



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΘΑΝΑΤΟΥ ΣΕ
ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ»

ΚΟΚΩΝΑ Π. ΧΑΤΖΑΝΤΩΝΗ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΩΡ ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, (Επιβλέπουσα)

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, (Μέλος)

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,
(Μέλος)

ΛΑΡΙΣΑ, 2020



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS –GENETIC COUNSELING”**

**«EPIGENETIC REGULATION OF CELL DEATH IN AUTOIMMUNE
DISEASES»**

KOKONA P. CHATZANTONI

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στους Επιστημονικούς Υπεύθυνους και τους Διδάσκοντες του Μεταπτυχιακού Προγράμματος, καθώς και το προσωπικό της Γραμματείας, για την άψογη εξυπηρέτηση και συνεργασία.

Το παρόν εγχείρημα αφιερώνεται στους γονείς μου, που μου εμφύσησαν την αείροη επιθυμία για μάθηση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι αλλαγές του γονιδιώματος αποτελούν την κύρια αιτία για τα περισσότερα νοσήματα. Παρ' όλ' αυτά, στα αυτοάνοσα νοσήματα δεν έχει εντοπιστεί συγκεκριμένο γενετικό αίτιο απώλειας της ανοχής, γεγονός στο οποίο συνηγορούν και μελέτες μονοζυγωτικών διδύμων, στα οποία παρατηρείται μεγάλη διαφοροποίηση επίπτωσης αυτοάνοσου νοσήματος. Αυτό το κενό γενετικής βάσης έρχεται να συμπληρώσει τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη της επιγενετικής, με την έννοια των κληρονομικών αλλαγών ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, ελλείπει μεταβολών της αλληλουχίας του DNA.

Κατά τη διαδικασία απομάκρυνσης δυσλειτουργικών κυττάρων του οργανισμού, αλλά και παραγόντων μικροβιακής προέλευσης, οι μορφές κυτταρικού θανάτου που εμπλέκονται, μπορεί σε περίπτωση παρεκτροπής να οδηγήσουν σε λανθασμένη αντιγονοπαρουσίαση και διασπορά αυτοαντιγόνων και επομένως πιθανή ανάπτυξη αυτοανοσίας. Η σύγχρονη βιβλιογραφία φαίνεται να δίνει ιδιαίτερη έμφαση στην απόπτωση, για την οποία πειραματικά δεδομένα δείχνουν άμεση συσχέτιση με την παθογένεια τέτοιων νοσημάτων.

Το βάρος του ελέγχου τέτοιων δυσλειτουργιών στις διαδικασίες κυτταρικού θανάτου και την έγερση και διασπορά αυτοαντιγόνων, πέφτει στη δράση των T ρυθμιστικών και Th17 κυττάρων, η δράση των οποίων φαίνεται να επηρεάζεται από επιγενετικούς μηχανισμούς. Στη διαταραχή αυτής της ισορροπίας των T λεμφοκυττάρων, και άρα στην αιτιοπαθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων, φαίνεται να εμπλέκονται και επιγενετικοί μηχανισμοί, κυρίως δράσης miRNAs και μεθυλίωσης DNA. Η μελέτη τους μάλιστα στη διέγερση των ρυθμιστικών κυττάρων, αλλά και στη αποκατάσταση έκφρασης του Foxp3, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών στρατηγικών. Λόγω όμως της πολυπλοκότητας, τόσο της αυτοανοσίας όσο και των μηχανισμών της επιγενετικής ρύθμισης, απαιτείται πληρέστερη μελέτη και διαλεύκανση της συσχέτισης της επιγενετικής και των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων.

Παρά την πολυπαραγοντική προέλευση των αυτοάνοσων νοσημάτων και την πολύπλευρη, και πολλές φορές αντιφατική, δράση των επιγενετικών μηχανισμών, τα αυτοάνοσα νοσήματα μοιράζονται αρκετά κοινά στοιχεία μεταξύ τους σε επιγενετικό επίπεδο καταδεικνύοντας την επιγενετική τους βάση.

