές παθήσεις

υπό:

Σταματίνα Ρεντούλη

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Βιοχημικού- Βιοτεχνολόγου

Λάρισα, Ιούνιος 2016

© 2016 Ρεντούλη Σταματίνα

Η έγκριση της διπλωματικής εργασίας από το Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

| Επιβλέποντες Καθηγητές | |
|------------------------|---|
| Πρώτος Εξεταστής | Δρ. Δημήτριος Μπόγδανος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |
| Δεύτερος Εξεταστής | Δρ. Ζήσης Μαμούρης Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |
| Τρίτος Εξεταστής | Δρ. Λάζαρος Σακκάς Καθηγητής Παθολογίας- Ρευματολογίας Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |

Ευχαριστίες

Πρώτα απ' όλα, θέλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της διπλωματικής εργασίας μου, Επίκουρο Καθηγητή κ. Δημήτριο Μπόγαδο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθώς και την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια της εργασίας μου. Επίσης, είμαι ευγνώμων στα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής της διπλωματικής εργασίας μου, Καθηγητές κκ. Ζήση Μαμούρη και Λάζαρο Σακκά για την προσεκτική ανάγνωση της εργασίας μου και για τις πολύτιμες υποδείξεις τους. Οφείλω ευχαριστίες στον Δρ. Χρήστο Λιάσκο για όλη την βοήθεια του κατά την διάρκεια εκτέλεσης της παρούσας εργασίας καθώς και τον Δρ Αθανάσιο Μαυρόπουλο για την υποστήριξη του. Ευχαριστώ τους φίλους(ες) μου Μαριάννα Τσιφάκη, Γιώργο Μαρωνίτη και Στέλλα Γαλατίδου για την ηθική υποστήριξή τους. Επίσης, ευχαριστώ τον Λουκιανό Ξανθόπουλο για την κατανόησή του, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια των τελευταίων μηνών της προσπάθειάς μου. Πάνω απ' όλα, είμαι ευγνώμων στους γονείς μου, Γεώργιο και Ειρήνη Ρεντούλη και στον αδερφό μου Γιάννη Ρεντούλη για την ολόψυχη αγάπη και υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια. Αφιερώνω αυτή την εργασία στον αδερφό μου.

Σταματίνα Ρεντούλη

Η διαγνωστική και κλινική σημασία των αυτοαντισωμάτων έναντι C1q σε ρευματολογικές και νευρολογικές παθήσεις

Ρεντούλη Σταματίνα

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Βιοχημείας, 2016

Συνεπιβλέποντες Καθηγητές:

Δρ. Δημήτριος Μπόγδανος, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Δρ. Ζήσης
Μαμούρης, Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών

Μέλος:

Δρ. Λάζαρος Σακκάς Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας

Περίληψη

Τα αντισώματα έναντι C1q ανιχνεύονται κατά κύριο λόγο στον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο ενώ μόλις σχετικά πρόσφατα άρχισε να μελετάται η ύπαρξη τους και σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα. Σε αυτήν την διπλωματική εργασία προσδιορίσαμε την ύπαρξη C1q αυτοαντισωμάτων σε διάφορες ρευματολογικές και νευρολογικές ασθένειες καθώς και την κλινική τους σημασία.

Αρχικά, χρησιμοποιήσαμε τεχνικές ανοσοπροσδιορισμού όπως η ELISA, προκειμένου να προσδιορίσουμε την ύπαρξη ή όχι C1q αυτοαντισωμάτων σε ορούς ασθενών με αυτοάνοσες ρευματικές και νευρολογικές παθήσεις, ενώ παράλληλα έγινε και μελέτη με ανοσοφθορισμό και ανοσοαποτύπωση για να συμπληρώσουμε το ανοσολογικό προφίλ των ασθενών. Τέλος, εφαρμόζοντας στατιστικές μεθόδους συσχέτισαμε την παρουσία των αντισωμάτων αυτών με τα κύρια δημογραφικά, κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών που μελετήσαμε.

Synopsis

Anti C1q antibodies are mainly found in Systemic Lupus Erythematosus and more recently their presence in other autoimmune diseases has been the focus of interest. In this thesis we analysed the presence of anti-C1q antibodies and their clinical role in various autoimmune rheumatic and neurologic diseases.

We used tests like ELISA to determine the presence of anti-C1q antibodies in blood serum and immunofluorescence and blotting to complete the immunological profile of the patients. Lastly, we used statistical methods in order to correlate the presence of autoantibodies with demographic, clinical and immunological characteristics of the patients.

Πίνακας περιεχομένων

| | |
|--|----|
| ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 9 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ..... | 9 |
| 1. Το Σύστημα Του Συμπληρώματος..... | 9 |
| 1.1 Τα συστατικά του συμπληρώματος | 11 |
| 1.2 Συστατικά ελέγχου ενεργοποίησης του συμπληρώματος..... | 13 |
| 1.3 Η λυτική οδός του συστήματος του συμπληρώματος..... | 14 |
| 2. Το C1q Αντίσωμα | 16 |
| 2.1 Γενικά Χαρακτηριστικά C1 μορίου | 16 |
| 2.2 Γονίδιο του C1q και η παραγόμενη πρωτεΐνη | 17 |
| 2.3 Παραγωγή C1q | 19 |
| 2.4 Δομή C1q υπομονάδας | 20 |
| 2.5 Αντισώματα έναντι C1q | 22 |
| 2.6 Μέθοδοι ανίχνευσης αντι-C1q αντισωμάτων..... | 24 |
| 2.7 Ρόλος του C1q σε αυτοάνοσες ρευματικές παθήσεις..... | 25 |
| 3. Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος | 28 |
| 4. Σκληρόδερμα- Συστημική Σκλήρυνση..... | 31 |
| 4.1 Περιορισμένη συστημική σκλήρυνση | 32 |
| 4.2 Διάχυτη συστημική σκλήρυνση..... | 33 |
| 4.3 Επιδημιολογία | 33 |
| 4.4 Διάγνωση του σκληροδέρματος..... | 34 |
| 4.5 Επιπλοκές του σκληροδέρματος | 35 |
| 4.6 Θεραπεία του σκληροδέρματος | 37 |
| 4.7 Πρόγνωση του σκληροδέρματος | 37 |
| 5. Σκλήρυνση Κατά Πλάκας-Πολλαπλή Σκλήρυνση..... | 38 |
| 5.1 Αιτία, παθοφυσιολογία και διάγνωση | 38 |
| 5.2 Σημεία και συμπτώματα | 42 |
| 5.3 Θεραπεία..... | 44 |
| ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | 45 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΚΟΠΟΣ..... | 45 |
| 1. Ασθενείς Και Μέθοδος..... | 47 |
| 1.1 Ασθενείς και ομάδες ελέγχου..... | 47 |
| 1.2 Μέθοδος..... | 49 |
| 1.3 Προσδιορισμός άλλων αντισωμάτων | 51 |
| 2. Στατιστική Ανάλυση..... | 51 |

| | |
|--|----|
| 3. Αποτελέσματα..... | 52 |
| 3.1 Αξιολόγηση του cut-off της μεθόδου | 52 |
| 3.2 Συχνότητα των anti-c1q στα ρευματολογικά νοσήματα | 53 |
| 3.3 Κλινική σημασία αντί-c1q αντισωμάτων στην SSc. | 54 |
| 3.4 Anti-c1q αντισώματα σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας | 57 |
| 4. Συμπεράσματα..... | 60 |
| BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ | 63 |

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Το Σύστημα Του Συμπληρώματος

Το σύστημα του συμπληρώματος αποτελεί έναν από τους κύριους μηχανισμούς της φυσικής άμυνας του οργανισμού. Ανακαλύφθηκε το 1896 από τον Bordet ως ένα θερμο-ευαίσθητο συστατικό του ορού και ονομάστηκε «συμπλήρωμα» εξαιτίας της συμπληρωματικής του δράσης στις αντιβακτηριδιακές ιδιότητες των αντισωμάτων. Το συμπλήρωμα αποτελείται από ένα εκτεταμένο δίκτυο περισσοτέρων από 35 διαλυτών πρωτεϊνών του πλάσματος με ικανότητα σύνδεσης σε μεμβράνες, οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, αλλά και με άλλα μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος, προκειμένου να παραχθούν σημαντικά δραστικά μόρια τόσο της φυσικής όσο και της επίκτητης ανοσίας. Το σύστημα του συμπληρώματος μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένας ενζυμικός καταρράκτης, ο οποίος οδηγεί σε φλεγμονώδεις και κυτταρολυτικές ανοσιακές αποκρίσεις έναντι είτε μολυσματικών μικροοργανισμών (βακτηρίων, ιών, παρασίτων), σε περίπτωση καταστροφής των ιστών, είτε σε άλλες δομές του ξενιστή που εσφαλμένα αναγνωρίζονται ως ξένες σε καταστάσεις αυτοανοσίας. Βασικό χαρακτηριστικό του είναι ο αυστηρός έλεγχος της ενεργοποίησής του και παρόλο που ανήκει στο σύστημα της φυσικής ανοσίας, ενεργοποιείται και μέσω των στοιχείων της επίκτητης ανοσίας. Αποτελεί έτσι το σημείο σύνδεσης φυσικής και επίκτητης ανοσίας μέσω:

I. Αύξησης της απόκρισης των αντισωμάτων και της ανοσιακής μνήμης

II. Λύσης ξένων κυττάρων

III. Εκκαθάρισης ανοσο-συμπλεγμάτων και κυτταρικών προϊόντων απόπτωσης [1, 2]

Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος εμπλέκονται στον έλεγχο της φλεγμονής μέσα από λειτουργίες όπως :

I. Οψωνοποίηση ανοσο-συμπλεγμάτων αντιγόνου/αντισώματος (ag/ab) ώστε να είναι εφικτή η φαγοκυττάρωση.

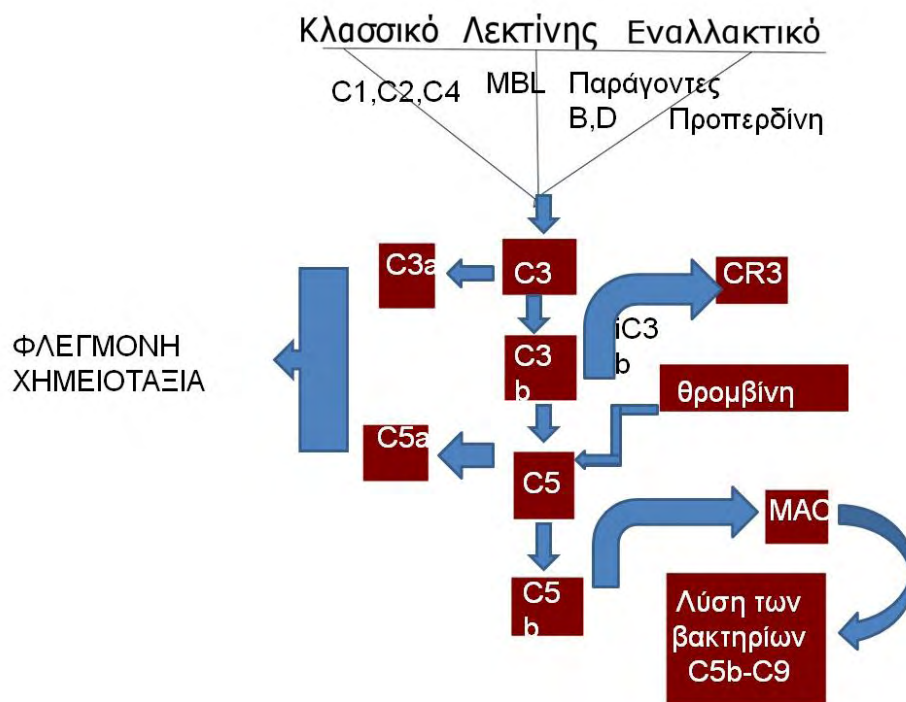
II. Λύση κυτταρικών μεμβρανών, βακτηρίων και ιών

III. Κινητοποίηση μακροφάγων και ουδετερόφιλων στα σημεία φλεγμονής

IV. Ενεργοποίηση σιτευτικών κυττάρων και διαμεσολαβητών για τον έλεγχο της αιματικής ροής και της ρύθμισης της διαπερατότητας των τριχοειδών.

Η ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος γίνεται μέσα από 3 διαφορετικές οδούς: την κλασσική, την λεκτινική και την εναλλακτική, οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το ερέθισμα ενεργοποίησής τους [3]. Παρόλο που και οι 3 οδοί του συμπληρώματος διαφέρουν ως προς τον τρόπο έναρξης τους, έχουν κοινά τελικά στάδια και επιτελούν τις ίδιες λειτουργίες [4, 5]

Πιο ειδικά, η κλασσική οδός αποτελεί έναν αυστηρά αντισωμο-ρυθμιζόμενο μηχανισμό που ενεργοποιείται μόνο όταν το πρώτο συστατικό του συμπληρώματος C1 αλληλεπιδρά με ανοσοσυμπλέγματα αντιγόνου αντισώματος, αποτελώντας ένα στοιχείο του χυμικού σκέλους της επίκτητης ανοσίας. Αντίθετα η ενεργοποίηση της λεκτινικής οδού δεν απαιτεί την ύπαρξη αντισώματος. Το εναρκτήριο σήμα δίδεται από την πρόσδεση μίας λεκτίνης που συνδέει μαννόζη (Mannose Binding Lectin, MBL) με πρωτεΐνες της επιφάνειας βακτηρίων και ιών που περιέχουν μαννόζη και στη συνέχεια ενεργοποιεί πρωτεΐνες της κλασσικής οδού. Επειδή η οδός ξεκινά απουσία του αντισώματος, θεωρείται στοιχείο της φυσικής ανοσίας. Τέλος η εναλλακτική οδός ενεργοποιείται αυτόματα όταν συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης μικροβίων καταλύουν μικρή συγκέντρωση του C3 συστατικού του συμπληρώματος, γεγονός που την κάνει να θεωρείται και αυτή στοιχείο της φυσικής ανοσίας.



Εικόνα 1. Το μονοπάτι του συμπληρώματος (αντιδρώντες παράγοντες και ενεργοποιητές-αποτελέσματα).

Τα τρία αυτά μονοπάτια έχουν σαν κοινή κατάληξη ένα ενιαίο μονοπάτι, την λυτική οδό που ευθύνεται για την λύση των παθογόνων μικροοργανισμών όπως φαίνεται και από την εικόνα 1. Η έναρξή της σηματοδοτείται από την κατάλυση του C3 συστατικού του συμπληρώματος σε C3a και C3b με την δράση της C3- κονβερτάσης [5]. Η κατάλυση του C3 έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία του συμπλέγματος MAC (complement membrane attack complex) που έχει κυτταροτοξική δράση και ευθύνεται για την λύση ξένων κυττάρων.

1.1 Τα συστατικά του συμπληρώματος

Το συμπλήρωμα περιλαμβάνει διάφορες ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους, κυρίως πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες αλλά και μικρά ολιγοπεπτιδικά μόρια που συντίθενται στο ήπαρ. Μεγάλες ποσότητες παράγονται επίσης, τοπικά από ιστικά μακροφάγα, μονοκύτταρα του αίματος αλλά και επιθηλιακά

κύτταρα του ουρογεννητικού και του γαστρεντερικού συστήματος. Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος αποτελούν το 5% του κλάσματος των σφαιρινών και κυκλοφορούν στον ορό υπό μορφή ζυμογόνων, δηλαδή ανενεργών προενζύμων, όπου η ενεργός περιοχή τους βρίσκεται συγκαλυμμένη. Τα πρόδρομα μόρια κατατέμνονται προκειμένου να ενεργοποιηθούν και να αποκαλυφθεί το ενεργό τους τμήμα, ενώ κάποια άλλα αρκεί να συνδυαστούν κατάλληλα μεταξύ τους δημιουργώντας ενεργά συμπλέγματα. Κατά τη διαδικασία ενεργοποίησης του συμπληρώματος πυροδοτείται η έναρξη του ενζυμικού καταρράκτη καθώς το κάθε ένα από τα μόρια του συμπληρώματος που ενεργοποιείται λειτουργεί ως καταλύτης για την ενεργοποίηση του αμέσως επόμενου [6, 7].

Τα κύρια συστατικά του συμπληρώματος έχουν ονομαστεί με το αρχικό γράμμα C (Complement) και τους αριθμούς από 1 μέχρι 9, (C1- C9). Τα ενεργοποιημένα συμπλέγματα συμβολίζονται με μια παύλα πάνω από το όνομα τους ως ένδειξη ενεργοποίησης. Τα προϊόντα διάσπασης συμβολίζονται με μικρούς χαρακτήρες, (a) για τα μικρότερα θραύσματα και (b) για τα μεγαλύτερα. Κάποια στοιχεία του συστήματος ονομάζονται «παράγοντες». Παρακάτω εμφανίζεται συνοπτικός πίνακας με τα συστατικά του συμπληρώματος και τη δράση τους.

Πίνακας 1 Οι πρωτεΐνες του συστήματος του συμπληρώματος.

| | Κλασσική οδός | Λεκτινική οδός | Εναλλακτική οδός | Λυτική οδός |
|--------------------------|----------------------|--|--|--------------------|
| Πρωτεΐνες ενεργοποίησης: | C1qrs, C2, C3, C4 | Mannan binding protein (MBP), mannan-associated serine | C3, παράγοντες B & D, Προπερδίνη (P) | C5, C6, C7, C8, C9 |
| Πρωτεΐνες ελέγχου: | C1-INH, C4-BP | πρωτεάσες (MASP, MASP2) | Παράγοντες I & H, decay accelerating factor (DAF), Υποδοχέας συμπληρώματος (CR1), κ.α. | Πρωτεΐνη S |

1.2 Συστατικά ελέγχου ενεργοποίησης του συμπληρώματος

Το σύστημα του συμπληρώματος δεν διαχωρίζει το «ίδιο» από το «ξένο». Για το λόγο αυτό στα κύτταρα των θηλαστικών εκφράζονται ειδικές πρωτεΐνες που αναστέλλουν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και εμποδίζουν την βλάβη των κυττάρων του ξενιστή από το συμπλήρωμα. Υπάρχουν πολλές τέτοιες ρυθμιστικές πρωτεΐνες κάποιες από τις οποίες ανήκουν στην οικογένεια των «ρυθμιστών ενεργοποίησης του συμπληρώματος» (RCA: Regulators of Complement Activation) ή αλλιώς των πρωτεϊνών ελέγχου του συμπληρώματος (Complement Control Proteins-CCP). Σχεδόν στο σύνολό τους οι πρωτεΐνες ελέγχου του συμπληρώματος έχουν δράση στις κονβερτάσες C3b, Bb, C4b.2a, συμπλέγματα που σχηματίζονται σε αρχικά στάδια του καταρράκτη του συμπληρώματος.

Επιπρόσθετα υπάρχουν και άλλοι διαλυτοί ρυθμιστές του συμπληρώματος που δεν ανήκουν στην οικογένεια RCA/CCP όπως ο παράγοντας 1 του συμπληρώματος (Complement Factor 1) και ο αναστολέας του C1 (C1 inhibitor) [8, 9]. Στον πίνακα 2 φαίνονται συνοπτικά οι πρωτεΐνες ελέγχου του συμπληρώματος, η λειτουργία τους και την κύρια κατανομή τους.

Όλοι οι ρυθμιστικοί συμπαράγοντες χαρακτηρίζονται κύρια από την ύπαρξη SCRs (short-consensus repeats). Οι SRCs είναι τυχαίες δομικές επαναλήψεις αποτελούμενες από 60 αμινοξέα που βρίσκονται στις περισσότερες πρωτεΐνες του πλάσματος, καθώς και στις ρυθμιστικές πρωτεΐνες του συμπληρώματος [10].

Πίνακας 2. Οι πρωτεΐνες ελέγχου του συστήματος του συμπληρώματος.

| | | |
|-------------------------------|-------------------------|--|
| Αναστολέας C1 (C1 INH) | Πλάσμα, συγκ. 200 µg/ml | Αναστέλλει τη δραστηριότητα των C1r και C1s ως πρωτεϊνάσες της σερίνης |
| Παράγοντας I | Πλάσμα, συγκ. 35 µg/ml | Διασπά πρωτεολυτικά τα C3b C4b |
| Παράγοντας H | Πλάσμα, συγκ. 480 µg/ml | Προκαλεί το διαχωρισμό των υπομονάδων της C3 κονβερτάσης της εναλλακτικής οδού Συμπαράγοντας στη |

| | | | |
|--|--|--|--|
| | | | διάσπαση του C3b από τον παράγοντα I |
| Πρωτεΐνη σύνδεσης C4 (C4BP) | Πλάσμα, συγκ. 300 μg/ml | | Προκαλεί το διαχωρισμό των υπομονάδων της C3 κονβερτάσης της κλασσικής οδού Συμπαράγοντας στη διάσπαση του C4b από τον παράγοντα I |
| Πρωτεϊνικός συμπαράγοντας μεμβράνης (MCP, CD46) της | Λευκοκύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα | | Συμπαράγοντας στη διάσπαση του C3b και του C4b από τον παράγοντα I |
| Παράγοντας επιτάχυνσης της αποδόμησης (DAF) | Κύτταρα του αίματος, επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα | | Διαχωρίζει τις υπομονάδες της C3 κονβερτάσης |
| CD59 | Κύτταρα του αίματος, επιθηλιακά κύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα | | Παρεμποδίζει τη σύνδεση του C9 και εμποδίζει το σχηματισμό του MAC |
| Τύπου 1 υποδοχέας του συμπληρώματος (CR1, CD35) | Μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα, ουδετερόφιλα, B και Tα κύτταρα, ερυθροκύτταρα, ηωσινόφιλα, FDCs | | Προκαλεί τη διάσπαση των υπομονάδων της C3 κονβερτάσης Συμπαράγοντας στη διάσπαση του C3b και του C4b από τον παράγοντα I |

1.3 Η λυτική οδός του συστήματος του συμπληρώματος

Η λυτική οδός αποτελεί την κοινή κατάληξη και των τριών οδών ενεργοποίησης του μονοπατιού του συμπληρώματος.

Τα όψιμα στάδια της ενεργοποίησης του συμπληρώματος ξεκινούν με τη σύνδεση του C5 στη C5 κονβερτάση, και την πρωτεόλυσή του για την παραγωγή C5b. Στην συνέχεια συνδέονται διαδοχικά και τα υπόλοιπα συστατικά (C6, C7, C8 και C9). Το C9 πολυμερίζεται και σχηματίζει έναν πόρο στην κυτταρική μεμβράνη, από τον οποίο μπορούν να διέλθουν στα κύτταρα νερό και ιόντα κάτι που οδηγεί στον θάνατο των κυττάρων. Το πολυμερισμένο C9 αποτελεί το σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης (membrane attack complex-MAC), ενώ το σύμπλεγμα που αποτελείται από τα C5b, C6, C7, C8 και C9 χαρακτηρίζεται ως «τελικό σύμπλεγμα του συμπληρώματος» (TCC, Terminal Complement Component).

Τα μόρια C6 έως C9 έχουν προέλθει από ένα προγονικό μόριο και η δομή τους μοιάζει με την περφορίνη, μια λυτική πρωτεΐνη των κυττάρων «φυσικών φονιάδων» (NK, natural killer) και των Τ-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων (cytotoxic T lymphocytes) [11]. Στον άνθρωπο, τα συστατικά αυτά φέρουν κοινά δομικά μοτίβα, όπως περιοχές θρομβοσπονδίνης (TSP1), υποδοχεία λιποπρωτεϊνών (LDLa), ειδικού αυξητικού παράγοντα (EGF) και την χαρακτηριστική περιοχή MAC perforin (MACPF) [12].

Μερική λύση μπορεί να προκύψει χωρίς τον πλήρη πολυμερισμό των συστατικών C9 και το σχηματισμό πόρου. Εν μέρει, αυτό μπορεί να οφείλεται σε μικρές περιοχές διαρροής, ως αποτέλεσμα της εισόδου υδροφοβικών τμημάτων του συμπλέγματος C5b-8. Επιπλέον, η εγκατάσταση των τελικών συστατικών του συμπληρώματος στην κυτταρική μεμβράνη, είναι δυνατό να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο ανεξάρτητα από οσμωτική λύση, επιτρέποντας σ' ένα θανατηφόρο ποσό ασβεστίου να εισέλθει παθητικά στο κύτταρο.

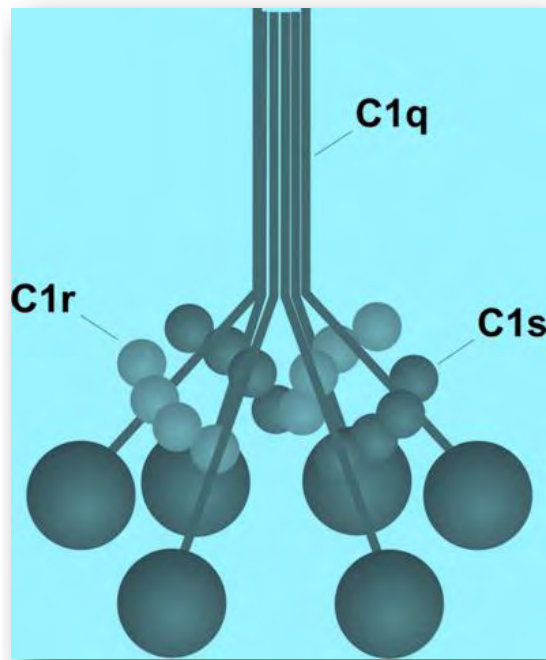
Παρότι ο ρόλος του συμπληρώματος στην ανοσία και την αυτοανοσία είναι γνωστός και καλά μελετημένος, οι ερευνητικές εργασίες που μελετούν συστατικά του συμπληρώματος ως στόχους της επίκτητης ανοσιακής απόκρισης παραμένουν σχετικά περιορισμένες. Στο αντικείμενο αυτό, ο μεγαλύτερος όγκος δεδομένων προέρχεται από την μελέτη των αυτοαντισωμάτων κατά των πρωτεϊνών του συμπληρώματος και συγκεκριμένα των αντί-C1q αντισωμάτων στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ) και λιγότερο σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως θα αναφερθεί με μεγαλύτερη λεπτομέρεια στο επόμενο κεφάλαιο.

2. Το C1q Αντίσωμα

2.1 Γενικά Χαρακτηριστικά C1 μορίου

Το C1 αποτελεί το πρώτο μόριο το οποίο ενεργοποιείται μέσω του κλασικού μονοπατιού του συμπληρώματος. Ουσιαστικά ύστερα από αλληλεπίδραση των τριών υπομονάδων (C1q-C1r-C1s) του πρώτου παράγοντα του συμπληρώματος C1 δημιουργείται το ένζυμο της C1 εστεράσης. Για την ενεργοποίηση του C1 θα πρέπει τουλάχιστον 2 από τις 6 κεφαλές του C1q μορίου να αλληλεπιδράσουν με την περιοχή C_λ2 δυο γειτονικών IgG μορίων ή με δυο αντίστοιχες θέσεις ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην περιοχή C_μ3 των δυο γειτονικών υπομονάδων ενός πενταμερούς IgM μορίου. Σε κάθε περίπτωση αυτές οι αυστηρές προϋποθέσεις εκπληρώνονται μόνο όταν η ανοσοσφαιρίνη είναι σε μορφή συμπλέγματος, δηλαδή συζευγμένη με το αντιγόνο, ή συσσωματώματος και αυτό εμποδίζει την ενεργοποίηση του C1 από ελεύθερα αντισώματα.

Η αλλαγή στη διαμόρφωση, που προκαλεί αυτή η αλληλεπίδραση καταλήγει στην ενεργοποίηση του C1r, το οποίο με τη σειρά του, ενεργοποιεί το C1s για τον σχηματισμό της εστεράσης του C1. Αυτό το ένζυμο δρα πρωτεολυτικά στον επόμενο παράγοντα της σειράς C4 με αποτέλεσμα να απελευθερωθούν δυο θραύσματα, ένα μικρό το C4a και ένα μεγαλύτερο το C4b με μικρό χρόνο ημιζωής, που συνδέεται στις γειτονικές μεμβράνες. Το C4b συνδέει τον παράγοντα C2 παρουσία ιόντων μαγνησίου, γεγονός που καθιστά το C2 επιδεκτικό στη πρωτεολυτική διάσπαση του C1s, το οποίο το διασπά σε C2a και C2b. Το C2a παραμένει συνδεδεμένο στο C4b στην επιφάνεια της μεμβράνης και αυτό το σύμπλεγμα που ονομάζεται ως C4bC2a λειτουργεί ως C3 κονβερτάση.

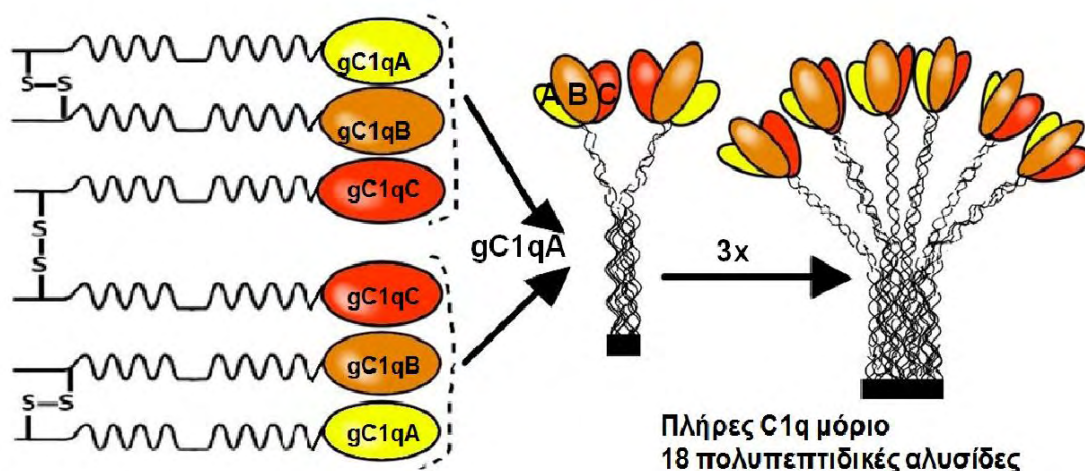


Εικόνες 2 και 3. Απεικονίσεις της δομής του C1q μορίου.

2.2 Γονίδιο του C1q και η παραγόμενη πρωτεΐνη

Τα γονίδια από τα οποία παράγεται το C1q είναι τα γονίδια C1QA, C1QB και C1QC, τα οποία βρίσκονται στον p βραχίονα του χρωμοσώματος 1 με

ακριβή χρωμοσωμική θέση 1p34-1p36.3 [13, 14]. Κάθε ένα από αυτά κωδικοποιεί για κάθε μια από τις πεπτιδικές αλυσίδες C1q A,B και C [15].

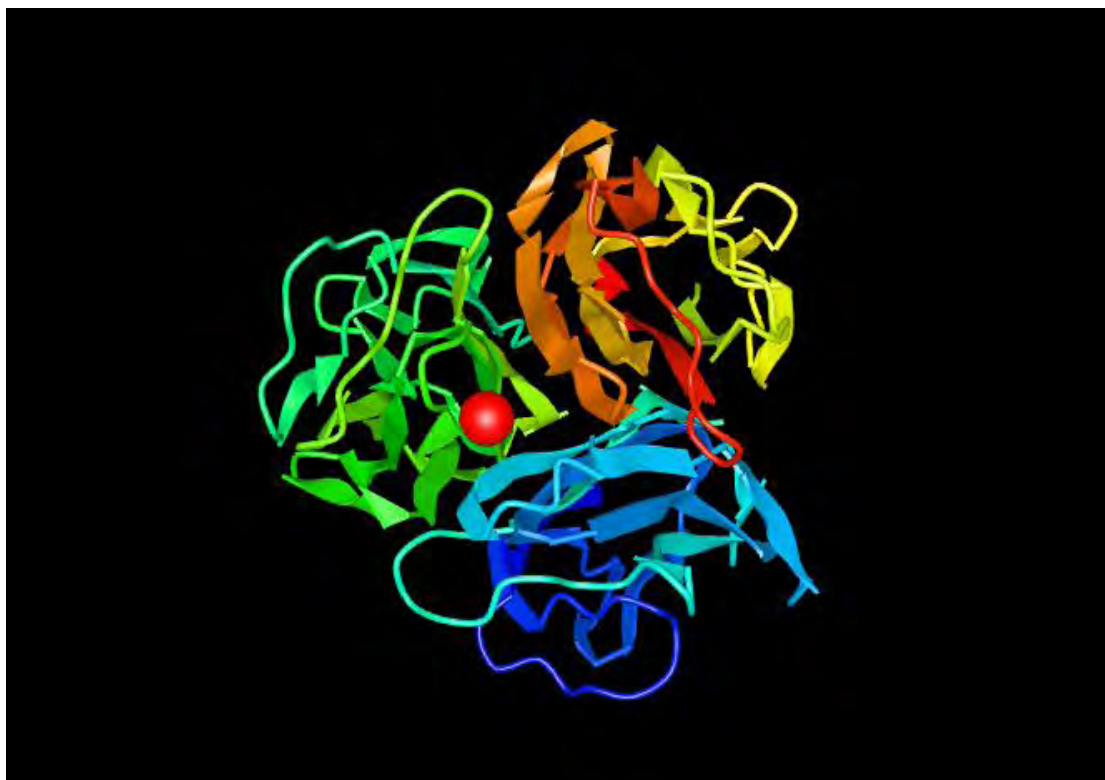


Εικόνα 4. Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης του μορίου C1q. Το C1q αποτελείται από τρεις πολυπεπτιδικές αλυσίδες (A, B και Γ) που κωδικοποιούνται από 3 διαφορετικά γονίδια (C1QA, C1QB και C1QC). Κάθε αλυσίδα αποτελείται από μια N-τερματική ινιδιακή περιοχή και μια σφαιρική δομή στο καρβοξυτελικό άκρο με δισουλφιδικές γέφυρες που συνδέουν τα N-τερματικά άκρα των A και B αλυσίδων και δύο αλυσίδες C. Κάθε A-B διμερές συνδέεται με μία αλυσίδα C, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια βασική υπομονάδα που αποτελείται από δύο ετεροτριμερή (συνδεμένα με δεσμούς θείου). Η ένωση τριών τέτοιων υπομονάδων οδηγεί σε μια πλήρους μήκους πρωτεΐνη με τυπικό σχήμα ενός μπουκέτου με έξι λουλούδια, τα στελέχη του οποίου κρατούνται μαζί μέσω ισχυρών μη-ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων και στη συνέχεια αποκλίνουν για να σχηματίσουν εξιεπιμέρους στελέχη, κάθε ένα από τα οποία καταλήγει σε μια σφαιρική κεφαλή.

Το ανθρώπινο C1q μόριο (460kDa) συντίθεται από 18 πολυπεπτιδικές αλυσίδες A,B,C. Η A αλυσίδα αποτελείται από 223 κατάλοιπα, η B από 226 και η C από 217, ενώ όλες έχουν την ίδια τοπολογία. Ξεκινούν με μια μικρή (3-9 κατάλοιπα) αμινοτελική περιοχή με ένα κατάλοιπο κυστεΐνης το οποίο εμπλέκεται στον σχηματισμό του δισουλφιδικού δεσμού μεταξύ των αλυσίδων, μια περιοχή με δομή τύπου κολλαγόνου στο κέντρο με 81 κατάλοιπα, πλούσια σε γλυκίνη και σερίνη και τελειώνουν με μια συντηρημένη καρβοξυτελική περιοχή με 135 κατάλοιπα, την C1q επικράτεια. Μετά από σύγκριση ώριμων αλυσίδων βρέθηκε ότι υπάρχουν 4 καλά συντηρημένες κυστεΐνες σε κάθε αλυσίδα. Οι κυστεΐνες αυτές βρίσκονται στις θέσεις 4,135,154 και 171 σύμφωνα με την αρίθμηση της B αλυσίδας. Στην θέση 4 εμπλέκονται με την

δημιουργία δισουλφιδικών γεφυρών μεταξύ των A-B και C-C υπομονάδων, ενώ οι υπόλοιπες τρεις στη διατήρηση της ενδοπεπτιδικής δομής.

Αυτές οι collagen-like ακολουθίες στις A και B αλυσίδες μιας A-B υπομονάδας σχηματίζουν μια τριπλή ελικοειδή collagen like δομή με την αντίστοιχη ακολουθία σε μια από τις C αλυσίδες που είναι παρούσα σε μια C-C υπομονάδα, για τον σχηματισμό μιας δομικής ομάδας, τον σχηματισμό ABC-CBA, το οποίο συντηρείται τόσο από ομοιοπολικούς όσο και από μη ομοιοπολικούς δεσμούς. Τρεις από αυτές τις δομικές μονάδες στην συνέχεια σχηματίζουν το εξαμερές του C1q μορίου, μέσω δυνατών ιοντικών δεσμών στο fibril- like central portion [16, 17].



Εικόνα 5. Κρυσταλλική δομή της C1q επικράτειας

2.3 Παραγωγή C1q

Σε αντίθεση με τους περισσότερους από τους άλλους παράγοντες του συμπληρώματος, το C1q δεν παράγεται από ηπατοκύτταρα, αλλά κυρίως από

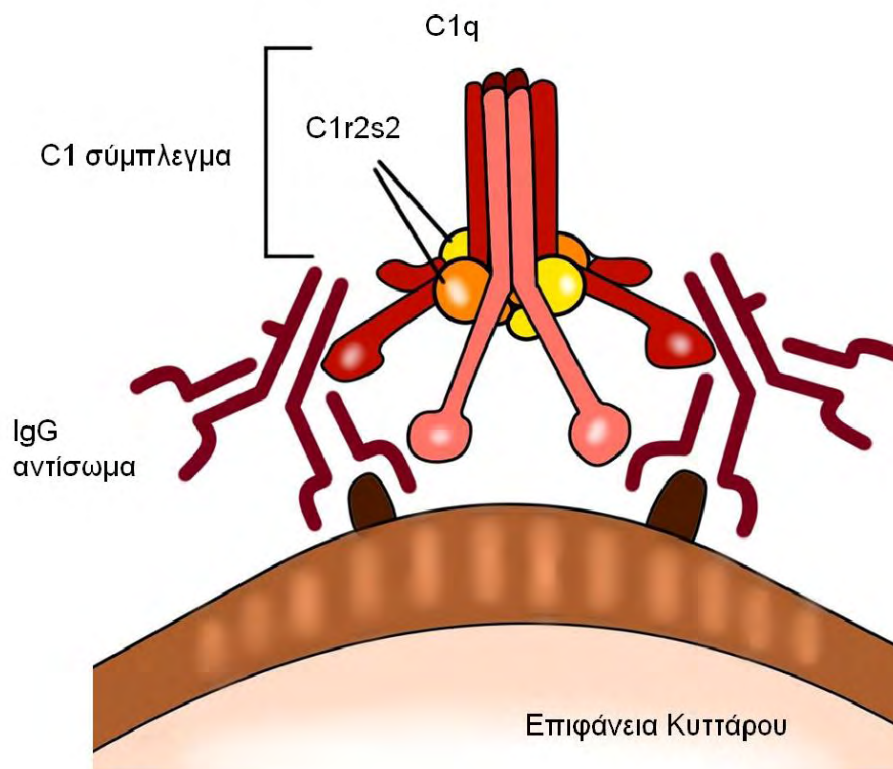
μακροφάγα και ανώριμα δενδριτικά κύτταρα [18, 19]. Με το που ολοκληρώσουν την ωρίμανσή τους, τα δενδριτικά κύτταρα σταματούν εντελώς την παραγωγή C1q, πράγμα που υποδεικνύει ακόμη περισσότερο τον πιθανό ρόλο του C1q στην επίκτητη ανοσία.[20]

2.4 Δομή C1q υπομονάδας

Ο βιοχημικός χαρακτηρισμός του C1q ολοκληρώθηκε κυρίως στην δεκαετία του 1970 και είχε ως αποτέλεσμα να προταθεί το δομικό του μοντέλο [16]. Το μόριο του C1q έχει μέγεθος 450 kD και αποτελείται από 18 πολυπεπτιδικές αλυσίδες, έξι A, έξι B και έξι C. Κάθε μία αλυσίδα περιέχει ένα κολλαγονούχο τμήμα στο αμινοτελικό άκρο και μια σφαιρική περιοχή στο καρβοξυτελικό. Οι αλυσίδες ενώνονται με δισουλφιδικούς δεσμούς στα αμινοτελικά άκρα τους σχηματίζοντας έξι A-B και τρία C-C διμερή, ενώ με μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις τα διμερή συνδυάζονται δημιουργώντας δομές του τύπου ABC-CBA. Τελικά, τρεις τέτοιες δομές συνδέονται ισχυρά μεταξύ τους με δευτερεύοντες αλληλεπιδράσεις φέρνοντας μαζί τα κολλαγονούχα τμήματα δημιουργώντας μια τριπλή έλικα, χαρακτηριστική του κολλαγόνου, και φέρνοντας ταυτόχρονα μαζί τις σφαιρικές κεφαλές, προσδίδοντας στο όλο μόριο την χαρακτηριστική δομή μιας «ανθοδέσμης με έξι τουλίπες». Η μελέτη της λειτουργίας τόσο των σφαιρικών κεφαλών, όσο και των κολλαγονούχων άκρων του C1q πραγματοποιήθηκε με επιλεκτική πρωτεολυτική αποικοδόμηση του μορίου [16, 21]. Λειτουργικές μελέτες έδειξαν ότι οι σφαιρικές κεφαλές αποτελούν την αναγνωριστική περιοχή του C1q και επιδεικνύουν μια αξιοσημείωτη ικανότητα δέσμησης προσδετών μορίων.

Αποτελέσματα από έρευνες με χρήση ειδικών αντισωμάτων για κάθε αλυσίδα, κρυσταλλογραφίας και τοποκατευθυνόμενης μεταλλαξιγένεσης, έδειξαν ότι οι κεφαλές της B αλυσίδας είναι κύρια υπεύθυνες για την αλληλεπίδραση του C1q με τα IgG [22]. Όσον αφορά την τύπου κολλαγόνου ουρά του C1q δεν έχει μελετηθεί σε βάθος όπως οι κεφαλές, ωστόσο έχει προταθεί ότι το τετραμοριακό σύμπλεγμα το οποίο δημιουργείται με την αλληλεπίδραση των εστερασών σερίνης C1r και C1s, αλληλεπιδρά με την

περιοχή όπου τα κολλαγονούχα στελέχη δημιουργούν μια εύκαμπτη περιοχή [23, 24]. Τα μόρια C1s και C1r αποτελούνται από έξι δομικές περιοχές. Στο καρβοξυτελικό άκρο περιέχουν την καταλυτική περιοχή, ακολουθούμενη από πέντε μη καταλυτικές δομές. Το αμινοτελικό άκρο είναι υπεύθυνο για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των C1r και C1s, και μεταξύ του τετραμερούς C1s-C1r-C1r-C1s με την C1q υπομονάδα. Στο τετραμοριακό σύμπλοκο κάθε μόριο έχει τη δική του ξεχωριστή δράση. Το C1r έχει την ικανότητα να αυτό-ενεργοποιείται και στη συνέχεια να ενεργοποιεί το C1s, το οποίο μετά την ενεργοποίησή του μπορεί να διασπάσει τους παράγοντες C2 και C4, που ακολουθούν στο μονοπάτι ενεργοποίησης. Η πολλαπλή δέσμευση των κεφαλών του C1 σε ξεχωριστούς προσδέτες, είναι αυτή που πυροδοτεί στερεοχημικές αλλαγές στη περιοχή αυτή.



Εικόνα 6. Βασικός φυσιολογικός ρόλος του C1q από τον οποίο και ξεκινάει ο βιοχημικός καταρράκτης της ενεργοποίησης του συμπληρώματος είναι να δεσμεύει IgGανοσοσφαιρίνες που έχουν προσδεθεί πάνω στο αντιγόνο που υπάρχει στην κυτταρική επιφάνεια.