Λέξεις κλειδιά: αυτοανοσία, κυτταρικός θάνατος, επιγενετική.

ABSTRACT

Genome changes are the leading cause for most diseases. However, in autoimmune diseases no specific genetic cause of loss of tolerance has been identified, which is also supported by studies of monozygotic twins, in which there is a wide variation in the incidence of autoimmune disease. This genetic gap has been filled by the development of epigenetics, in the sense of inherited changes in the regulation of gene expression in the absence of DNA sequence changes.

During the removal of dysfunctional cells as well as the treatment of the microbial threat, forms of cell death implicated may lead to a non appropriate presentation of antigens and autoantigen spreading and therefore possible development of autoimmunity. Modern literature seems to place particular emphasis on apoptosis, for which experimental data show a direct correlation with the pathogenesis of such diseases.

T regulatory and Th17 cells control such cell death abnormalities and autoantigen spreading, the function of which seems to be affected by epigenetic mechanisms. In the disturbance of this balance of T lymphocytes and therefore in the causality of autoimmune diseases, epigenetic mechanisms appear to be involved, mainly those of miRNAs and DNA methylation. Studies of T regulatory cell stimulation, as well as those of Foxp3 expression restoration, have led to the development of innovative therapeutic strategies. However, due to the complexity of both autoimmunity and epigenetic regulation mechanisms, a more complete study and elucidation of the correlation between epigenetics and T regulatory lymphocytes is required.

Despite the multifactorial origin of autoimmune diseases and the complex, and often contradictory, action of epigenetic mechanisms, autoimmune diseases share several common elements with each other at an epigenetic level, demonstrating their epigenetic basis.

Keywords: autoimmunity, cell death, epigenetics.

Περιεχόμενα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	9
1.1 Βασικοί Επιγενετικοί Μηχανισμοί (Μεθυλίωση DNA, τροποποίηση ιστονών, miRNAs)	9
1.1.1 Μεθυλίωση του DNA	9
1.1.2 Τροποποιήσεις ιστονών	9
1.1.3 miRNAs.....	10
1.2 Κυτταρικός θάνατος	13
1.2.1 Απόπτωση	13
1.2.2 Αυτοφαγία.....	16
1.2.3 Νέκρωση και Νεκρόπτωση	18
1.3 Σχέση αυτοανοσίας και κυτταρικού θανάτου	19
1.3.1 Απόπτωση και αυτοανοσία.....	19
1.3.2 Νέκρωση - Νεκρόπτωση και αυτοανοσία.....	21
1.3.3 Αυτοφαγία και αυτοανοσία	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	25
Επιγενετική ρύθμιση κυτταρικού θανάτου σε αυτοάνοσα νοσήματα	25
2.1 Επιγενετική ρύθμιση της απόπτωσης στην αυτοανοσία	28
2.1.1 Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)	28
2.1.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ)	30
2.1.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).....	33
2.2 Επιγενετική ρύθμιση νέκρωσης και νεκρόπτωσης στην αυτοανοσία	33
2.2.1 Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)	33
2.2.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ)	34
2.2.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).....	34
2.3 Επιγενετική ρύθμιση του αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου στην αυτοανοσία	35
2.3.1 Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)	36
2.3.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ)	36
2.3.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).....	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.	38
Φαρμακευτική Προσέγγιση	38
3.1 Επιγενετικές αλλαγές που αφορούν τη μεθυλίωση του DNA.....	38
3.2 Αναστολείς Αποακετυλίωσης ιστονών.....	40
3.3 Θεραπείες με στόχο microRNAs	42
3.4 Επιγενετική Έγερση Ρυθμιστικών Τ λεμφοκυττάρων	43

3.5 Βιοδείκτες	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.	46
Περιβάλλον	46
4.1 Υπεριώδης Ακτινοβολία.....	46
4.2 Φάρμακα	46
4.3 Τοξικές Ουσίες.....	47
4.4 Μικροβίωμα	47
4.5 Διατροφή.....	49
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	51
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	54