2.5 Αντισώματα έναντι C1q

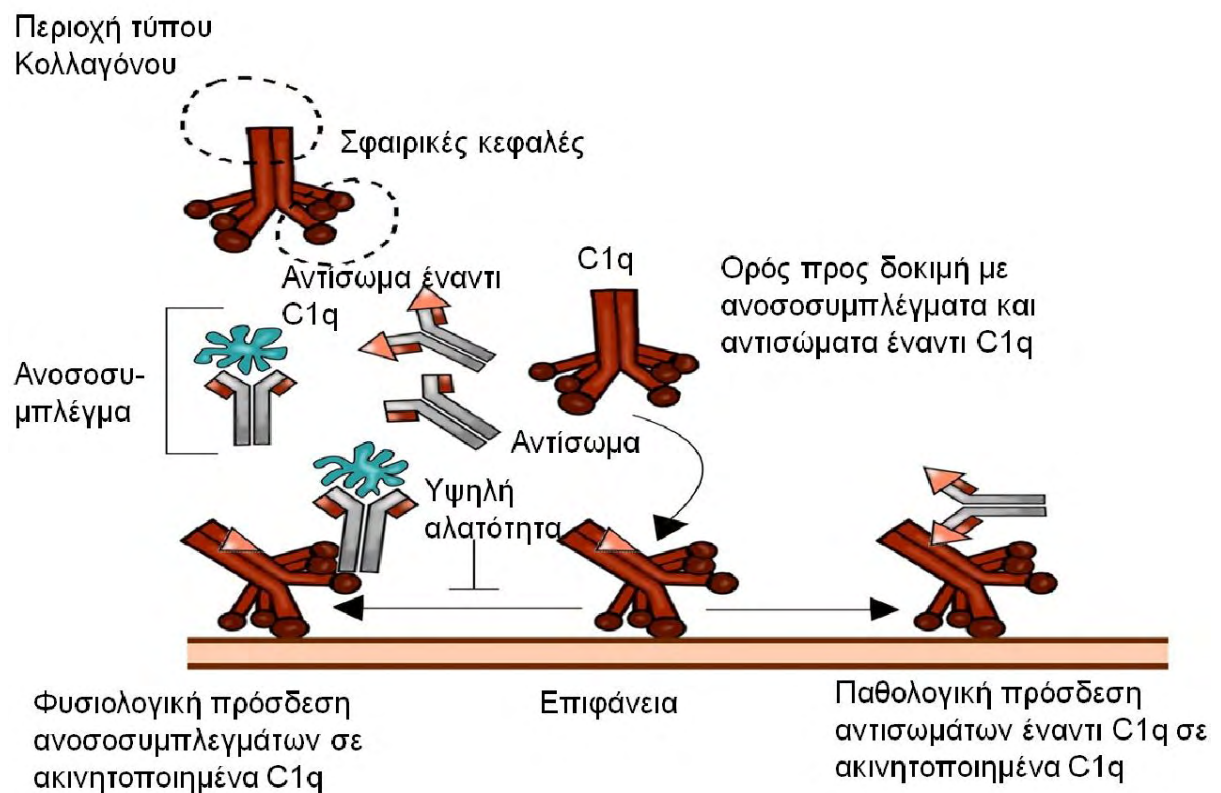
Ένας μεγάλος αριθμός πρωτεϊνών του συμπληρώματος έχει αναφερθεί ως στόχος αυτοαντισωμάτων. Η δέσμευση των αυτοαντισωμάτων σε θραύσματα του συμπληρώματος μπορεί να προκαλέσει σημαντικές βλάβες στη λειτουργία του συμπληρώματος αλλά και να οδηγήσει σε ιστικές βλάβες ειδικότερα στο ήπαρ [25].

Ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του 1980 παρατηρήθηκε ότι στις τεχνικές που ανίχνευαν C1q, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση κυκλοφορούντων ανοσοσυμπλεγμάτων, προσδένονταν επίσης μονομερή IgG μόρια μέσω των Fab περιοχών τους [26, 27]. Το μεθοδολογικό αυτό λάθος μπορεί να διορθωθεί με τη χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων με υψηλή συγκέντρωση άλατος που επιτρέπουν να γίνει διάκριση μεταξύ της δέσμευσης των ανοσοσυμπλεγμάτων και των πραγματικών αντι-C1q αντισωμάτων [28]. Αυτά τα αντι-C1q αντισώματα στοχεύουν μόνο σε σύνδεση με τη στερεή φάση του C1q και όχι στη ρευστή του φάση [29, 30]. Πιο συγκεκριμένα ο στόχος των αντισωμάτων έναντι του C1q είναι η περιοχή τύπου κολλαγόνου που περιέχει. Φυσιολογικά το C1q αλληλεπιδρά με την περιοχή Fc της ανοσοσφαιρίνης που είναι συζευγμένη με το αντιγόνο (σχηματίζοντας ένα ανοσοσύμπλεγμα). Η αλληλεπίδραση διαμεσολαβείται από τα σφαιρικά κεφάλια του μορίου C1q.β.

Έτσι κατά τον προσδιορισμό των αντι-C1q αντισωμάτων είναι σημαντικό να προβλέψουμε τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανοσοσυμπλεγμάτων στους ορούς προς εξέταση και του ακινητοποιημένου C1q επί της στερεάς φάσης της δοκιμής, η οποία επιτυγχάνεται με χρήση συνθηκών υψηλής αλατότητας. Κατ' αυτό τον τρόπο παρεμποδίζεται η αλληλεπίδραση μεταξύ ανοσοσυμπλόκων και C1q, αλλά δεν επηρεάζεται η σύνδεση του αντι-C1q αντισώματος στο αντιγόνο-στόχο C1q. Κατά τη σύνδεση με την επιφάνεια (στερεά-φάση) αλλάζει η διαμόρφωση της περιοχής τύπου κολλαγόνου του μορίου C1q (που απεικονίζεται με κόκκινο χρώμα στην εικόνα 6) για να δημιουργηθεί ένας νέος επίτοπος, ο στόχος των αντι-C1q αντισωμάτων. Αυτή

η αλλαγή στην δέσμευση εξηγεί γιατί τα αντι-C1q αντισώματα δεν συνδέονται με τα διαλυτά C1q στον ορό [31]

Τα αντισώματα αντι-C1q αρχικά ανιχνεύθηκαν σε ορούς ΣΕΛ, αλλά μέχρι τώρα η παρουσία των αντι-C1q αντισωμάτων έχει μελετηθεί σε αρκετές αυτοάνοσες ασθένειες και νεφρικές παθήσεις. Στον υγιή πληθυσμό αντι-C1q αντισώματα μπορούν να ανιχνευθούν στο 2-8% των ατόμων [32-36], ποσοστό το οποίο αυξάνει με την ηλικία [37]. Στον πίνακα 3 αναφέρονται τα κυριότερα νοσήματα στα οποία έχουν αναφερθεί υψηλά ποσοστά οροθετικότητας σε αντι-C1q αντισώματα.



Εικόνα 7. Φυσιολογικός και παθολογικός μηχανισμός σύνδεσης αντισωμάτων και ανοσοσυμπλεγμάτων στο μόριο του C1q.

| Πίνακας 3. Νοσήματα με υψηλά ποσοστά εμφάνισης αντι-C1q αντισωμάτων | |
|--|-------------------------------------|
| Ασθένεια | Ποσοστό αντι-C1q αντισωμάτων |
| Hypocomplementaemic Urticarial Vasculitis Syndrome (HUVS) | 100% |
| Αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα | 94% |
| Felty's syndrome | 76% |
| Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΛΕ) | (30-60)% |

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης το γεγονός ότι αυξημένες συχνότητες αντι-C1q αντισωμάτων εμφανίζονται σε λοιμώξεις, όπως ο ιός ανοσοανεπάρκειας HIV και ο ιός της ηπατίτιδας C.

2.6 Μέθοδοι ανίχνευσης αντι-C1q αντισωμάτων

Έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνικές για την ανίχνευση των αντι-C1q αντισωμάτων [38]. Προκειμένου να γίνει διάκριση μεταξύ της σύνδεσης ICs και της σύνδεσης αντι-C1q αντισωμάτων, τα δείγματα πρέπει να επωάζονται σε ένα ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει 1 M NaCl [28]. Το C1q δεν μπορεί να δεσμεύσει ανοσοσυμπλέγματα σε αυτή την κατάσταση, ενώ η υψηλότερη συγγένεια των αντι-C1q αντισωμάτων εξακολουθεί να επιτρέπει την αλληλεπίδρασή τους με το C1q. Τα περισσότερα αυτοαντισώματα έναντι C1q δεσμεύονται σε επίτοπους στο τμήμα του μορίου C1q που μοιάζει με το κολλαγόνο (collagen-like). Όταν παρατηρούνται υψηλά επίπεδα αντι-C1q αντισωμάτων και το C1q που κυκλοφορεί στο αίμα ανιχνεύεται σε φυσιολογικά επίπεδα, αυτό υποδεικνύει ότι τα αντι-C1q αντισώματα κατά πάσα πιθανότητα αντιδρούν με επίτοπους που δεν είναι κατάλληλα διαμορφωμένοι ή είναι κρυμμένοι (cryptic) στο ελεύθερο C1q. Τα παραπάνω έχουν επιβεβαιωθεί σε δεύτερο χρόνο με τη χρήση της βιβλιοθήκης κλώνων αντι-C1q με μονοκλωνικά αντισώματα φάγου [39]. Η ανάγκη χρησιμοποίησης διαλυμάτων υψηλής αλατότητας για την ανίχνευση των αντι-C1q, έχει πλέον ξεπεραστεί με τη χρήση μόνο της περιοχής που μοιάζει με κολλαγόνο [26, 36]

ή πιο πρόσφατα με τη χρήση γραμμικών πεπτιδίων από αυτή τη περιοχή [40, 41].

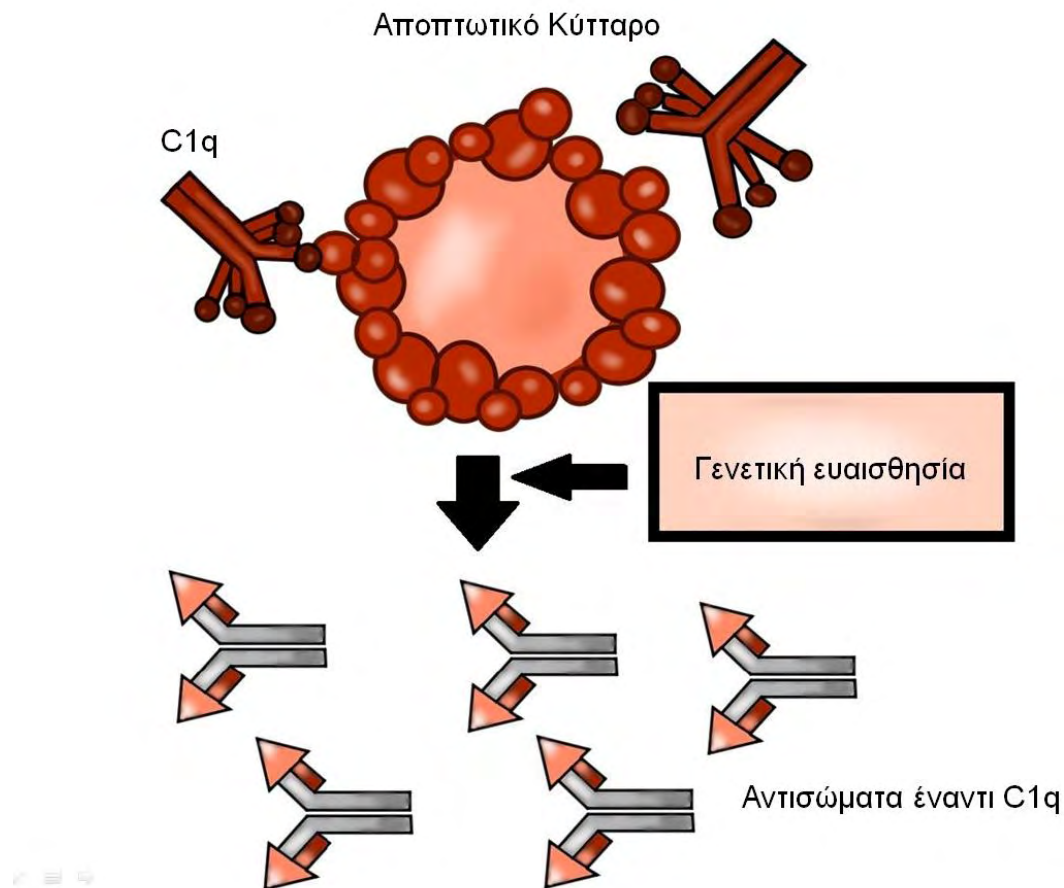
2.7 Ρόλος του C1q σε αυτοάνοσες ρευματικές παθήσεις

Μέχρι πρόσφατα, ο ρόλος που αποδιδόταν στο C1q περιοριζόταν μόνο στην ενεργοποίηση του κλασικού μονοπατιού του συμπληρώματος και στην επακόλουθη σύνδεσή του με IgM ή IgG. Η λίστα, πλέον, με του συνδέτες του C1q έχει μεγαλώσει αρκετά και σε αυτήν περιλαμβάνονται πλέον μόρια DNA καθώς και η CRP.

Είναι γνωστό ότι η γενετική ανεπάρκεια του C1q σχετίζεται με την εμφάνιση ΣΕΛ. Στους περισσότερους ασθενείς με ΣΕΛ το C1q συμμετέχει ενεργά στην ιστική βλάβη καθώς επάγει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω ανοσοσυμπλεγμάτων που τελικά καθιζάνουν και προσκολλούνται σε διάφορους ιστούς οδηγώντας σε ιστική βλάβη.

Μια σημαντική ανακάλυψη προς αυτή τη κατεύθυνση επιτεύχθηκε όταν δημιουργήθηκαν τα πρώτα ποντίκια knock-out για C1q. Αυτοί οι ποντικοί εμφάνισαν μια νόσο που ιστολογικά και κλινικά μοιάζει με τον ΣΕΛ, η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένους αριθμούς αποπτωτικών κυττάρων [42]. Σε φυσιολογικές συνθήκες τα αποπτωτικά κύτταρα είναι δύσκολα ανιχνεύσιμα σε ιστούς, δεδομένου ότι αποβάλλονται ταχέως από κύτταρα όπως τα μακροφάγα. Βασιζόμενοι στα παραπάνω, έχει προταθεί η θεωρία σύμφωνα με την οποία τα C1q μόρια δεσμεύονται στα νεκρά κύτταρα ή σε αυτά που πεθαίνουν και ενισχύουν τη φαγοκυττάρωσή τους [43]. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία ευνοείται όχι μόνο η ανοσολογική επίδραση που έχουν τα φαγοκύτταρα αλλά ταυτόχρονα «καθαρίζεται» μια δυνητική πηγή αυτοαντιγόνων. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος που εμφανίζεται ως αποτέλεσμα της δέσμευσης C1q στα νεκρά κύτταρα πρέπει να ελέγχεται καλά για να καταστεί δυνατή η αποτελεσματική οψωνοποίηση, συμπεριλαμβανομένων και των θραυσμάτων C3b, χωρίς τον κίνδυνο λύσεως και αποδέσμευσης των αυτοαντιγόνων. Μαζί με το C1q, αποπτωτικά και

νεκρωτικά κύτταρα επίσης έχει δειχθεί ότι δεσμεύουν MBL [44] και προπερδίνη [45] για την οψωνοποίηση, την ενίσχυση δηλαδή που προκαλείται από το συμπλήρωμα.



Εικόνα 8. Πρόσδεση του C1q μορίου στην επιφάνεια αποπτωτικού κυττάρου.

Αυτή η διαδικασία κάθαρσης των αποπτωτικών κυττάρων είναι απαραίτητη για την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Τα παραπάνω μας οδηγούν στην διατύπωση μιας υπόθεσης σύμφωνα με την οποία το C1q επιδρά στην ανάπτυξη αυτοαντιδραστικότητας και την διαταραχή της επίκτητης ανοσίας, υπόθεση που αποδείχθηκε σε μελέτες με άτομα με C1q κληρονομική έλλειψη [46-50]. Άλλες μελέτες επικεντρώθηκαν στις συσχετίσεις μεταξύ SNPs σε C1q γονίδια και κλινικών φαινοτύπων διαφόρων νοσημάτων. Η παρουσία SNPs σε C1q γονίδια έχει συσχετισθεί με διαφορές στην απόκριση στη θεραπεία των λεμφωμάτων με rituximab [51, 52] καθώς και την ανάπτυξη ΣΕΛ [53-58] και RA [59].

2.7.1 Κλινική σημασία των αντι-C1q αντισωμάτων στον ΣΕΛ

Οι αρχικές παρατηρήσεις των αντι-C1q αντισωμάτων και οι πρώτες κλινικές συσχετίσεις αυτών έγιναν σε ασθενείς με ΣΕΛ, όπου κυρίως μελετήθηκε η σχέση μεταξύ των αντι-C1q και της νεφρικής προσβολής στον ΣΕΛ [38, 60, 61]. Η νεφρική προσβολή στον ΣΕΛ αποτελεί μια σημαντική επιπλοκή της νόσου που απαιτεί έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία. Σε συνάρτηση με αυτό, αντι-C1q αντισώματα έχουν ανιχνευτεί πιο συχνά σε ασθενείς με ΣΕΛ και νεφρίτιδα [62, 63] συγκριτικά με ασθενείς με ΣΕΛ που δεν έχουν νεφρική συμμετοχή. Ιδιαίτερα εντυπωσιακή είναι η ισχυρή αρνητική διαγνωστική αξία της παρουσίας αντι-C1q για νεφρίτιδα σε ασθενείς με ΣΕΛ [35]. Επίσης μελέτες δείχνουν ότι ένας ασθενής που έχει αντι-C1q και νεφρίτιδα του λύκου θα αναπτύξει πιο βεβαρημένη νόσο σε σχέση με εκείνον που δεν έχει αντι-C1q αντισώματα [35, 64-68]. Αύξηση του τίτλου των αντι-C1q αντισωμάτων έχει προταθεί επίσης ως προγνωστικός δείκτης για την μελλοντική ανάπτυξη νεφρικής προσβολής σε ασθενείς με ΣΕΛ [65, 69, 70]. Ωστόσο, οι ερευνητές δεν έχουν κατηγορηματικά αποφανθεί για την κλινική χρησιμότητα του ευρήματος αυτού [71].

Παρά τις ισχυρές κλινικές συσχετίσεις μεταξύ της παρουσίας των αντι-C1q και της νεφρίτιδας του λύκου, φαίνεται ότι δεν μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι τα αντι-C1q είναι αμέσως παθογόνα καθώς ανιχνεύονται και σε υγιή άτομα. Μπορεί κανείς να υποθέσει ότι τα αντι-C1q αντισώματα είναι παθογόνα μόνο υπό συγκεκριμένες συνθήκες, υπό τις οποίες ενισχύουν την ήδη υπάρχουσα ενεργοποίηση του συμπληρώματος, την φλεγμονή και ιστική βλάβη σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Δεδομένα που να υποστηρίζουν τον παθογενετικό ρόλο των αντι-C1q αντισωμάτων προέρχονται από πειράματα σε ζώα [72-75]. Αντισώματα κατά του C1q σε υγιή ποντίκια οδήγησε σε μικρή εναπόθεση του C1q και αντισωμάτων αντι-C1q στον νεφρικό ιστό, χωρίς όμως να έχει επίδραση στη νεφρική λειτουργία [73]. Ωστόσο, έχειδειχτεί ότι τα αντι-C1q αντισώματα μπορούν αρνητική επίδραση στη νεφρίτιδα που προκαλείται από ICs [74].

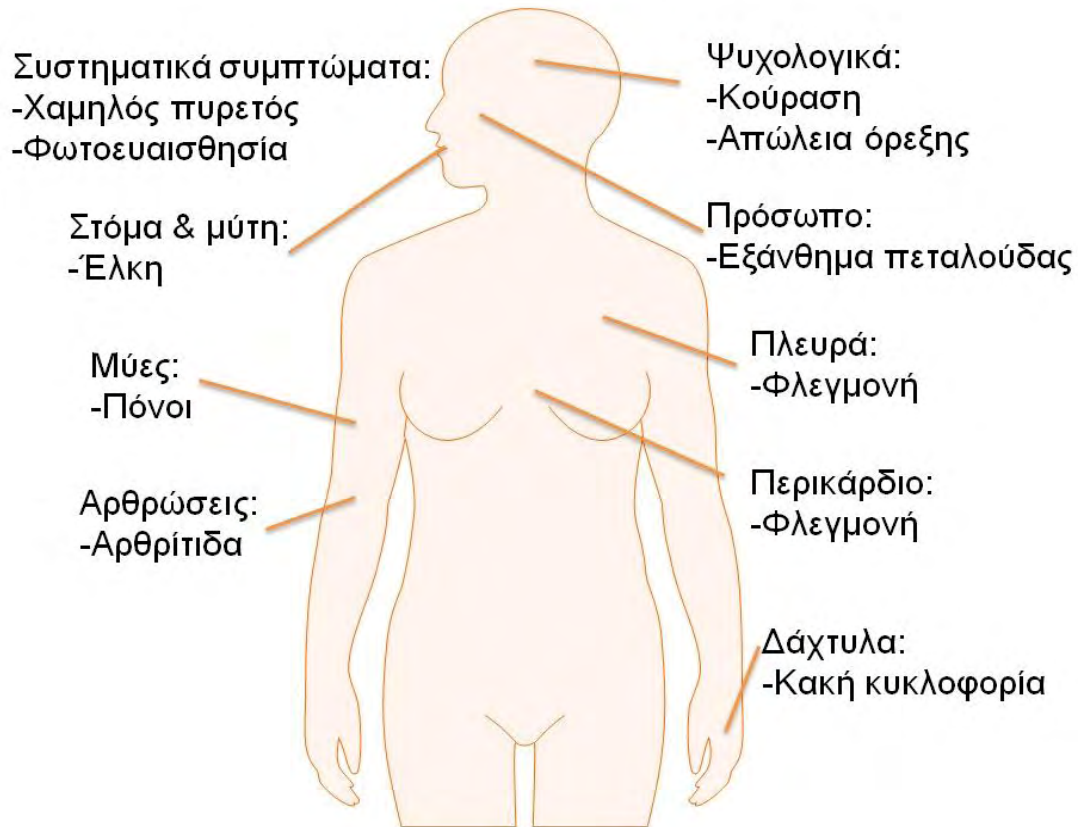
3. Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος

Ο ΣΕΛ είναι ένα χρόνιο, υποτροπιάζον, πολυσυστηματικό αυτοάνοσο νόσημα. Όπως και με τις υπόλοιπες αυτοάνοσες παθήσεις, το ανοσοποιητικό σύστημα επιτίθεται στα κύτταρα και τους ιστούς του σώματος προκαλώντας φλεγμονή και ιστολογική βλάβη. Η πρώτη διάγνωση της πάθησης, χρονολογείται από τον Μεσαίωνα, ενώ πήρε το όνομα "λύκος" γιατί οι δερματικές αλλοιώσεις που προκαλεί, μοιάζουν με δάγκωμα λύκου [76].

Ο ΣΕΛ μπορεί να επηρεάσει οποιοδήποτε μέρος του σώματος, αλλά περισσότερο συχνά προκαλεί βλάβες στη καρδιά, στις αρθρώσεις, στο δέρμα, στους πνεύμονες, στα αγγεία, στο ήπαρ, στα νεφρά και στο νευρικό σύστημα. Η πορεία της πάθησης είναι απρόβλεπτη. Ο ΣΕΛ μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε ηλικία αν και είναι περισσότερο συχνός στις γυναίκες. Η πλήρης ίαση της πάθησης είναι αδύνατη, ωστόσο τα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται μπορούν να ελέγξουν τα συμπτώματα σε μεγάλο βαθμό, να καθυστερήσουν την εξέλιξη και να προλαμβάνουν τις εξάρσεις της νόσου [76]. Η νόσος προσβάλλει όλες τις ηλικίες αλλά είναι συχνότερη στις γυναίκες ηλικίας 20-45 ετών, με αναλογία γυναίκες προς άντρες περίπου 9:1, ενώ η αναλογία στα παιδιά και στους ηλικιωμένους είναι 3:1 (4). Η νόσος του ΣΕΛ σύμφωνα με βάση τα κλινικά, ανοσολογικά και αιματολογικά ευρήματα διακρίνεται στο δισκοειδή (χρόνιο), στο συστηματικό (οξύ) και σε μια ενδιάμεση μορφή τον υποξύ ερυθηματώδη λύκο [76].

Ο ΣΕΛ μπορεί να εμφανιστεί με μια ποικιλία συμπτωμάτων και εκδηλώσεων από τον οργανισμό. Συνήθως, υπάρχουν πόνοι στους μύες, αίσθημα κόπωσης, δυσκαμψία, πόνος ή οίδημα στις αρθρώσεις των χεριών και ποδιών, και δερματικά εξανθήματα με συνοδό ευαισθησία του δέρματος του προσώπου κατά την έκθεση στον ήλιο. Επίσης, δεκατική πυρετική κίνηση, αυξημένη τριχόπτωση και άφθες στο στόμα. Συχνά, τα παραπάνω ενοχλήματα υπάρχουν για αρκετές εβδομάδες ή και μήνες προτού κάποιος απευθυνθεί σε γιατρό.

Συμπτώματα Συστηματικού Ερυθηματώδη Λύκου



Εικόνα 9. Ο ΣΕΛ είναι μια αυτοάνοση νόσος που μπορεί να προσβάλει μια μεγάλη ποικιλία ιστών και οργάνων.

Επιπλέον, οι ασθενείς με ΣΕΛ έχουν αναιμία, λευκοπενία, ή θρομβοπενία. Περίπου ένας στους πέντε ασθενείς με ΣΕΛ μπορεί να αναπτύξει πιο σοβαρές εκδηλώσεις από τα νεφρά (λεύκωματουρία, αιματουρία, υπέρταση), το νευρικό σύστημα ή άλλα εσωτερικά όργανα [76]. Τα συμπτώματα αυτά όμως δεν είναι ειδικά για το ΣΕΛ, καθώς μπορεί να εμφανιστούν και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις. Έτσι, ο γιατρός πρέπει να αποκλείσει αρχικά άλλες παθολογικές καταστάσεις με βάση το ιστορικό, την κλινική εξέταση και τις εργαστηριακές εξετάσεις.

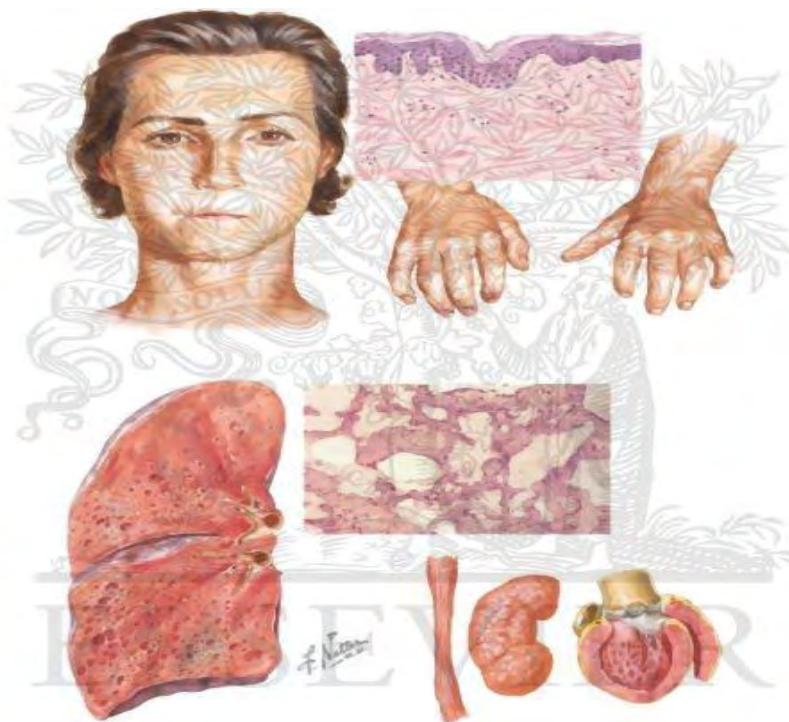
Παρόλο που ο ΣΕΛ μπορεί να εξελιχθεί σε σοβαρή και απειλητική για την ζωή ασθένεια, η έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία της έχει βελτιώσει κατά πολύ την πρόγνωση αυτών των ασθενών, δίνοντας τη δυνατότητα στους περισσότερους να ζουν μια σχεδόν φυσιολογική ζωή. Η παθοφυσιολογία της νόσου είναι εν πολλοίς άγνωστη με πλήθος γενετικών, ανοσολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων να εμπλέκονται στην παθογένεια αυτής [76]



Εικόνα 10. Ο ΣΕΛ ως πολυπαραγοντικό νόσημα.

4. Σκληρόδερμα- Συστημική Σκλήρυνση

Το σκληρόδερμα αποτελεί μια χρόνια συστηματική αυτοάνοση ασθένεια η οποία επηρεάζει με αυτοάνοσους μηχανισμούς κυρίως το δέρμα και χαρακτηρίζεται από ίνωση- σκλήρυνση του και από αγγειακές μεταβολές ενώ γνώρισμα της είναι και η παρουσία πολλών κυκλοφορούντων αυτοαντισωμάτων κάποια από τα οποία είναι και διαγνωστικά της νόσου. Ονομάζεται και συστηματική σκλήρυνση ενώ απαντάται κυρίως σε δύο τύπους την περιορισμένη συστηματική σκλήρυνση/σκληρόδερμα και την διάχυτη συστηματική σκλήρυνση/ σκληρόδερμα [77, 78]. Η συστηματική σκλήρυνση μπορεί να επεκταθεί και σε άλλα όργανα όπως το γαστρεντερικό σύστημα και τους πνεύμονες (δημιουργία ίνωσης), σε ορισμένες περιπτώσεις απειλητικές για την ζωή (πχ νεφρική προσβολή). Η νόσος φαίνεται ότι ξεκινάει ως προσβολή των μικρών αιμοφόρων αγγείων σε όλα τα όργανα. Πρώτα, καταστρέφονται τα ενδοθηλιακά αγγεία των αρτηριών και στην συνέχεια τα λεία μυϊκά κύτταρα, με την διαδικασία της απόπτωσης, όπου τελικά αντικαθίστανται από κολλαγόνο και άλλα ινώδη υλικά [77-79]



Εικόνα 11. Όργανα στόχοι της συστηματικής σκλήρυνσης

Δυστυχώς δεν υπάρχει θεραπεία για το σκληρόδερμα αλλά οι μεμονωμένες επιπλοκές των οργάνων μπορούν εν πολλοίς να περιορισθούν. Η πρόγνωση είναι γενικά καλή για ασθενείς με περιορισμένη έκταση δερματικών βλαβών που δεν εκδηλώνουν όμως πνευμονικές ή νεφρικές επιπλοκές. Αντίθετα, είναι δυσκολότερη για εκείνους με διάχυτες δερματικές εκδηλώσεις. Ιδιαίτερα επιρρεπείς στην ασθένεια είναι οι άντρες και τα άτομα σε προχωρημένη ηλικία. Η θνησιμότητα αυξάνεται κυρίως στις πνευμονικές, καρδιακές και νεφρικές επιπλοκές. Στις διάχυτες δερματικές εκδηλώσεις, το 70% των περιπτώσεων φτάνει μέχρι και τα 5 έτη επιβίωσης, ενώ το 55% έως και τα 10 έτη [79]

4.1 Περιορισμένη συστηματική σκλήρυνση

Η περιορισμένη συστηματική σκλήρυνση εκδηλώνεται κατά κύριο λόγο με δερματικές εκδηλώσεις στα χέρια, στους βραχίονες και στο πρόσωπο ενώ παλιότερα ονομαζόταν και σύνδρομο CREST το οποίο αποτελεί ακρωνύμιο από τις βασικές κλινικές εκδηλώσεις αυτής.

(C) Calcinosis (ασβέστωση): Υπάρχει εναπόθεση ασβεστίου στους συνδετικούς ιστούς. Η μικρή εναπόθεση μπορεί να εντοπιστεί με χρήση ακτίνων Χ ενώ παρατηρείται κυρίως στα δάκτυλα, στο πρόσωπο, στο κορμό, στα χέρια και στο δέρμα πάνω από τους αγκώνες και τα γόνατα. Υπάρχει κίνδυνος να εμφανιστούν επώδυνα έλκη όταν οι εναποθέσεις ασβεστίου ραγούν και επιμολυνθούν.

(R) Φαινόμενο Reynaud: Παθολογική κατάσταση κατά την οποία τα μικρά αιμοφόρα αγγεία των χεριών και/ή ποδιών αντιδρούν παθολογικά στο κρύο ή το άγχος και γίνονται άσπρα (ενδεικτικό μειωμένης αιματικής ροής στους ιστούς λόγω αγγειοσύσπασης), ενώ στη συνέχεια μπλε (λόγω ισχαιμίας της περιοχής). Καθώς επιστρέφει η ροή του αίματος επιστρέφουν στο φυσιολογικό κόκκινο-ροδαλό χρώμα. Οι ιστοί μπορούν να υποστούν βλάβες με αποτέλεσμα τη δημιουργία ουλών ή ακόμα και γάγγραινας.

(E) Esophageal dysfunction (δυσλειτουργία οισοφάγου): Οφείλεται στην έλλειψη φυσιολογικής λειτουργίας των λείων μυών του οισοφάγου με συνολικό αποτέλεσμα την έλλειψη των περιστατικών κινήσεων που οδηγεί στην κατάποση των τροφών.. Το αποτέλεσμα για τον ανώτερο οισοφάγο είναι η δυσκολία κατανάλωσης φαγητού (οδυνοφαγία)

(S) Sclerodactyly (σκληροδακτυλία): Παχύ και σφικτό δέρμα στα δάκτυλα, που προκύπτει από τις εναποθέσεις κολλαγόνου στα άνω στρώματα του δέρματος. Ο ασθενής δυσκολεύεται να λυγίσει τα δάκτυλα του.

(T) Telangiectasia (τηλεαγγειεκτασία): Μικρές κόκκινες κηλίδες στα χέρια και το πρόσωπο, που προκαλούνται από τη διόγκωση των μικροσκοπικών αιμοφόρων αγγείων. Αν και δεν είναι επώδυνες, μπορούν να δημιουργήσουν αισθητικά προβλήματα.

Βέβαια δεν είναι απαραίτητο να εμφανίζονται και τα πέντε κλινικά συμπτώματα προκειμένου να γίνει η διάγνωση

4.2 Διάχυτη συστηματική σκλήρυνση

Η διάχυτη συστηματική σκλήρυνση είναι μια ταχέως εξελισσόμενη νόσος η οποία μπορεί να επηρεάζει μεγάλη περιοχή του δέρματος. Είναι η μορφή εκείνη που μπορεί να εξελιχθεί σε σοβαρή λόγω επέκτασης και προσβολής και άλλων οργάνων όπως οι πνεύμονες, η καρδιά, το γαστρεντερικό σύστημα και οι νεφροί.

4.3 Επιδημιολογία

Είναι νόσος που γενικά έχει παγκόσμια κατανομή. Οι γυναίκες έχουν τέσσερις φορές περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν σκληρόδερμα απ' ότι οι άντρες [79]. Στις ΗΠΑ, η αναλογία είναι ένα στα χίλια άτομα. Τα παιδιά σπάνια προσβάλλονται από τον συστηματικό τύπο, αλλά το τοπικό σκληρόδερμα είναι κοινό και σε αυτά. Οι περισσότεροι ενήλικες

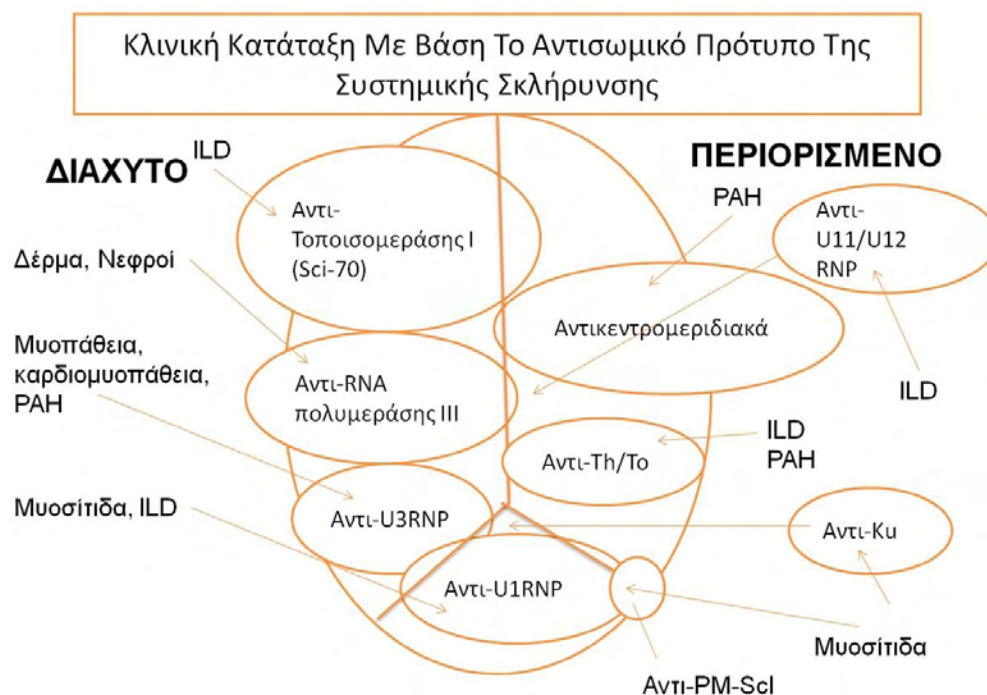
διαγιγνώσκονται μετά την τρίτη δεκαετία της ζωής τους και πριν την ηλικία των πενήντα. Η ασθένεια έχει υψηλά ποσοστά εμφάνισης στην γηγενή American Choctaw φυλή και στις Αφροαμερικανούς [79].

4.4 Διάγνωση του σκληροδέρματος

Το τυπικό σκληρόδερμα κλασικά ορίζεται ως συμμετρική πάχυνση του δέρματος, με περίπου το 90% των περιπτώσεων να παρουσιάζουν φαινόμενο Raynaud, ενώ στην διάγνωση μπορεί επίσης να βοηθήσει η τριχοειδοσκόπηση (ειδικές αλλαγές στην δομή και την κατασκευή των υπονύχιων τριχοειδών αγγείων) καθώς και παρουσία ειδικών αντιπυρηνικών αντισωμάτων. Το ατυπικό σκληρόδερμα από την άλλη, μπορεί να προκαλέσει οποιαδήποτε παραλλαγή των παραπάνω συμπτωμάτων καμιά φορά χωρίς να επηρεάσει εμφανώς το δέρμα ή απλά προκαλώντας πρήξιμο των δακτύλων.

Τα ειδικά αυτοαντισώματα είναι κυρίως τα αντισώματα έναντι τοποϊσομεράσης (στις περιπτώσεις διάχυτης συστημικής μορφής), τα αντικεντρομεριδιακά αντισώματα (περιπτώσεις περιορισμένης συστημικής μορφής) και λιγότερο συχνά τα αντισώματα έναντι της RNA πολυμεράσης III.. Πληθώρα άλλων αυτοαντισωμάτων, όπως το anti-U3, μπορούν επίσης να εντοπιστούν, μερικά εκ των οποίων σχετίζονται με πιθανές επιπλοκές της νόσου [79].

Τέλος η συστηματική σκλήρυνση μπορεί να αποτελέσει μέρος μιας άλλης αυτοάνοσης νοσολογικής οντότητας που έχει και άλλα στοιχεία αυτοανοσίας και που ονομάζεται μεικτή νόσος του συνδετικού ιστού.



Εικόνα 12. Αυτοαντισώματα και κλινικές εκδηλώσεις της συστηματικής σκλήρυνσης.

4.5 Επιπλοκές του σκληροδέρματος

Πνεύμονες: Ένα σημαντικό ποσοστό μπορεί να εμφανίσει πνευμονική ίνωση με αποτέλεσμα τα άτομα αυτά να εμφανίζουν αναπνευστικά προβλήματα, με δυσκολία αναπνοής, και έντονο βήχα.

Νεφροί: Η νεφρική κρίση του σκληροδέρματος στην οποία αναπτύσσεται κακοήγη υπέρταση προκαλεί οξεία νεφρική ανεπάρκεια. Κάποτε αποτελούσε μια κοινή αιτία θανάτου αλλά τώρα δυνητικά είναι θεραπεύσιμη με την χρήση ανοσοτροποποιητικών φαρμάκων.

Στόμα: απώλεια της βλεννογόνου των ούλων, υποχώρηση των ούλων και διάχυτο άνοιγμα του περιοδοντικού συνδέσμου είναι κάποια από τα συμπτώματα που παρατηρούνται. Η δυσφαγία που μπορεί να προκληθεί οφείλεται κυρίως στην εναπόθεση κολλαγόνου στον γλωσσικό και οισοφαγικό υποβλεννογόνο χιτώνα.

Πεπτικό σύστημα: προσβολή του οισοφάγου μπορεί να δυσκολέψει την κατανάλωση φαγητού, επίσης γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση είναι σύμπτωμα που συναντάται συχνά. Το στομάχι μπορεί να αναπτύξει αγγειακή υπερέκταση του γαστρικού άντρου που περιστασιακά μπορεί να αποτελέσει εστία αιμορραγίας. Το έντερο όταν προσβληθεί γίνεται υποτονικό και προκαλεί πόνο και τυμπανικότητα, ενώ μπορεί να εκδηλωθεί και ως χρόνιο διαρροϊκό σύνδρομο.

Δέρμα και σύνδεσμοι: Το σύνδρομο του καρπιαίου σωλήνα είναι ιδιαίτερα κοινό, όπως είναι και η αδυναμία μυών, ο πόνος συνδέσμων και η ακαμψία.

Καρδιά: Σπάνια μπορεί να έχουμε καρδιακή ίνωση η οποία οδηγεί σε καρδιακή ανεπάρκεια και επηρεασμό του καρδιακού ρυθμού με πολλές αρρυθμίες [79-82].

Complications of systemic sclerosis



Εικόνα 13. Επιπλοκές σκληροδερματος σε διάφορα όργανα.

4.6 Θεραπεία του σκληροδέρματος

Δεν υπάρχει καμία θεραπεία για το σκληρόδερμα που να οδηγεί σε πλήρη ίαση της νόσου και αυτό κυρίως οφείλεται στο ότι η ακριβής αιτία εμφάνισής αλλά και η παθοφυσιολογία της νόσου είναι άγνωστη. Μεμονωμένες θεραπείες έχουν ως σκοπό να εξομαλύνουν τα συμπτώματα της ασθένειας και να επιβραδύνουν την ταχύτητα εμφάνισης ορισμένων επιπλοκών. Για παράδειγμα, οι ασθενείς που έχουν διαγνωσθεί με το φαινόμενο Raynaud μπορούν να θεραπευτούν με την χρήση ουσιών που αυξάνουν την αιματική ροή στα δάχτυλα, περιλαμβάνοντας νιφεδιπίνη, αμλοδιπίνη, διλτιαζέμη κ.α.

Επειδή το σκληρόδερμα είναι μια αυτοάνοση ασθένεια, ένας από τους πιο σημαντικούς τρόπους θεραπείας περιλαμβάνει την χορήγηση ανοσοκατασταλτικών και ανοσοτροποποιητικών ουσιών. Αυτά τα φάρμακα περιλαμβάνουν την methotrexate, cyclophosphamide, azathioprine, and mycophenolate. Η ίνωση του δέρματος έχει επίσης βελτιωθεί εν μέρει με ουσίες όπως D-πενικιλαμίνη, κολχίνη, PUVA, και κυκλοσπορίνη [79].