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Για τα περισσότερα αυτοάνοσα νοσήματα υπάρχει, πέρα από αρκετά εκτεταμένη άγνοια των παθοφυσιολογικών τους μηχανισμών, κι ένα κενό μεταξύ της επίδρασης των περιβαλλοντικών παραγόντων και της γενετικής τους βάσης. Τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη της επιγενετικής έρχεται να συμπληρώσει αυτό το κενό. Η επιγενετική, με την έννοια των κληρονομικών αλλαγών ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης ελλείπει μεταβολών της αλληλουχίας του DNA, περιλαμβάνει διαδικασίες όπως η μεθυλίωση του DNA, η τροποποίηση των ιστονών και η έκφραση μη κωδικοποιών RNA όπως miRNA, η δυσλειτουργία των οποίων σχετίζεται με αρκετά νοσήματα μεταξύ αυτών και αυτοάνοσα (L. Zhou, Lim, & Mi, 2019).

Η διατήρηση της ομοιόστασης απαιτεί τη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απομάκρυνσης δυσλειτουργικών κυττάρων του οργανισμού, καθώς και του εντοπισμού και αντιμετώπισης της μικροβιακής απειλής. Αυτή η ισορροπία ακροβατεί μεταξύ ανοσο-ανοχής και ανοσογονικότητας, κάνοντας κρίσιμο το ρόλο των αποπτωτικών μηχανισμών, δυσλειτουργία των οποίων μπορεί να οδηγήσει σε παραμονή αυτοαντιγόνων και επομένως πιθανή ανάπτυξη αυτοανοσίας (Green, Ferguson, Zitvogel, & Kroemer, 2009). Στην παρούσα εργασία θα επιχειρηθεί μια προσέγγιση της συσχέτισης της επιγενετικής ρύθμισης του κυτταρικού θανάτου με την αυτοανοσία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 Βασικοί Επιγενετικοί Μηχανισμοί (Μεθυλίωση DNA, τροποποίηση ιστονών, miRNAs)

1.1.1 Μεθυλίωση του DNA

Κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαφοροποίησης τόσο στην εμβρυογένεση όσο και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, λαμβάνει χώρα μια διαδικασία μεθυλίωσης και απομεθυλίωσης διαφόρων περιοχών του γονιδιώματος (Ehrlich & Lacey, 2013), (Guo et al., 2014). Η οικογένεια των DNAμεθυλοτρανσφερασών, που αποτελείται από τις DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, και DNMT3L, είναι υπεύθυνη για τη μεθυλίωση, προσδίδοντας μια μεθυλομάδα σε νουκλεοτίδια με αζωτούχο βάση την κυτοσίνη, που προηγείται νουκλεοτιδίου με βάση τη γουανίνη (Jaenisch & Bird, 2003). Υπάρχουν περιοχές του γονιδιώματος πλούσιες σε αυτό το δινουκλεοτίδιο, που καλούνται CpG νησίδες, και εντοπίζονται κυρίως στους υποκινητές των γονιδίων (Costello & Plass, 2001). Πρωτεΐνες που φέρουν MBD (methyl-CpG-binding domains) δεσμεύονται στις μεθυλιωμένες CpG περιοχές και προκαλούν τη συσπείρωση της χρωματίνης στην περιοχή του υποκινητή, παρεμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο τη δέσμευση των μεταγραφικών παραγόντων και αναστέλλοντας τη μεταγραφή του γονιδίου. Έχει επίσης αποδειχτεί, ότι η μεθυλίωση και μέσω της επιστράτευσης συμπλόκων καταστολής της μεταγραφής μπορεί να προκαλέσει την αποσιώπηση της συγκεκριμένης περιοχής (Costello & Plass, 2001), (Fuksetal., 2003). Η απομεθυλίωση, που οδηγεί στην αποσυσπείρωση της χρωματίνης, και άρα υποβοηθά την έκφραση των γονιδίων, μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της αναστολής των DNA μεθυλοτρανσφερασών, πράγμα που αποτελεί και θεραπευτικό στόχο, για υπερμεθυλιωμένες περιοχές (Fritz&Papavasiliou, 2010), (Fritzetal., 2013).