4.7 Πρόγνωση του σκληροδέρματος

Οι ασθενείς με μορφέα ή περιορισμένο σκληρόδερμα έχουν γενικά μικρές επιπλοκές και δεν επηρεάζεται ιδιαίτερα το συνολικό προσδόκιμο επιβίωσης των ατόμων αυτών. Αντίθετα, τα άτομα σε προχωρημένο στάδιο της ασθένειας έχουν μεγαλύτερη θνησιμότητα, λόγω αυτής.

Αντίθετα άτομα με σοβαρή, ταχέως εξελισσόμενη ασθένεια - μια κατηγορία που αποτελεί λιγότερο από το 10% του συνολικού αριθμού των ασθενών με διάχυτο σκληρόδερμα - μπορεί να έχουν έως και 50% πιθανότητα για πενταετής επιβίωση [79].

5. Σκλήρυνση Κατά Πλάκας-Πολλαπλή Σκλήρυνση

Η πολλαπλή σκλήρυνση (MS), επίσης γνωστή ως σκλήρυνση κατά πλάκας ή διάχυτη εγκεφαλομυελίτιδα, είναι μία φλεγμονώδης ασθένεια του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος κατά την οποία καταστρέφονται τα εμύελα καλύμματα των νευρικών κυττάρων στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη. Αυτή η καταστροφή επηρεάζει την ικανότητα τμημάτων του νευρικού συστήματος να επικοινωνούν, με αποτέλεσμα ένα ευρύ φάσμα συμπτωμάτων, που συμπεριλαμβάνουν τόσο σωματικά, πνευματικά, όσο και συχνά ψυχιατρικά προβλήματα καθώς και ατροφία του εγκεφάλου και της σπονδυλικής στήλης. Είναι προφανές λοιπόν ότι η σκλήρυνση κατά πλάκας είναι μια νόσος με πολλές διαφορετικές μορφές, με συμπτώματα τα οποία να εμφανίζονται είτε ως μεμονωμένες κρίσεις (υποτροπιάζουσες μορφές) είτε να επιδεινώνονται σταδιακά και αθροιστικά με την πάροδο του χρόνου (προοδευτικές μορφές). Μεταξύ των κρίσεων, τα συμπτώματα μπορεί να εξαφανίζονται τελείως, ωστόσο συχνά εμφανίζονται μόνιμα νευρολογικά προβλήματα, ειδικά καθώς προχωράει η ασθένεια [83].

5.1 Αιτία, παθοφυσιολογία και διάγνωση

Η πολλαπλή σκλήρυνση εμφανίζεται κυρίως σε ασθενείς μεταξύ 20 και 45 ετών ενώ η συχνότητα της στον πληθυσμό είναι 1:1000 Αν και τα αίτια δεν είναι ακόμα σαφή, ωστόσο πρόκειται για ένα πολυπαραγοντικό νόσημα στο οποίο συμμετέχει τόσο το περιβάλλον όσο και γενετικοί παράγοντες.

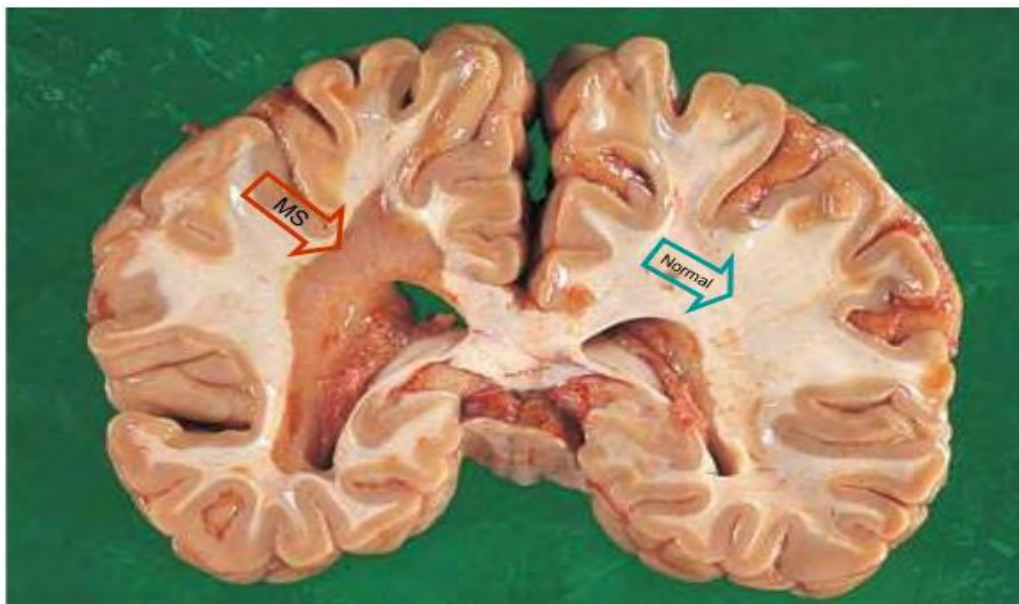
Όσον αφορά την παθολογοανατομία της σκλήρυνσης κατά πλάκας χαρακτηρίζεται διάσπαρτες ουλές 1 mm μέχρι αρκετά cm σε μέγεθος κατά κύριο λόγο στη λευκή ουσία του εγκεφάλου και δευτερευόντως στη σπονδυλική στήλη.

Κατά τη δημιουργία νέων πλακών έχουμε την απομυελίνωση και συνεπώς την απογύμνωση των νευραξόνων αρχικά ενώ μονοπύρρηνα και λεμφοκύτταρα διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό σπεύδοντας στο σημείο εκείνο

προκαλώντας εντονότερη φλεγμονή και επιπλέον καταστροφή σε σημεία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Στη συνέχεια πολλαπλασιάζονται τα αστροκύτταρα στη περιοχή της φλεγμονής. Τέλος οι περιοχές των πλακών αποτελούν σχετικά ακυτταρικές δομές μέσα στις οποίες οι γυμνοί νευράξονες βρίσκονται περικυκλωμένοι από αστροκύτταρα και είναι πλήρως αλειουργικοί ως προς την ικανότητα μεταβίβασης του νευρικού ερεθίσματος..

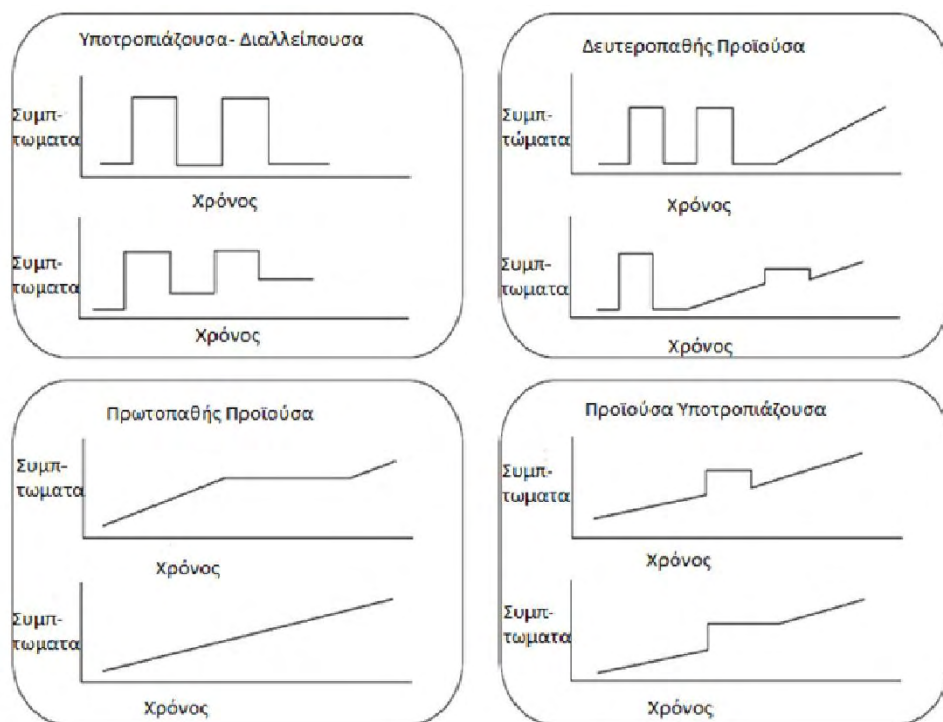


Εικόνα 14. Εγκέφαλος ασθενούς με σκλήρυνση κατά πλάκας .(Neurology and Neurosurgery Illustrated 2010 pg 520)



Εικόνα 15. Παθολογοανατομικό παρασκεύασμα ατόμου με MS. Επισημαίνονται οι φυσιολογικές και παθολογικές περιοχές της λευκής ουσίας.

Ως προς τον τρόπο κλινικής εξέλιξης της νόσου αυτή μπορεί να εμφανισθεί και να εξελιχθεί με τέσσερις κυρίως τύπους-μορφές όπως φαίνεται και στην εικόνα 13. Η νόσος μπορεί να έχει μια προοδευτική εξέλιξη οπότε και να χαρακτηρίζεται ως προϊούσα ή να εμφανίζονται εξάρσεις με συμπτώματα οπότε να ονομάζεται διαλείπουσα. Βέβαια ακόμα και έτσι στο μεσοδιάστημα μεταξύ των κρίσεων μπορεί να εξαφανίζονται τελείως τα συμπτώματα οπότε η νόσος να είναι υποτροπιάζουσα διαλείπουσα (διάγραμμα 1- πάνω αριστερά) ή να εξελίσσονται αργά τα συμπτώματα (διάγραμμα 4-κάτω δεξιά) και χαρακτηρίζεται ως προϊούσα υποτροπιάζουσα. Επίσης μπορεί να είναι πρωτοπαθής προϊούσα με αργή και σταθερή εξέλιξη κατά το πέρασμα του χρόνου (διάγραμμα 3-κάτω αριστερά) ή να ξεκινά με μια ή δυο αρχικές κρίσεις και στην συνέχεια να εξελίσσεται ως προϊούσα (διάγραμμα 2-πάνω δεξιά) όπου αποτελεί την δευτεροπαθή προϊούσα. Γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι πρόκειται για μια νόσο με διάχυτη εξέλιξη συμπτωμάτων η οποία δύναται να μεταπηδά από την μια κατάσταση στην άλλη.



Εικόνα 16. Οι 4 κύριοι τύποι MS ως προς τον τρόπο της κλινικής τους εκδήλωσης.

Η κλινική εικόνα της MS παρουσιάζει ομοιότητες με πληθώρα άλλων νοσημάτων κάτι που καθιστά αρκετά δύσκολη την διάγνωση της. Καθοριστική για την διάγνωση είναι η απεικόνιση με μαγνητικό τομογράφο (MRI-πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός).

Όπως προαναφέραμε ήδη τα αίτια της σκλήρυνσης κατά πλάκας μπορεί να είναι περιβαλλοντικοί ή και γενετικοί παράγοντες [84]. Στα περιβαλλοντικά αίτια περιλαμβάνονται η γεωγραφική θέση, το κλίμα, η εθνικότητα, το φύλο, οι ιοί, το κάπνισμα ενώ ενδέχεται να παίζουν ρόλο και η διατροφή, οι ορμόνες και ίσως κάποια εμβόλια. Γενετικά έχειδειχθεί ότι συνδέεται με γονίδια που εντοπίζονται κυρίως στο μείζων σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (Τάξη I: HLA-A *02, HLA-B *44, HLA-C *05 και Τάξη II: HLA DR2, HLA DR3, HLA DR4) αλλά και σε 19 γενετικούς τόπου εκτός από αυτό που σχετίζονται με λειτουργίες του ανοσοποιητικού όπως την διέγερση του, την διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των λεμφοκυττάρων, την σηματοδότηση και την μεταφορά κυττάρων του ανοσοποιητικού μέσα στα αιμοφόρα αγγεία. Ο συνδυασμός των αλληλόμορφων κινδύνου είναι αυτός που αυξάνει την γενετική προδιάθεση ενώ η φύση των γενετικών τόπων ενισχύει περισσότερο την εμπλοκή του ανοσοποιητικού στο νόσημα και πλέον υπάρχει έντονη τάση να χαρακτηρίζεται ως αυτοάνοσο νόσημα [84]

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι περιοχές που βρίσκονται κοντά στην Ανταρκτική εμφανίζουν μεγαλύτερη συχνότητα κρουσμάτων ενώ σχεδόν μηδενική συχνότητα έχουν οι Αφρικανικές χώρες και η Αυστραλία [85]. Εκτός λοιπόν από τη γεωγραφική θέση το κλίμα και την εθνικότητα αυτό οδήγησε τους επιστήμονες να σκεφτούν πως μπορεί να υπάρχει σύνδεση με την βιταμίνη D [86]. Αφενός η έκθεση στον ήλιο έχει μια προστατευτική δράση, αφετέρου σε πειραματικά μοντέλα με ποντίκια όπου προκαλείται ΣΚΠ (αποσιωπώντας τα γονίδια των πρωτεϊνών μυελίνης), εάν χορηγηθεί εξωγενώς 1,25-διυδροξύβιταμίνη D αποτρέπεται σε σημαντικό βαθμό η εμφάνιση της νόσου, ενώ σε ποντίκια που είχαν παντελή έλλειψη βιταμίνης D επιταχύνθηκε η εμφάνιση της MS [86, 87]. Το κάπνισμα από την άλλη συνεισφέρει στην εμφάνιση της πολλαπλής σκλήρυνσης με τους καπνιστές να έχουν αυξημένα ποσοστά κατά 1,3 – 1,8% για ανάπτυξη νόσου ενώ συνδέεται

με την αυξημένη πιθανότητα μετάβασης της ασθένειας σε δευτεροπαθή προϊόντα. Επιπλέον αυξάνει την πιθανότητα οξέως επεισοδίου και μετά την καταστροφή της μυελίνης υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι επάγει την εμφάνιση δευτεροπαθούς προϊόντας ΣκΠ [88].

Σε ότι αφορά την σχέση της νόσου με το φύλο, τα τελευταία 100 χρόνια η αναλογία 1:1 αυξήθηκε σε 3:1 με τις γυναίκες να προσβάλλονται περισσότερο. Παρόλα αυτά δε σχετίζεται με το χρωμόσωμα X αλλά ίσως στη διαφορετική μορφολογία του εγκεφάλου μεταξύ των 2 φύλων, σε διαφορές στο ανοσοποιητικό τους αλλά και σε ορμονικές διαφορές [85, 88, 89]

Τέλος οι ιοί οι οποίοι φαίνεται να σχετίζονται με την πολλαπλή σκλήρυνση είναι ο Epstein-barr (EBV), ο Herpes virus 6 (HHV6) διάφοροι Ρετροϊοί και μάλλον τα Chlamydia pneumonia. In vitro μελέτες έχουν δείξει ομολογία μεταξύ αμινοξικών αλληλουχιών των πρωτεϊνών του EBV, του EBNA-1 και της βασικής πρωτεΐνης της μυελίνης κάτι που θα προκαλούσε τις ανοσολογικές αποκρίσεις έναντι του EBV να επάγουν συγχρόνως και αυτοαντιδραστικότητα. [90] Σε γενετικά συμβατούς ξενιστές, υπό κατάλληλες συνθήκες το κατώφλι για αυταντιδραστικές αντιδράσεις θα μπορούσε να είναι χαμηλότερο. Για παράδειγμα η ανοσολογική αντίδραση στον EBV μπορεί να διαμορφώνεται από τη βιταμίνη D και έτσι ακόμη και υποκλινική νόσος από EBV μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση των αυτοαντιδραστικών Τ κυττάρων. Παρόλα αυτά η οριστική απόδειξη για ένα ρόλο του EBV ή άλλου μικροβίου στην παθογένεια της νόσου δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί [90, 91] .

5.2 Σημεία και συμπτώματα

Ένα άτομο με πολλαπλή σκλήρυνση μπορεί να εμφανίζει σχεδόν οποιοδήποτε νευρολογικό σύμπτωμα, με τα οπτικά, κινητικά και αισθητηριακά προβλήματα να είναι τα πιο συνηθισμένα όπως και η δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος [83, 89] Τα συγκεκριμένα συμπτώματα ορίζονται από τις τοποθεσίες των βλαβών στο νευρικό σύστημα και μπορεί να περιλαμβάνουν απώλεια της αίσθησης ή αλλαγές στην αίσθηση όπως

καυσαλγία, αιμωδίες, μυϊκή αδυναμία, πολύ έντονα τενόντια αντανακλαστικά, μυϊκούς σπασμούς, ή δυσκολία στην κίνηση, δυσκολίες με τον συντονισμό και την ισορροπία (αταξία), προβλήματα με την ομιλία ή την κατάποση, προβλήματα όρασης (νυσταγμός, οπτική νευρίτιδα ή διπλωπία όρασης), αίσθημα κόπωσης, οξύ ή χρόνιο πόνο και προβλήματα της ουροδόχου κύστεως και του εντέρου. Οι δυσκολίες στη σκέψη και τα συναισθηματικά προβλήματα όπως η κατάθλιψη ή η ευμετάβλητη διάθεση είναι επίσης συνηθισμένα. Το φαινόμενο του Uhthoff δηλαδή η επιδείνωση των συμπτωμάτων λόγω της έκθεσης σε θερμοκρασίες υψηλότερες από τις συνήθεις και το σημείο Lhermitte δηλαδή μία αίσθηση ηλεκτρισμού που διατρέχει την πλάτη κατά την κάμψη του αυχένα, είναι ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της πολλαπλής σκλήρυνσης. Η κύρια μέτρηση της αναπηρίας και της σοβαρότητας της νόσου είναι με την χρήση της διευρυμένης κλίμακας εκτίμησης της κατάστασης αναπηρίας (EDSS), αν και τα τελευταία χρόνια εμφανίζονται όλο και περισσότερες κλίμακες εκτίμησης της βαρύτητας [89].

Η κατάσταση ξεκινάει στο 85% των περιπτώσεων συνήθως ως κλινικά απομονωμένο σύνδρομο μέσα σε λίγες ημέρες με το 45% να παρουσιάζει κινητικά ή αισθητηριακά προβλήματα, το 20% να έχει οπτική νευρίτιδα και το 10% να έχει συμπτώματα που σχετίζονται με δυσλειτουργία του εγκεφαλικού στελέχους, ενώ το υπόλοιπο 25% έχει περισσότερες από μία από τις προηγούμενες δυσκολίες. Η πορεία των συμπτωμάτων συμβαίνει σε δύο βασικά μοτίβα αρχικά: είτε ως επεισόδια αιφνίδιας επιδείνωσης που διαρκούν από μερικές ημέρες μέχρι μήνες (που ονομάζονται υποτροπές, παροξυσμοί, προσβολές, κρίσεις ή αναλαμπές) ακολουθούμενα από βελτίωση (στο 85% των περιπτώσεων) είτε ως σταδιακή επιδείνωση με την πάροδο του χρόνου χωρίς περιόδους ανάκαμψης (στο 10-15% των περιπτώσεων). Επίσης μπορεί να λάβει χώρα ένας συνδυασμός αυτών των δύο μοτίβων ή τα άτομα μπορεί να ξεκινήσουν μία υποτροπιάζουσα και διαλείπουσα πορεία, η οποία αργότερα γίνεται προοδευτική. Οι υποτροπές συνήθως δεν είναι προβλέψιμες και συμβαίνουν απροειδοποίητα. Οι παροξύνσεις σπάνια συμβαίνουν πιο συχνά από δύο φορές ανά έτος [88]. Κάποιες υποτροπές, ωστόσο, προηγούνται από συνήθη ερεθίσματα και λαμβάνουν χώρα συχνότερα κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού. Παρομοίως, οι ιογενείς λοιμώξεις

όπως το κοινό κρυολόγημα, η γρίπη ή η γαστρεντερίτιδα αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισής τους. Το άγχος μπορεί επίσης να προκαλέσει κρίση [88]. Η εγκυμοσύνη μειώνει τον κίνδυνο της υποτροπής, ωστόσο κατά τους πρώτους μήνες μετά τον τοκετό ο κίνδυνος αυξάνεται. Συνολικά, η εγκυμοσύνη δεν φαίνεται να επηρεάζει την μακροπρόθεσμη αναπηρία [88].

5.3 Θεραπεία

Παρότι δεν υπάρχει συγκεκριμένη αγωγή για τη θεραπεία της πολλαπλής σκλήρυνσης αντιμετωπίζεται μέχρι στιγμής είτε με φάρμακα που ανακουφίζουν από τα συμπτώματα είτε με φάρμακα που τροποποιούν την εξέλιξη της νόσου. Σε περίπτωση οξέων επεισοδίων συνηθίζεται η ενδοφλέβια χορήγηση υψηλών δόσεων κορτικοστεροειδών (πχ μεθυλπρεδνιζολόνη) ή η πλασμαφαίρεση (ανοχή κορτικοστεροειδών) ενώ στην υποτροπιάζουσα-διαλείπουσα πολλαπλή σκλήρυνση χρησιμοποιούνται φάρμακα πρώτης γενιάς (π.χ. ιντερφερόνη βήτα-1β, γλατιραμέρη οξική), φάρμακα δεύτερης γενιάς (π.χ. ναταλιζουμάμπη) φάρμακα τρίτης γενιάς (π.χ. μιτοξανδρόνη) και τέλος νέα φάρμακα όπως η φιγκολιμόδη, η τεριφλουνομίδη και το φουμαρικό διμεθύλιο. Τα τελευταία χρόνια η νόσος προσεγγίζεται με νέες μεθόδους γονιδιακής αλλά και κυτταρικής θεραπείας χωρίς όμως προς το παρόν να υπάρχουν άμεσα και εμφανή αποτελέσματα.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΣΚΟΠΟΣ

A. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η παθογένεση της νόσου της συστηματικής σκλήρυνσης δεν είναι πλήρως κατανοητή [77, 78]. Έχει πάντως βρεθεί ότι εικόνα μικροαγγειοπάθειας όπως αυτή ανιχνεύεται από την τριχοειδοσκόπηση, καθώς και autoAbs μπορεί να εμφανιστούν χρόνια πριν από την εμφάνιση ίνωσης. Πολλά autoAbs όπως έχουμε πει ανιχνεύονται σε ασθενείς με SSC, ειδικά της νόσου autoAbs, όπως αντι-τοπιοϊσομεράσης I (αντι-Topo I ή αντι-Scl70) και έναντι κεντρομεριδίου (αντι-CEN) Abs που είναι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες για την διάγνωση της SSc [92]. Πολλά άλλα autoAbs φαίνεται επίσης να είναι παθογενετικά, δεδομένου ότι προωθούν τη φλεγμονή και ίνωση. Τέτοια αυτοαντισώματα είναι τα έναντι ενδοθηλιακού κυττάρου [93, 94] αντι-ινοβλασικά [6], αντι-μεταλλοπρωτεΐνάσης-3 [95] αντι-fibrillin-1 [96] αντι-αγγειοτασίνης II τύπου 1 υποδοχέα [97] και αντισώματα έναντι υποδοχέα αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων [98, 99].

Η παρουσία πολλών autoAbs πιθανώς να δείχνει ότι υπάρχει σημαντική ενεργοποίηση της κλασσικής οδού του συμπληρώματος. Πράγματι, μελέτες στη δεκαετία του ογδόντα έδειξαν αυξημένη ενεργοποίηση συμπληρώματος σε ασθενείς με SSC, όπως αυτή φαίνεται από τα αυξημένα επίπεδα του θραύσματος του συμπληρώματος C3d και C4d [100] στο πλάσμα. Ενεργοποιημένο συστατικό συμπληρώματος (C5b-9) καθώς και υποδοχέας για C5a (C5aR) έχουν ανιχνευθεί σε μικροαγγειακές εστίες σεβιοψίες δέρματος ασθενών με SSc [101]. Επίσης, μειωμένη λειτουργία του συμπληρώματος (C1, C4, C3) ανιχνεύθηκε σε SSc [102] και μειωμένα επίπεδα C3 και / ή C4 ορού ανιχνεύθηκε στο 14% των ασθενών με SSC και τα ευρήματα αυτά συνδέονται με εμφάνιση αγγειίτιδας και μυοσίτιδας [103]. Υπό το πρίσμα αυτών των ενδείξεων σκεφτήκαμε να μελετήσουμε την

συχνότητα εμφάνισης αντισωμάτων έναντι C1q σε ασθενείς με SSc, τα οποία έχουν ανιχνευθεί σε άλλο ρευματολογικό νόσημα όπως ο ΣΕΛ και βρέθηκε ότι σχετίζονται με εμφάνιση νευρικής προσβολής. Αντίθετα μελέτες που να αναφέρονται στην παρουσία των αντι-C1q αντισωμάτων δεν έχουν γίνει.

B. ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ

Η σκλήρυνση κατά πλάκας (MS) όπως αναφέραμε τείνει να χαρακτηριστεί και αυτή ως αυτοάνοση νόσος. Είναι μια πρωτότυπη αυτοάνοση απομυελινωτική νόσος, η αιτιολογία της οποίας παραμένει ελάχιστα κατανοητή.

Ο ρόλος της ενεργοποίησης του συμπληρώματος στην MS παραμένει αμφιλεγόμενος αν και πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει έναν σημαντικό ρόλο του για την ενεργοποίηση του C1q-C3 άξονα σε συνάπτικές δομές του ιππόκαμπου σε ασθενείς με MS [104]. Αποδεικτικά στοιχεία που εμπλέκουν το συμπλήρωμα στο MS προήλθαν αρχικά από μελέτες που αφορούσαν την μέτρηση των πρωτεϊνών του συμπληρώματος σε ιστό εγκεφάλου ασθενών με MS, το πλάσμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) [105-107]. Αρκετές ανοσοιστοχημικές μελέτες επίσης περιγράφουν την πρωτεϊνών συμπληρώματος στο κέντρο αλλά σε και γύρω από τις παθολογικές περιοχές στο MS [108-110].

Το C1q έχει αναφερθεί όπως αναφέραμε διεξοδικά στο κεφάλαιο των ρευματικών νοσημάτων ως ένας στόχος παραγωγής αυτοαντισωμάτων σε διάφορες αυτοάνοσες ασθένειες. Αντίθετα μελέτες που να αφορούν την παρουσία αντι-C1q αντισώματα σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας δεν έχουν πραγματοποιηθεί σε μεγάλη λεπτομέρεια. Σκοπός της μελέτης αυτής είναι ο προσδιορισμός της συχνότητας των αντι-C1q αντισωμάτων σε ασθενείς με MS και η ανεύρεση πιθανής συσχέτισης με κλινικοεργαστηριακές παραμέτρους της νόσου.

1. Ασθενείς Και Μέθοδος

1.1 Ασθενείς και ομάδες ελέγχου

A. ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Εξετάστηκαν εβδομήντα-πέντε (75) ασθενείς με σκληρόδερμα (61 γυναίκες, με διάμεσο ηλικίας 59.0 χρόνια, εύρος τιμών 25-77 χρόνια, από τους οποίους 40 είχαν περιορισμένο δερματικό σκληρόδερμα [lcSSc], και οι υπόλοιποι 35 διάχυτη μορφή σκληροδέρματος [dcSSc]. 38 ασθενείς εμφάνιζαν δακτυλικά έλκη στην παρούσα φάση ενώ 20 ασθενείς είχαν ιστορικό πνευμονικής ίνωσης. Τα βασικά δημογραφικά, κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον πίνακα 1. Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν 52 ασθενείς με συστηματικό ερυθρελάτη (ΣΕΛ), 25 ασθενείς με σύνδρομο Sjogren, 19 ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, 42 ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα, και 55 υγιή άτομα. Όλοι οι ασθενείς της ομάδας ελέγχου και οι υγιείς ήταν ταυτισμένοι ως προς το φύλο και την ηλικία (μη στατιστικά σημαντική διαφορά) σε σχέση με τα άτομα με συστηματική σκλήρυνση.

Πινάκας 4. Δημογραφικά, κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά των SSc ασθενών που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη

| Χαρακτηριστικά | Ολικοί SSc ασθενείς (n=75) | |
|--------------------------------------|----------------------------|--------|
| Επιδημιολογικά Χαρακτηριστικά | | |
| Μέσος όρος ηλικίας (±SD) | 59,5 | 14,5 |
| Γυναίκες, n (%) | 61 | 81,33% |
| Άντρες , n (%) | 14 | 18,67% |
| Τύπος SSc | | |
| Περιορισμένο n (%) | 40 | 53.3 |
| Διάχυτο, n (%) | 35 | 46.7 |

| Κλινικά χαρακτηριστικά | | |
|---|----|------|
| Έλκη, n (%) | 38 | 50.7 |
| Πνευμονική ίνωση, n (%) | 20 | 26.7 |
| Έλκη και/ή Πνευμονική ίνωση, n (%) | 44 | 58.7 |
| Έλκη και Πνευμονική ίνωση n (%) | 16 | 21.3 |
| SSc-ειδικά αυτοαντισώματα*- n=51 | | |
| αντί-κεντρομεριδιακά, n (%) | 13 | 25.5 |
| αντί-Τopo I, n (%) | 20 | 39.2 |
| αντί-RNA III pol, n (%) | 7 | 13.7 |
| Anti-CEN or Scl-70 or RNA III pol, n(%) | 38 | 74.5 |

Οι ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση ελάμβαναν ως βασικό θεραπευτικό σχήμα χαμηλή δόση στεροειδών (<7.5 mg/day) μαζί με αζαθειοπρίνη ή μεθοτρεξάτη.

Όλοι οι ασθενείς με SSc ελέχθησαν για παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων με έμμεσο ανοσοφθορισμό και ήταν θετικοί με τίτλο αραίωσης >1/160. Όλοι οι ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια του American College of Rheumatology για να χαρακτηριστούν ως σκληρόδερμα, και παρακολουθούνταν στα Εξωτερικά Ιατρεία της Ρευματολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, στην κεντρική Ελλάδα.

B. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν 129 ασθενείς με MS (102 ασθενείς μεRRMS και 27 με SPMS, 39 άνδρες και 90 γυναίκες, με μέση ηλικία 42.4 ± 11.7 έτη για την παρουσία αντισωμάτων έναντι C1q. Τα βασικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών που φαίνονται στον πίνακα 2, συμπεριλαμβάνουν το φύλο και την ηλικία των ασθενών, τον τύπο της νόσου (RRMS ή SPMS), την

διάρκεια της νόσου, τον αριθμό των υποτροπών και το σκορ EDSS (Expanded Disability Status Scale) το οποίο χρησιμοποιείται ως παράμετρος βαρύτητας της νόσου. Οι ασθενείς παρακολουθούνταν στα Εξωτερικά Ιατρεία της Νευρολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, στην Κεντρική Ελλάδα.

Γραπτή συγκατάθεση λήφθηκε από όλους τους ασθενείς και τα άτομα της ομάδας ελέγχου καθώς και τους υγιείς NCs. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Τοπική Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας.

1.2 Μέθοδος

Τα αντισώματα έναντι C1q (anti-C1q) μετρήθηκαν με την μέθοδο της ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμα kit (INOVA QUANTA Lite® IgG anti-C1q, Diagnostics, Inc. San Diego, CA, USA). Αυτή η ELISA είναι σχεδιασμένη για την in-vitro μέτρηση των κυκλοφορούντων συμπλόκων ανοσοσυμπλεγμάτων (CIC) που δεσμεύουν το C1q που υπάρχει στον ανθρώπινο ορό. Οι συνθήκες των πειραμάτων έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Πίνακας 5. Δημογραφικά, κλινικά και ανοσολογικά χαρακτηριστικά των MS ασθενών που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη.

| Χαρακτηριστικά | Ολικοί MS ασθενείς | |
|--------------------------------------|--------------------|------|
| <i>Επιδημιολογικά Χαρακτηριστικά</i> | | |
| Γυναίκες | 91 | 70,5 |
| Άνδρες | 38 | 29,5 |
| Ηλικία | 42,43±11,7 | |
| Ηλικία έναρξης | 31,22 ± 10,2 | |
| <i>Τύπος MS</i> | | |

| | | |
|-------------------------------|------------|-----|
| RRMS | 102 | 79% |
| SPMS | 27 | 21% |
| <i>Κλινικά χαρακτηριστικά</i> | | |
| Διάρκεια της νόσου | 11,2 ± 7,2 | |
| EDSS | 3,3 ± 2,1 | |
| Αριθμός υποτροπών | 5,1 ± 3,6 | |

Εν συντομία, κάθε ορός ασθενούς αραιώθηκε 1:100 σε ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα (με αυξημένη συγκέντρωση NaCl ώστε να υπάρχει υψηλή ιονική ισχύς), και 100 μ L του αραιωμένου αυτού ορού επωάστηκε για 30 λεπτά στους 20 °C. Εν συνεχεία, τα πηγαδάκια της μικροπλάκας πλύθηκαν (x3 φορές) και επωάστηκαν για 30 λεπτά στους 20 °C με 100 μ L από δεύτερο αντίσωμα (secondary) έναντι σταθερού τμήματος (Fc) IgG αντισωμάτων συζευγμένο με ειδικό ένζυμο υπεροξειδάσης (HRP-horseradish peroxidase). Τα πηγαδάκια ξαναπλύθηκαν (x3) και επωάστηκαν για 30 λεπτά στο σκοτάδι με ένα χρωμογόνο που στην ουσία είναι ένα υπόστρωμα που θα χρησιμοποιηθεί από το ένζυμο της HRP για να το μετατρέψει σε τελικό προϊόν. Στην συγκεκριμένη περίπτωση το χρωμογόνο που χρησιμοποιήθηκε είναι το TMB (3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine). Η αντίδραση τερματίστηκε με διάλυμα διακοπής (stop solution) (θειικό οξύ 0,344 M) μετά από 15 λεπτά. Η απορρόφηση των δειγμάτων διαβάστηκε χρησιμοποιώντας αναγνώστη μικροπλάκας (ELISA reader) (BIO.TE.K., Winnoski, VT, USA) σε μήκος κύματος 450 nm με φίλτρο αναφοράς τα 620 nm.

Σε κάθε πείραμα, ο κάθε ορός προσδιορίζονταν εις διπλούν και χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος των δύο απορροφήσεων, ενώ υπήρχε και ένας ορός εσωτερικού ελέγχου (internal control) με γνωστή συγκέντρωση σε units (συγκεκριμένα 25 units), ο οποίος και χρησιμοποιήθηκε για να μετατρέψουμε την απορρόφηση του κάθε άγνωστου δείγματος σε αντίστοιχες μονάδες μέτρησης.

Τα αποτελέσματα ταξινομήθηκαν σύμφωνα με την ερμηνεία του κατασκευαστή των αποτελεσμάτων ως εξής:

- >20 (RU / mL) θεωρήθηκαν θετικά

- 20-40 RU ασθενώς θετικά
- 40-80 RU μετρίως θετικά
- > 80 RU υψηλά θετικά

1.3 Προσδιορισμός άλλων αντισωμάτων

Όλοι οι SSc οροί όπως αναφέραμε και προηγουμένως ελέγχθηκαν κατά τη διάγνωση με έμμεσο ανοσοφθορισμό, για παρουσία αντιπυρηνικών αντισωμάτων (anti-nuclear antibodies) ANA). Έγινε επίσης έλεγχος με την τεχνική της ανοσοσύτωσης γραμμής (line blot) για την παρουσία αυτοαντιγόνων ειδικών για την νόσο όπως τα αντι-κεντρομερίδιακα αντισώματα (ACA) αντισώματα έναντι τοποϊσομεράσης (anti-topo ή Scl-70) και έναντι RNA πολυμεράσης III (anti-RNApolIII). (EUROIMMUN, Lubeck, Germany). Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αυτών έγινε μόνο σε 51 από τους 75 ασθενείς με SSc, με σκοπό να διερευνηθεί εάν η παρουσία των anti-C1q αντισωμάτων σχετίζεται με την ύπαρξη κάποιου άλλου αυτοαντισώματος.

2. Στατιστική Ανάλυση

Τα αποτελέσματα αναφέρονται ως ποσοστά (%), ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD). Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε χ^2 test (two-by-two με διόρθωση κατά Yates'), Fisher's exact test (όταν ο αριθμός των ασθενών ήταν κάτω από 5 τουλάχιστον σε μία κατηγορία) και ANOVA, ανάλογα με την κάθε περίπτωση. Κάθε αποτέλεσμα θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό όταν το Two-sided P ήταν μικρότερο του $<0,050$.

Για τον υπολογισμό εάν το κατώφλι θετικότητας (cut-off της μεθόδου) του κατασκευαστή για τις δοκιμές των επιπέδων αντί-C1q αντισωμάτων μπορούσε να χρησιμοποιηθεί, προχωρήσαμε σε δική μας αξιολόγηση της τεχνικής με σχεδιασμό καμπυλών ROC με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων του anti-C1q σε ασθενείς με σκληρόδερμα έναντι των μετρήσεων των υγιών ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου, χρησιμοποιώντας διάστημα εμπιστοσύνης 95%. Κάθε τιμή p μικρότερη ή ίση

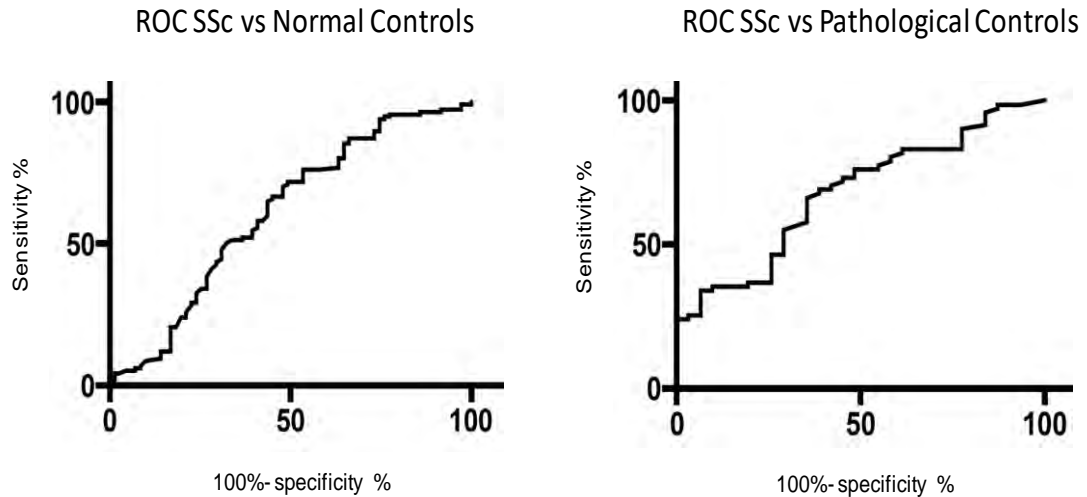
του 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική. Οι στατιστικοί υπολογισμοί έγιναν με SPSS v 20.0 και οι γραφικές παραστάσεις με Graph Pad Prism Software 5.

3. Αποτελέσματα

3.1 Αξιολόγηση του cut-off της μεθόδου

Για να αξιολογήσουμε εάν μπορεί να χρησιμοποιηθεί το cut-off που προτείνει ο κατασκευαστής στα 20 RU/mL ως όριο θετικότητας στους ορούς SSc που είχαμε, χρησιμοποιήσαμε ανάλυση καμπύλης ROC (εικόνα 1). Για ειδικότητα (vs NC) ίση με 1 (95% CI, 0.89 με 1), το κατώφλι θα έπρεπε να καθοριστεί στα 32.5 RU/mL (δίνοντας ταυτόχρονα ευαισθησία 0.24, 95% CI, 0.15 ως 0.36), ενώ για ειδικότητα στο 0.97 (95% CI, 0.83 με 1, LR, 7.42) η τιμή του κατωφλιού για τον υπολογισμό των θετικών ορών σε αντί-C1q αντισώματα έπρεπε να ρυθμιστεί στα 31.3 RU/mL.

Εάν λάβουμε υπόψη μας ότι η θετικότητα για αντί-C1q είχε αναφερθεί βιβλιογραφικά ότι βρίσκεται περίπου στο 3-7% των υγιών μαρτύρων, θεωρήσαμε ότι το cut-off της μεθόδου μας έπρεπε να είναι τέτοιο που να εξασφαλίζει ειδικότητα > 0.93 (Εικόνα 1). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση μια ειδικότητα της τάξεως του 0.94 (95% CI, 0.79 ως 1, LR: 5.02) απαιτεί κατώφλι > 19.45 RU/mL. Έτσι, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι η τιμή των 20 RU όπως ορίζεται από τον κατασκευαστή θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην παρούσα μελέτη ως το όριο θετικότητας της μελέτης.



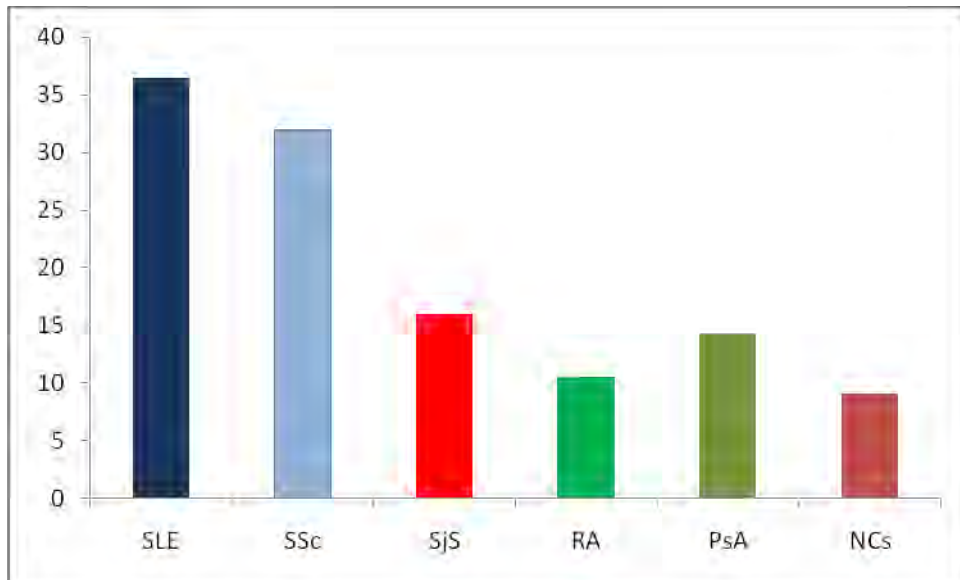
Εικόνα 17. Καμπύλη ROC για τους αρνητικούς και παθολογικούς μάρτυρες αντίστοιχα.

3.2 Συχνότητα των anti-c1q στα ρευματολογικά νοσήματα

Η εικόνα 17 δείχνει συγκεντρωτικά τα ποσοστά θετικότητας έναντι C1q στα διάφορα ρευματολογικά νοσήματα, ενώ η εικόνα 18 δείχνει τα επίπεδα των αντι-C1q αντισωμάτων σε ασθενείς με σκληρόδερμα καθώς και στους υπόλοιπους μάρτυρες.