1.1.2 Τροποποιήσεις ιστονών

Ένας άλλος επιγενετικός μηχανισμός, που έχει να κάνει με την προσβασιμότητα μεταγραφικών, και όχι μόνο, παραγόντων στο DNA, είναι η τροποποίηση των ιστονών. Πρόκειται για πυρηνικές πρωτεΐνες (H2A, H2B, H3, και H4) οι οποίες δημιουργούν οκταμερή γύρω από τα οποία τυλίγονται 146 ζεύγη βάσεων DNA σε μια πρώτη δομική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Αυτή η δομή αποτελεί το νουκλεόσωμα. Οι ιστόνες, οι οποίες επηρεάζουν άμεσα τη δομή και τη

συσπείρωση της χρωματίνης, υπόκεινται σε τροποποιήσεις όπως ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση ή ουβικουιτινίωση. Αυτές οι τροποποιήσεις οδηγούν στην αναστολή ή στην επαγωγή της γονιδιακής έκφρασης μέσω των διαφορετικών επιπτώσεων που έχουν στη συσπείρωση της χρωματίνης (Ehrlich & Lacey, 2013).

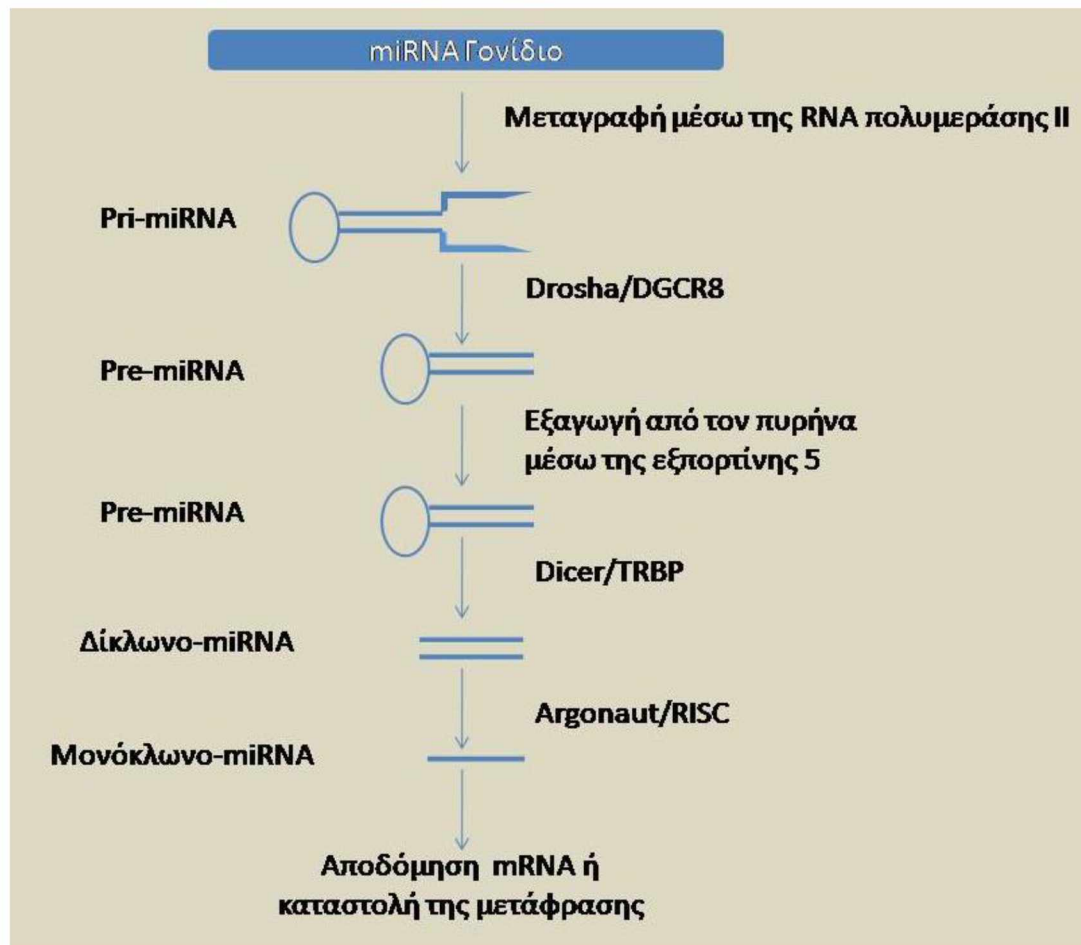
Όσον αφορά την ακετυλίωση και την αποακετυλίωση, διαδραματίζουν έναν από τους καθοριστικότερους ρόλους στη γονιδιακή έκφραση. Οι ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HATs) ακετυλιώνουν κατάλοιπα λυσίνης στα αμινοτελικά άκρα των ιστονών. Αυτό οδηγεί σε μια πιο χαλαρή δομή της χρωματίνης, πράγμα που διευκολύνει την πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων και τελικά στη μεταγραφική της ενεργοποίηση. Στο αντίποδα βρίσκονται ένζυμα με αντίθετη δράση, οι αποακετυλάσες των ιστονών (HDACs), οι οποίες μέσω της αποακετυλίωσης οδηγούν στη συσπείρωση της χρωματίνης και την περαιτέρω αποσιώπηση λόγω της δυσκολότερης πρόσβασης αυτών των παραγόντων (Kouzarides, 2007).