Συνολικά, αντι-C1q αντισώματα ήταν παρόντα σε 24/75 (32%) των ασθενών με σκληρόδερμα (διάμεσος συγκέντρωση, 43.0 RU/mL, εύρος τιμών 20.5-398) σε σύγκριση με 19/52 (36,5%) των ασθενών με ΣΕΛ, 4/25 (16%) των ασθενών με SjS, 2/19 (10.5%) στους ασθενείς με RA ($p < 0.05$, και στα δυο), 6/42 (14,3%) στους ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα ($p < 0.01$) και 5/55 (9,1%) των NC ($p < 0.05$). Μεταξύ των 24 ασθενών με σκληρόδερμα που ήταν θετικοί για αντι-C1q αντισώματα, οι 5 από αυτούς (20.8%) είχαν μεγάλη συγκέντρωση (> 80 RU/mL), ενώ 10 ασθενείς (41.7%) είχαν μέτρια συγκέντρωση (40-80 RU/mL). Αντίθετα με εξαίρεση τους ασθενείς με ΣΕΛ που είχαν αυξημένο τίτλο αντι-C1q αντισωμάτων (κάτι που είναι βιβλιογραφικά γνωστό και τεκμηριωμένο) κανείς από τους λοιπούς ασθενείς που έπασχαν από ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA), σύνδρομο Sjögren's (SjS) ή από τους υγιείς μάρτυρες που ήταν θετικοί για αντί-C1q αντισώματα δεν είχαν

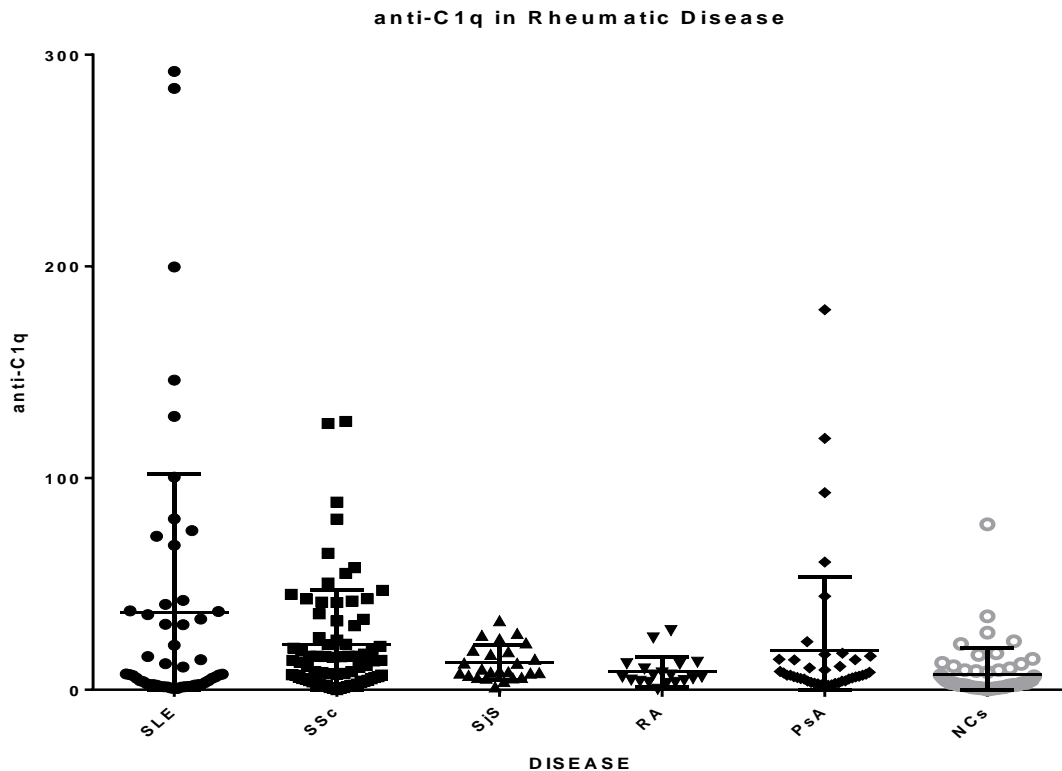
τίτλο αντισωμάτων που να υπερβαίνει τα 40 RU/mL (διάμεσος 29.3 RU/mL, εύρος τιμών 20-33). Αντίθετα 3 από τους 6 ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα είχαν πολύ υψηλό τίτλο αντι-C1q αντισωμάτων (πάνω από 100 RU/mL).



Εικόνα 18. % Ποσοστό ανίχνευσης αντι-C1q αντισωμάτων στις διάφορες κατηγορίες ρευματολογικών νοσημάτων και στους υγιείς μάρτυρες.

3.3 Κλινική σημασία αντί-c1q αντισωμάτων στην SSc.

Από την στατιστική επεξεργασία συσχέτισης της παρουσίας των αντι-C1q με τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με SSc προκύπτει ότι η παρουσία του αντι-C1q ήταν πιο συχνή σε άντρες (8/25, 32% vs 6/50, 12%, $p = 0,04$) από ό, τι σε γυναίκες ασθενείς με σκληρόδερμα (Πίνακας 3). Δεν φάνηκε να υπάρχει κάποια διαφορά μεταξύ των ασθενών με lcSSc και των ασθενών με dcSSc (lcSSc, 32.5%, dcSSc, 31.4%, $P=0,8$ πίνακας 3).



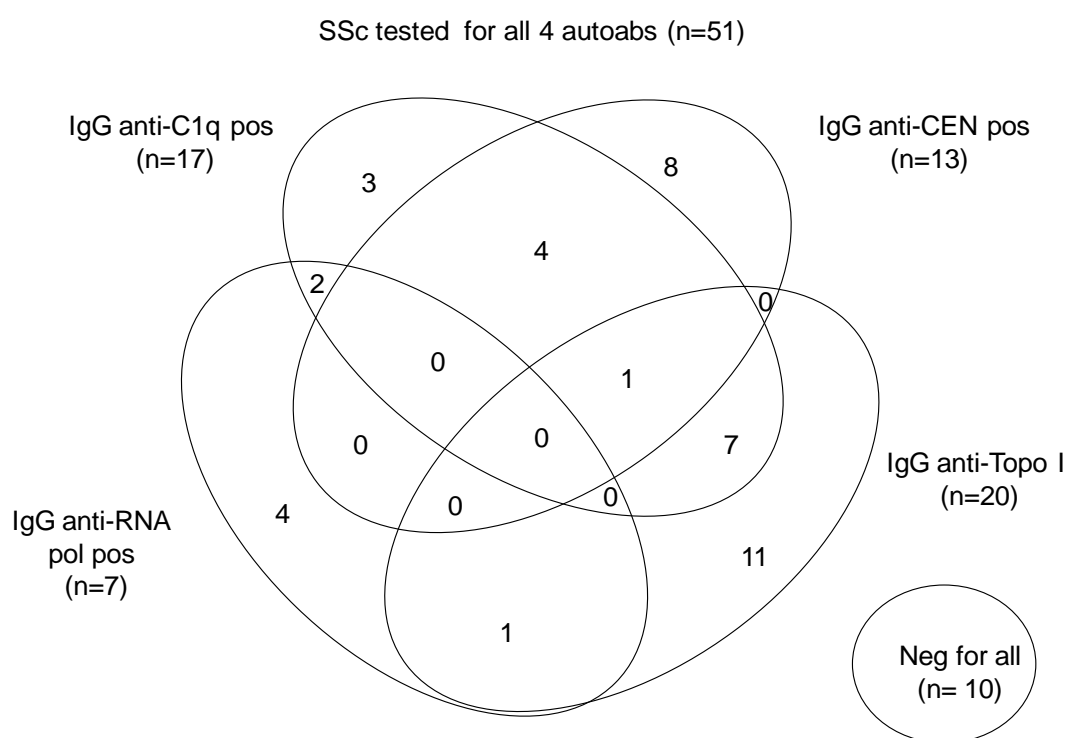
Εικόνα 19. Συγκέντρωση των αντι-C1q αντισωμάτων σε ασθενείς με ΣΕΛ, σε ασθενείς με σκληρόδερμα, στο σύνδρομο Sjögren's, στην ρευματοειδή και ψωριασική αρθρίτιδα καθώς και στους υγιείς για κάθε έναν από τους ασθενείς που εξετάστηκαν.

Η παρουσία των ελκών ήταν πιο διαδεδομένη στους θετικούς για αντι-C1q ασθενείς συγκριτικά με αυτούς που ήταν αρνητικοί (64% έναντι 44%), αλλά αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($p = 0,1$). Η παρουσία των αντι-C1q αυτοαντισωμάτων συσχετίστηκε με την παρουσία πνευμονικής ίνωσης ($p = 0.018$, Πίνακας 3). Ασθενείς με έλκη και / ή πνευμονική ίνωση ήταν πιο συχνά αντι-C1q θετικοί από αντι-C1q αρνητικοί ($p = 0,028$). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 3, η συν-εμφάνιση ελκών και της πνευμονικής ίνωσης ήταν πιο συχνή σε αντι-C1q θετικούς από ότι σε αντι-C1q αρνητικούς ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση ($p = 0.006$).

Σε 51 από τους ασθενείς με SSc κατέστη δυνατός εκτός από τον προσδιορισμό των αντι-C1q να γίνει ταυτόχρονα και έλεγχος για την παρουσία τριών ειδικών για την νόσο αυτοαντισωμάτων όπως τα αντι-Topo I (Scl-70) αντι-CEN και αντι-RNA pol III. Εν συνεχεία επιχειρήσαμε να δούμε εάν υπάρχει συσχέτιση της παρουσίας των αντι-C1q με την παρουσία των

τριών αυτών αυτοαντισωμάτων και τα αποτελέσματα φαίνονται συγκεντρωτικά στο διάγραμμα VENN που ακολουθεί (VENN διάγραμμα, Εικ. 4). όπως φαίνεται μοναδικές αντιδραστικότητες έναντι C1q, Τοπο I, CEN and RNA pol III ήταν παρούσες σε 17/51 (33.3%), 20/51 (39.2%), 13/51 (25.5%) και 7/51 (13.7%) σε ασθενείς με σκληρόδερμα, αντίστοιχα (Πινάκας 3). Δέκα ασθενείς (19.6%) ήταν αρνητικοί και για τα 4 αυτοαντισώματα.

Η αντιδραστικότητα των ειδικών για το σκληρόδερμα αυτοαντισωμάτων ήταν γενικά μοναδική και η παρουσία του ενός σχεδόν απέκλειε την παρουσία των άλλων δυο αυτοαντισωμάτων. Έτσι όπως φαίνεται και από το VENN διάγραμμα Κανείς από τους 38 ασθενείς με SSc (38/51, 74.5%) που ήταν θετικοί για αντι-Τοπο I, αντι-CEN ή αντι-RNA Pol III αυτοαντισώματα δεν είναι παράλληλη αντιδραστικότητα και για τα 3 αυτοαντισώματα, ενώ μόνο 1 (2%) είχε αντί-Τοπο I και αντι-CEN διπλή αντιδραστικότητα και 1 ασθενείς είχε αντί-Τοπο I και αντί-RNA pol III αυτοαντισώματα (VENN).



Εικόνα 20. VENN διάγραμμα συνύπαρξης των αντι-C1q αντισωμάτων με τα υπόλοιπα αυτοαντισώματα που μελετήθηκαν σε 51 ασθενείς με SSc.

Η παρουσία των αντισωμάτων αντι-Toro I, αντι-CEN και αντι-RNA pol III δεν διέφερε μεταξύ των αντι-C1q θετικών και των αντι-C1q αρνητικών ασθενών (Πίνακας 3). Αντι-C1q αντισώματα ευρίσκονταν σε ασθενείς με αντί-Toro I αντισώματα (8/20, 32.0%) ενώ διπλή αντιδραστικότητα αντί-C1q/αντι-Toro I ήταν σε 8/51 (15.7%) ασθενείς από τα ολικά σκληροδέρματα. Αντι-C1q αντισώματα εμφανίζονταν σε παρόμοιο ποσοστό σε ασθενείς με αντι-CEN (5/13, 29.4%) και διπλά αντί-C1q/αντι-CEN θετικοί ασθενείς ήταν οι 5/51 (9.8 από τα ολικά σκληροδέρματα). Τέλος αντι-C1q αντισώματα ανευρίσκονταν και σε αντί-RNA pol III θετικούς ασθενείς (2/17 (11.8%) και μόνο 2 είχαν διπλή αντί-C1q/αντι-RNA pol III αντιδραστικότητα 2/51(3.9%) από τα ολικά σκληροδέρματα).

3.4 Anti-c1q αντισώματα σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας

Από τους 129 ασθενείς με MS που ελέχθησαν για την παρουσία αντι-C1q αντισωμάτων οι 21 ανευρέθηκαν θετικοί (21/129, 16,3%). Η παρουσία των αντι-C1q σχετίζονταν στατιστικά με τον τύπο της νόσου καθώς 20 από τους 21 θετικούς ασθενείς ήταν RRMS και μόνο ένας ασθενής με σκλήρυνση κατά πλάκας ήταν SPMS (20/102 RRMS-19,6% vs 1/27 SPMS -3,7%, $p=0,074$). Από την επιμέρους στατιστική επεξεργασία με τα κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών, βρέθηκε ότι η παρουσία των αντισωμάτων σχετίζονταν με μικρότερη χρονική διάρκεια νόσου ($8,8 \pm 5,4$ μήνες για τους αντι-C1q θετικούς vs $11,7 \pm 7,5$ μήνες για τους αρνητικούς, $p=0,046$). Αντίθετα η παρουσία των αντι-C1q δεν βρέθηκε να σχετίζεται με το φύλο την ηλικία το σκορ βαρύτητας EDSS, τον αριθμό των υποτροπών και το είδος της θεραπείας των ασθενών με MS. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 6. Κλινικές και ανοσολογικές συσχετίσεις μεταξύ των αντί-C1q θετικών και των αντί-C1q αρνητικών ασθενών με συστηματική σκλήρυνση (SSc).

| | Ολικοί SSc ασθενείς (n=75) | Αντί-C1q (+)SSc(n=25) | Αντί-C1q (-)SSc(n=50) | (- p value |
|--|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------|
| <i>Επιδημιολογικά Χαρακτηριστικά</i> | | | | |
| Μέσος όρος ηλικίας (±SD) | 59.5 (14.5) | 17 (32%) | 44 (88%)/6 (12%) | 0.04 |
| Γυναίκες, n (%) / Άντρες, n (%) | 61 (81.3%)/1 4 (18.7%) | | | |
| <i>Τύπος SSc</i> | | | | |
| Περιορισμένο n (%) | 40 (53.3) | 13 (52) | 27 (54%) | ns |
| Διάχυτο, n (%) | 35 (46.7) | 12 (48) | 23 (56%) | ns |
| <i>Κλινικά χαρακτηριστικά</i> | | | | |
| Έλκη, n (%) | 38 (50.7) | 16 (64) | 22 (44) | ns |
| Πνευμονική ίνωση, n (%) | 20 (26.7) | 11 (44) | 9 (18) | 0.018 |
| Έλκη και/ή Πνευμονική ίνωση, n (%) | 44 (58.7) | 19 (76) | 25 (50) | 0.028 |
| Έλκη και Πνευμονική ίνωση n (%) | 16 (21.3) | 10 (40) | 6 (12) | 0.006 |
| SSc-ειδικά αυτοαντισώματα* | Συνολικά (n=51) | Αντί-C1q (+)SSc(n=17) | Αντί-C1q(-) SSc(n=34) | |
| αντί-κεντρομεριδιακά, n (%) | 13 (25.5) | 5 (29.4) | 8 (23.5) | ns |
| αντί-Τopo I, n (%) | 20 (39.2) | 8 (32) | 12 (35.3) | ns |
| αντί-RNA III pol, n (%) | 7 (13.7) | 2 (11.8) | 5 (14.7) | ns |
| Anti-CEN or Scl-70 or RNA III pol, n(%) | 38 (74.5) | 14 (82.4) | 24 (70.6) | |



Εικόνα 21. % συνολικό ποσοστό θετικότητας anti-C1q αντισωμάτων σε ασθενείς με MS (16,3%) καθώς και στους δυο επιμέρους υπότυπους του, RRMS (19,6%) και SPMS (3,7%). Μπορεί να παρατηρήσει κανείς την στατιστικώς σημαντική διαφορά στην ανίχνευση anti-C1q μεταξύ RRMS και SPMS ασθενών.

Πίνακας 7. Συσχέτιση της παρουσίας των αντι-C1q αντισωμάτων με δημογραφικά και κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με MS.

| Χαρακτηριστικό | Αντι-C1q + (n=21) | Αντι-C1q - (n=108) | p |
|--|----------------------|-----------------------|-------|
| φύλο (Ανδρας/Γυναίκα) | 7/14 | 31/77 | NS |
| AGE (mean ± SD) | 42,78 ± 11,6 | 40,4 ± 12,4 | NS |
| Type of treatment (first line/second line/none) | 10/7/4 | 44/38/26 | NS |
| DURATION (years mean ± SD) | 8,8 ± 5,411 | 11,67 ± 7,5 | 0,046 |
| EDSS (mean ± SD) | 3,5 ± 3,4 | 4,3 ± 5,8 | NS |
| Number of Relapses (mean ± SD) | 4,6 ± 2,6 | 5,2 ± 3,7 | NS |
| MS type (RRMS/SPMS) | 20/1 | 83/25 | 0,074 |

4. Συμπεράσματα

A. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι αντι-C1q αντισώματα συχνά ανιχνεύονται σε ασθενείς με SSc. Υπάρχουν δύο μόνο μελέτες σε ασθενείς με ΣΕΛ που περιελάμβανε ασθενείς με SSc ως ομάδα ελέγχου. Σε μια από αυτές περιγράφηκε χαμηλή συχνότητα των αντι-C1q Abs με μια μικρή αύξηση της SSc σε σύγκριση με το NCS (5,5% έναντι 2,1%) [111] ενώ μια δεύτερη μελέτη ΣΕΛ με 20 SSc ασθενείς δεν ανέφεραν καμία διαφορά στη συχνότητα των αντι-C1q autoAbs μεταξύ SSc και NCS (10% έναντι 10%) [112]. Η αυξημένη συχνότητα των αντισωμάτων αντι-C1q στην μελέτη μας μπορεί να σχετίζεται με την αυξημένη ευαισθησία της μεθόδου. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η μεθοδολογία ανίχνευσης αντισωμάτων anti-C1q αντιμετωπίζει ένα τεχνικό πρόβλημα ως προς την διάκριση μεταξύ IgGFc σύνδεσης στο μόριο του C1q σε σχέση με την ανίχνευση αληθών C1q αντισωμάτων. Αυτό το πρόβλημα λύνεται με υψηλή συγκέντρωση άλατος στην δοκιμασία (1 M NaCl) που διαταράσσουν την πρόσδεση του IgGFc στο C1q [28]. Το kit ELISA της INOVA χρησιμοποιεί ένα υψηλής ιοντικής ισχύς δείγμα ώστε να μειώνεται η μη ειδική δέσμευση των ανοσοσυμπλεγμάτων [113].

Η μελέτη μας δείχνει ότι anti-C1q autoAbs ανιχνεύονται στο ένα τρίτο των ασθενών με SSc. Η παρουσία αντισωμάτων αντι-C1q φαίνεται να είναι κλινικά σημαντική, διότι είναι πιο διαδεδομένη σε ασθενείς με SSc που εμφανίζουν πνευμονική ίνωση, καθώς και σε ασθενείς με έλκη και / ή πνευμονική ίνωση. Η κλινική σημασία της διαπίστωσης μας αυτής δεν είναι σαφής προς το παρόν. Είναι λογικό να υποθέσουμε ότι οι μεταβολές της κλασσικής οδού του συμπληρώματος αντανakλούν σε κάποια μικροαγγειακή βλάβη η οποία είναι ένα πρώιμο και κρίσιμο βήμα στην πορεία ανάπτυξης SSc. Μικροαγγειακής αιτιολογίας κλινικές εκδηλώσεις της ομάδας SSc περιλαμβάνουν τα δακτυλικά έλκη, την πνευμονική αρτηριακή υπέρταση, και την μυοκαρδιοπάθεια.

Επιπρόσθετα, η παρουσία των αντι-C1q autoAbs μπορεί να σχετίζεται με αυτοανοσία [114, 115] και έτσι μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου. Το C1q μπορεί να συνδέεται με αποπτωτικά κύτταρα που προωθούν την κάθαρση από τα φαγοκύτταρα [116, 117]. Είναι γνωστό ότι αντι-C1q αντισώματα από ασθενείς με νεφρίτιδα λύκου δεσμεύονται σε C1q στα αποπτωτικά κύτταρα και το γεγονός αυτό μπορεί να μειώσει σημαντικά τη φαγοκυττάρωση των πρώιμων αποπτωτικών κυττάρων από τα μακροφάγα [114]. Αυτό υποδηλώνει ότι μια ελαττωματική κάθαρση των αποπτωτικών κυττάρων μπορεί να λειτουργήσει ως πηγή παραγωγής αυτοαντιγόνων σε ασθενείς με SSc. Anti-C1q autoAbs από ασθενείς με νεφρίτιδα λύκου αναστέλλουν επίσης την εναπόθεση των C3c στα ανοσοσυμπλέγματα (IC) - C1q (οψωνοποίηση των ανοσοσυμπλεγμάτων) προτείνοντας έτσι μια άλλη πηγή αυτοαντιγόνων σε ασθενείς με SSc [114].

B. ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ ΚΑΤΑ ΠΛΑΚΑΣ

Η εξέταση των ασθενών με MS οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ένα μικρό μόνο ποσοστό ασθενών χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση αντισωμάτων έναντι του C1q συστατικού του συμπληρώματος. Το ποσοστό αυτό δεν ήταν στατιστικά σημαντικό σε σχέση με αυτό που ανιχνεύεται στους υγιείς μάρτυρες.

Ωστόσο το σημαντικότερο εύρημα της μελέτης είναι ότι η παρουσία των αντισωμάτων αυτών ανιχνεύεται σχεδόν κατά αποκλειστικότητα σε ασθενείς με RRMS τύπο σκλήρυνσης κατά πλάκας και αντίθετα ανευρίσκεται πολύ σπάνια σε ασθενείς με SPMS. Αυτό πιθανότατα αντικατοπτρίζει την ύπαρξη κάποιου πιθανού παθογενετικού ρόλου των αντισωμάτων αυτών στον τρόπο εξέλιξης των συμπτωμάτων στην πορεία της νόσου.

Συγκεντρωτικά η μελέτη αυτή έδειξε ότι αντι-C1q autoAbs συχνά ανιχνεύονται στην ασθένεια με SSc και σε ασθενείς με RRMS και η παρουσία τους μπορεί να συμβάλει στις αυτοάνοσες διεργασίες που οδηγούν στην

εξέλιξη των δύο αυτών νοσημάτων. Η κλινική σημασία του ευρήματος αυτού πρέπει να αξιολογηθεί προσεκτικά σε πολυκεντρικές και μεγάλες μελέτες.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Carroll, M.C. and A.P. Prodeus, *Linkages of innate and adaptive immunity*, in *Curr Opin Immunol*. 1998. p. 36-40.
2. Sahu, A. and J.D. Lambris, *Structure and biology of complement protein C3, a connecting link between innate and acquired immunity*. *Immunol Rev*, 2001. **180**: p. 35-48.
3. Kirschfink, M. and T.E. Mollnes, *Modern complement analysis*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003. **10**(6): p. 982-9.
4. Sunyer, J.O., I.K. Zarkadis, and J.D. Lambris, *Complement diversity: a mechanism for generating immune diversity?* *Immunol Today*, 1998. **19**(11): p. 519-23.
5. Volanakis, J.E., *The complement system: 1983*. (0252-9564 (Print)).
6. Loos, M., *The complement system: activation and control*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1985. **121**: p. 7-18.
7. Lukyanova, N. and H.R. Saibil, *Friend or foe: the same fold for attack and defense*. *Trends Immunol*, 2008. **29**(2): p. 51-3.
8. Kim, D.D. and W.C. Song, *Membrane complement regulatory proteins*. *Clin Immunol*, 2006. **118**(2-3): p. 127-36.
9. Hourcade, D., V.M. Holers, and J.P. Atkinson, *The regulators of complement activation (RCA) gene cluster*. *Adv Immunol*, 1989. **45**: p. 381-416.
10. Reid, K.B. and A.J. Day, *Structure-function relationships of the complement components*. *Immunol Today*, 1989. **10**(6): p. 177-80.
11. Podack, E.R., et al., *Structure and function of perforin*. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1989. **140**: p. 11-7.
12. Hobart, M.J., B.A. Fernie, and R.G. DiScipio, *Structure of the human C7 gene and comparison with the C6, C8A, C8B, and C9 genes*. *J Immunol*, 1995. **154**(10): p. 5188-94.
13. Muragaki, Y., et al., *The alpha 2(VIII) collagen gene. A novel member of the short chain collagen family located on the human chromosome 1*. *J Biol Chem*, 1991. **266**(12): p. 7721-7.
14. Petry, F., K.B. Reid, and M. Loos, *Molecular cloning and characterization of the complementary DNA coding for the B-chain of murine C1q*. *FEBS Lett*, 1989. **258**(1): p. 89-93.
15. Sellar, G.C., D.J. Blake, and K.B. Reid, *Characterization and organization of the genes encoding the A-, B- and C-chains of human complement subcomponent C1q. The complete derived amino acid sequence of human C1q*. *Biochem J*, 1991. **274** (Pt 2): p. 481-90.
16. Reid, K.B. and R.R. Porter, *Subunit composition and structure of subcomponent C1q of the first component of human complement*. *Biochem J*, 1976. **155**(1): p. 19-23.
17. Kishore, U. and K.B. Reid, *Modular organization of proteins containing C1q-like globular domain*. *Immunopharmacology*, 1999. **42**(1-3): p. 15-21.
18. Castellano, G., et al., *Infiltrating dendritic cells contribute to local synthesis of C1q in murine and human lupus nephritis*. *Mol Immunol*, 2010. **47**(11-12): p. 2129-37.
19. Castellano, G., et al., *Maturation of dendritic cells abrogates C1q production in vivo and in vitro*. *Blood*, 2004. **103**(10): p. 3813-20.
20. Beurskens, F.J., R.A. van Schaarenburg, and L.A. Trouw, *C1q, antibodies and anti-C1q autoantibodies*. *Mol Immunol*, 2015. **68**(1): p. 6-13.
21. Paques, E.P., et al., *Isolation of the globular region of the subcomponent q of the C1 component of complement*. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 1979. **360**(2): p. 177-83.

22. Gaboriaud, C., et al., *The crystal structure of the globular head of complement protein C1q provides a basis for its versatile recognition properties*. J Biol Chem, 2003. **278**(47): p. 46974-82.
23. Kishore, U., et al., *Structural and functional anatomy of the globular domain of complement protein C1q*. Immunol Lett, 2004. **95**(2): p. 113-28.
24. Kojouharova, M.S., et al., *Mutational analyses of the recombinant globular regions of human C1q A, B, and C chains suggest an essential role for arginine and histidine residues in the C1q-IgG interaction*. J Immunol, 2004. **172**(7): p. 4351-8.
25. Dragon-Durey, M.A., et al., *Autoantibodies against complement components and functional consequences*. Mol Immunol, 2013. **56**(3): p. 213-21.
26. Antes, U., H.P. Heinz, and M. Loos, *Evidence for the presence of autoantibodies to the collagen-like portion of C1q in systemic lupus erythematosus*. Arthritis Rheum, 1988. **31**(4): p. 457-64.
27. Uwatoko, S., et al., *C1q solid-phase radioimmunoassay: evidence for detection of antibody directed against the collagen-like region of C1q in sera from patients with systemic lupus erythematosus*. Clin Exp Immunol, 1987. **69**(1): p. 98-106.
28. Kohro-Kawata, J., M.H. Wener, and M. Mannik, *The effect of high salt concentration on detection of serum immune complexes and autoantibodies to C1q in patients with systemic lupus erythematosus*. J Rheumatol, 2002. **29**(1): p. 84-9.
29. Agnello, V., et al., *C1q PRECIPITINS IN THE SERA OF PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS AND OTHER HYPOCOMPLEMENTEMIC STATES: CHARACTERIZATION OF HIGH AND LOW MOLECULAR WEIGHT TYPES*. J Exp Med, 1971. **134**(3): p. 228-41.
30. Uwatoko, S., et al., *C1q solid-phase radioimmunoassay: binding properties of solid-phase C1q and evidence that C1q-binding IgG complexes in systemic lupus erythematosus are not bound to endogenous C1q*. J Immunol Methods, 1984. **73**(1): p. 67-74.
31. Pickering, M.C. and M. Botto, *Are anti-C1q antibodies different from other SLE autoantibodies?* Nat Rev Rheumatol, 2010. **6**(8): p. 490-3.
32. Horvath, L., et al., *High levels of antibodies against C1q are associated with disease activity and nephritis but not with other organ manifestations in SLE patients*. Clin Exp Rheumatol, 2001. **19**(6): p. 667-72.
33. Potlukova, E. and P. Kralikova, *Complement component c1q and anti-c1q antibodies in theory and in clinical practice*. Scand J Immunol, 2008. **67**(5): p. 423-30.
34. Siegert, C.E., et al., *IgG autoantibodies to C1q do not detectably influence complement activation in vivo and in vitro in systemic lupus erythematosus*. Immunol Res, 1992. **11**(2): p. 91-7.
35. Trendelenburg, M., et al., *Lack of occurrence of severe lupus nephritis among anti-C1q autoantibody-negative patients*. Arthritis Rheum, 1999. **42**(1): p. 187-8.
36. Wener, M.H., S. Uwatoko, and M. Mannik, *Antibodies to the collagen-like region of C1q in sera of patients with autoimmune rheumatic diseases*. Arthritis Rheum, 1989. **32**(5): p. 544-51.
37. Siegert, C.E., et al., *The relationship between serum titers of autoantibodies to C1q and age in the general population and in patients with systemic lupus erythematosus*. Clin Immunol Immunopathol, 1993. **67**(3 Pt 1): p. 204-9.
38. Mahler, M., R.A. van Schaarenburg, and L.A. Trouw, *Anti-C1q autoantibodies, novel tests, and clinical consequences*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 117.
39. Schaller, M., et al., *Autoantibodies against C1q in systemic lupus erythematosus are antigen-driven*. J Immunol, 2009. **183**(12): p. 8225-31.

40. Vanhecke, D., et al., *Identification of a major linear C1q epitope allows detection of systemic lupus erythematosus anti-C1q antibodies by a specific peptide-based enzyme-linked immunosorbent assay*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(11): p. 3706-14.
41. Tsacheva, I., et al., *Detection of autoantibodies against the globular domain of human C1q in the sera of systemic lupus erythematosus patients*. Mol Immunol, 2007. **44**(8): p. 2147-51.
42. Botto, M., et al., *Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies*. Nat Genet, 1998. **19**(1): p. 56-9.
43. Manderson, A.P., M. Botto, and M.J. Walport, *The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus*. Annu Rev Immunol, 2004. **22**: p. 431-56.
44. Nauta, A.J., et al., *Mannose-binding lectin engagement with late apoptotic and necrotic cells*. Eur J Immunol, 2003. **33**(10): p. 2853-63.
45. Xu, W., et al., *Properdin binds to late apoptotic and necrotic cells independently of C3b and regulates alternative pathway complement activation*. J Immunol, 2008. **180**(11): p. 7613-21.
46. Baruah, P., et al., *C1q enhances IFN-gamma production by antigen-specific T cells via the CD40 costimulatory pathway on dendritic cells*. Blood, 2009. **113**(15): p. 3485-93.
47. Baruah, P., et al., *Mice lacking C1q or C3 show accelerated rejection of minor H disparate skin grafts and resistance to induction of tolerance*. Eur J Immunol, 2010. **40**(6): p. 1758-67.
48. Ferry, H., et al., *Increased positive selection of B1 cells and reduced B cell tolerance to intracellular antigens in c1q-deficient mice*. J Immunol, 2007. **178**(5): p. 2916-22.
49. Fossati-Jimack, L., et al., *C1q deficiency promotes the production of transgenic-derived IgM and IgG3 autoantibodies in anti-DNA knock-in transgenic mice*. Mol Immunol, 2008. **45**(3): p. 787-95.
50. van Montfoort, N., et al., *A novel role of complement factor C1q in augmenting the presentation of antigen captured in immune complexes to CD8+ T lymphocytes*. J Immunol, 2007. **178**(12): p. 7581-6.
51. Racila, E., et al., *The pattern of clinical breast cancer metastasis correlates with a single nucleotide polymorphism in the C1qA component of complement*. Immunogenetics, 2006. **58**(1): p. 1-8.
52. Racila, E., et al., *A polymorphism in the complement component C1qA correlates with prolonged response following rituximab therapy of follicular lymphoma*. Clin Cancer Res, 2008. **14**(20): p. 6697-703.
53. Martens, H.A., C.G. Kallenberg, and M. Bijl, *Role of CCR5 Delta32 bp deletion in RA and SLE*. Autoimmunity, 2009. **42**(4): p. 260-2.
54. Namjou, B., et al., *Evaluation of C1q genomic region in minority racial groups of lupus*. Genes Immun, 2009. **10**(5): p. 517-24.
55. Racila, D.M., et al., *Homozygous single nucleotide polymorphism of the complement C1QA gene is associated with decreased levels of C1q in patients with subacute cutaneous lupus erythematosus*. Lupus, 2003. **12**(2): p. 124-32.
56. Radanova, M., et al., *Association of rs172378 C1q gene cluster polymorphism with lupus nephritis in Bulgarian patients*. Lupus, 2015. **24**(3): p. 280-9.
57. Rafiq, S., et al., *Assessing association of common variation in the C1Q gene cluster with systemic lupus erythematosus*. Clin Exp Immunol, 2010. **161**(2): p. 284-9.
58. Zervou, M.I., et al., *TRAF1/C5, eNOS, C1q, but not STAT4 and PTPN22 gene polymorphisms are associated with genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in Turkey*. Hum Immunol, 2011. **72**(12): p. 1210-3.

59. Trouw, L.A., et al., *Genetic variants in the region of the C1q genes are associated with rheumatoid arthritis*. Clin Exp Immunol, 2013. **173**(1): p. 76-83.
60. Orbai, A.M., et al., *Anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus*. Lupus, 2015. **24**(1): p. 42-9.
61. Seelen, M.A., L.A. Trouw, and M.R. Daha, *Diagnostic and prognostic significance of anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus*. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2003. **12**(6): p. 619-24.
62. Sinico, R.A., et al., *Anti-C1q autoantibodies in lupus nephritis*. Ann N Y Acad Sci, 2009. **1173**: p. 47-51.
63. Trendelenburg, M., *Antibodies against C1q in patients with systemic lupus erythematosus*. Springer Semin Immunopathol, 2005. **27**(3): p. 276-85.
64. Matrat, A., et al., *Simultaneous detection of anti-C1q and anti-double stranded DNA autoantibodies in lupus nephritis: predictive value for renal flares*. Lupus, 2011. **20**(1): p. 28-34.
65. Meyer, O.C., et al., *Anti-C1q antibodies antedate patent active glomerulonephritis in patients with systemic lupus erythematosus*. Arthritis Res Ther, 2009. **11**(3): p. R87.
66. Mok, C.C., et al., *Performance of anti-C1q, antinucleosome, and anti-dsDNA antibodies for detecting concurrent disease activity of systemic lupus erythematosus*. Transl Res, 2010. **156**(6): p. 320-5.
67. Moura, C.G., et al., *Negative anti-C1q antibody titers may influence therapeutic decisions and reduce the number of renal biopsies in systemic lupus erythematosus*. Nephron Clin Pract, 2011. **118**(4): p. c355-60.
68. Trendelenburg, M., et al., *High prevalence of anti-C1q antibodies in biopsy-proven active lupus nephritis*. Nephrol Dial Transplant, 2006. **21**(11): p. 3115-21.
69. Coremans, I.E., et al., *Changes in antibodies to C1q predict renal relapses in systemic lupus erythematosus*. Am J Kidney Dis, 1995. **26**(4): p. 595-601.
70. Moroni, G., et al., *Anti-C1q antibodies may help in diagnosing a renal flare in lupus nephritis*. Am J Kidney Dis, 2001. **37**(3): p. 490-8.
71. Eggleton, P., et al., *Autoantibodies against C1q as a Diagnostic Measure of Lupus Nephritis: Systematic Review and Meta-analysis*. J Clin Cell Immunol, 2014. **5**(2): p. 210.
72. Hogarth, M.B., et al., *Autoantibodies to the collagenous region of C1q occur in three strains of lupus-prone mice*. Clin Exp Immunol, 1996. **104**(2): p. 241-6.
73. Trouw, L.A., et al., *Glomerular deposition of C1q and anti-C1q antibodies in mice following injection of antimouse C1q antibodies*. Clin Exp Immunol, 2003. **132**(1): p. 32-9.
74. Trouw, L.A., et al., *Anti-C1q autoantibodies deposit in glomeruli but are only pathogenic in combination with glomerular C1q-containing immune complexes*. J Clin Invest, 2004. **114**(5): p. 679-88.
75. Trouw, L.A., et al., *Anti-C1q autoantibodies in murine lupus nephritis*. Clin Exp Immunol, 2004. **135**(1): p. 41-8.
76. Kuhn, A., et al., *The Diagnosis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus*. Dtsch Arztebl Int, 2015. **112**(25): p. 423-32.
77. Sakkas, L.I., I.C. Chikanza, and C.D. Platsoucas, *Mechanisms of Disease: the role of immune cells in the pathogenesis of systemic sclerosis*. Nat Clin Pract Rheumatol, 2006. **2**(12): p. 679-85.
78. I. Sakkas, L., I. C. Chikanza, and C. D. Platsoucas, *Systemic Sclerosis: From Pathogenesis Towards Targeted Immunotherapies*. Current Rheumatology Reviews, 2012. **8**(1): p. 45-55.
79. Desbois, A.C. and P. Cacoub, *Systemic sclerosis: An update in 2016*. Autoimmun Rev, 2016. **15**(5): p. 417-26.

80. Vandecasteele, E.H., et al., *The heart and pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis*. Acta Clin Belg, 2016. **71**(1): p. 1-18.
81. Gyger, G. and M. Baron, *Systemic Sclerosis: Gastrointestinal Disease and Its Management*. Rheum Dis Clin North Am, 2015. **41**(3): p. 459-73.
82. Guillevin, L. and L. Mouthon, *Scleroderma Renal Crisis*. Rheum Dis Clin North Am, 2015. **41**(3): p. 475-88.
83. Coyle, P.K., *Symptom Management and Lifestyle Modifications in Multiple Sclerosis*. Continuum (Minneap Minn), 2016. **22**(3, Multiple Sclerosis and Other Demyelinating Diseases): p. 815-836.
84. Axisa, P.P. and D.A. Hafler, *Multiple sclerosis: genetics, biomarkers, treatments*. Curr Opin Neurol, 2016. **29**(3): p. 345-53.
85. Ascherio, A. and K.L. Munger, *Epidemiology of Multiple Sclerosis: From Risk Factors to Prevention-An Update*. Semin Neurol, 2016. **36**(2): p. 103-14.
86. Watad, A., et al., *Vitamin D and Systemic Lupus Erythematosus: Myth or Reality?* Isr Med Assoc J, 2016. **18**(3-4): p. 177-82.
87. Bivona, G., et al., *Association between hypovitaminosis D and systemic sclerosis: True or fake?* Clin Chim Acta, 2016. **458**: p. 115-9.
88. Watad, A., et al., *Association between seasonal factors and multiple sclerosis*. Eur J Epidemiol, 2016.
89. Faguy, K., *Multiple Sclerosis: An Update*. Radiol Technol, 2016. **87**(5): p. 529-50.
90. Lossius, A., et al., *Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis-association and causation*. Viruses, 2012. **4**(12): p. 3701-30.
91. Venkatesan, A., *Multiple sclerosis and infections*. Neurodegener Dis Manag, 2015. **5**(6 Suppl): p. 11-4.
92. Koenig, M., et al., *Autoantibodies and microvascular damage are independent predictive factors for the progression of Raynaud's phenomenon to systemic sclerosis: a twenty-year prospective study of 586 patients, with validation of proposed criteria for early systemic sclerosis*. Arthritis Rheum, 2008. **58**(12): p. 3902-12.
93. Lunardi, C., et al., *Systemic sclerosis immunoglobulin G autoantibodies bind the human cytomegalovirus late protein UL94 and induce apoptosis in human endothelial cells*. Nat Med, 2000. **6**(10): p. 1183-6.
94. Mihai, C. and J.W. Tervaert, *Anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis*. Ann Rheum Dis, 2010. **69**(2): p. 319-24.
95. Nishijima, C., et al., *Autoantibody against matrix metalloproteinase-3 in patients with systemic sclerosis*. Clin Exp Immunol, 2004. **138**(2): p. 357-63.
96. Zhou, X., et al., *Autoantibodies to fibrillin-1 activate normal human fibroblasts in culture through the TGF-beta pathway to recapitulate the "scleroderma phenotype"*. J Immunol, 2005. **175**(7): p. 4555-60.
97. Riemekasten, G., et al., *Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis*. Ann Rheum Dis, 2011. **70**(3): p. 530-6.
98. Nabel, E.G., et al., *Direct transfer of transforming growth factor beta 1 gene into arteries stimulates fibrocellular hyperplasia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90**(22): p. 10759-63.
99. Baroni, S.S., et al., *Stimulatory autoantibodies to the PDGF receptor in systemic sclerosis*. N Engl J Med, 2006. **354**(25): p. 2667-76.
100. Senaldi, G., et al., *Activation of the complement system in systemic sclerosis. Relationship to clinical severity*. Arthritis Rheum, 1989. **32**(10): p. 1262-7.
101. Sprott, H., et al., *Detection of activated complement complex C5b-9 and complement receptor C5a in skin biopsies of patients with systemic sclerosis (scleroderma)*. J Rheumatol, 2000. **27**(2): p. 402-4.

102. Arason, G.J., et al., *Deficiency of complement-dependent prevention of immune precipitation in systemic sclerosis*. Ann Rheum Dis, 2002. **61**(3): p. 257-60.
103. Hudson, M., et al., *Hypocomplementemia in systemic sclerosis--clinical and serological correlations*. J Rheumatol, 2007. **34**(11): p. 2218-23.
104. Ingram, G., et al., *Complement activation in multiple sclerosis plaques: an immunohistochemical analysis*. Acta Neuropathol Commun, 2014. **2**: p. 53.
105. Compston, D.A., et al., *Cerebrospinal fluid C9 in demyelinating disease*. Neurology, 1986. **36**(11): p. 1503-6.
106. Compston, D.A., et al., *Immunocytochemical localization of the terminal complement complex in multiple sclerosis*. Neuropathol Appl Neurobiol, 1989. **15**(4): p. 307-16.
107. Lumsden, C.E., *The immunogenesis of the multiple sclerosis plaque*. Brain Res, 1971. **28**(3): p. 365-90.
108. Breij, E.C., et al., *Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2008. **63**(1): p. 16-25.
109. Barnett, M.H., et al., *Immunoglobulins and complement in postmortem multiple sclerosis tissue*. Ann Neurol, 2009. **65**(1): p. 32-46.
110. Bitsch, A., et al., *Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation*. Brain, 2000. **123** (Pt 6): p. 1174-83.
111. Horvath, L., et al., *Levels of antibodies against C1q and 60 kDa family of heat shock proteins in the sera of patients with various autoimmune diseases*. Immunol Lett, 2001. **75**(2): p. 103-9.
112. Katsumata, Y., et al., *Anti-C1q antibodies are associated with systemic lupus erythematosus global activity but not specifically with nephritis: a controlled study of 126 consecutive patients*. Arthritis Rheum, 2011. **63**(8): p. 2436-44.
113. Akhter, E., et al., *Anti-C1q antibodies have higher correlation with flares of lupus nephritis than other serum markers*. Lupus, 2011. **20**(12): p. 1267-74.
114. Pang, Y., et al., *Anti-C1q autoantibodies from active lupus nephritis patients could inhibit the clearance of apoptotic cells and complement classical pathway activation mediated by C1q in vitro*. Immunobiology, 2014. **219**(12): p. 980-9.
115. Elkon, K.B. and D.M. Santer, *Complement, interferon and lupus*. Curr Opin Immunol, 2012. **24**(6): p. 665-70.
116. Fraser, D.A., et al., *C1q differentially modulates phagocytosis and cytokine responses during ingestion of apoptotic cells by human monocytes, macrophages, and dendritic cells*. J Immunol, 2009. **183**(10): p. 6175-85.
117. Galvan, M.D., M.C. Greenlee-Wacker, and S.S. Bohlson, *C1q and phagocytosis: the perfect complement to a good meal*. J Leukoc Biol, 2012. **92**(3): p. 489-97.