Μια άλλη σημαντική τροποποίηση των ιστονών που έχει μελετηθεί αρκετά στο πλαίσιο της επεγενετικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης είναι και η μεθυλίωση των ιστονών. Η διαδικασία αυτή καταλύεται από ένζυμα που ονομάζονται μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HTMs) και προσθέτουν μια μεθυλομάδα σε κάποια υπομονάδα τους. Την αντίθετη δράση εμφανίζουν οι απομεθυλάσες των ιστονών, ένζυμα που αφαιρούν τη μεθυλομάδα. Οι κύριες διαδικασίες που ρυθμίζονται με τη μεθυλίωση και την απομεθυλίωση αφορούν την έκφραση και την επιδιόρθωση του DNA (Bannister & Kouzarides, 2005). Το αποτέλεσμα της μεθυλίωσης στη γονιδιακή έκφραση, εξαρτάται, τόσο από τη θέση όσο και από το πλήθος των μεθυλομάδων, και μπορεί να οδηγήσει τόσο στην ενεργοποίηση όσο και στην καταστολή της έκφρασης (Scharf & Imhof, 2011). Ανεπαρκής ή δυσλειτουργική τροποποίηση ιστονών έχει συσχετιστεί με την ενεργοποίηση και παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, καθώς και την ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων (Z. Zhang & Zhang, 2015), (Zhao, Wang, Yung, & Lu, 2015), (Orban et al., 2007).

1.1.3 miRNAs

Τα τελευταία χρόνια ένας μεγάλος αριθμός μη κωδικοποιητικών RNA έχει ταυτοποιηθεί όσον αφορά τη μορφή και τη λειτουργία τους. Μια από τις πιο καλά χαρακτηρισμένες ομάδες είναι τα miRNAs. Πρόκειται για μια ομάδα μονόκλωνων

ριβονουκλεϊκών οξέων, μήκους 22 νουκλεοτιδίων, τα οποία επηρεάζουν τόσο τη σταθερότητα, όσο και τη μετάφραση των αγγελιαφόρων RNA μορίων (Kozomara A, 2014). Εκδηλώνουν το ρόλο τους ως επιγενετικοί ρυθμιστές που καθορίζουν τη φυσιολογία του κυττάρου και την εκδήλωση ασθενειών μέσω της επιγενετικής ρύθμισης των γονιδίων (Fabian, Sonenberg, & Filipowicz, 2010). Τα μόρια αυτά προκύπτουν με μεταγραφή από την RNA πολυμεράσηII, η οποία δίνει ως προϊόν ένα πολυαδενυλιωμένο μόριο pri-miRNA. Μια πυρηνική RNAάσηIII, η Drosha, το μετατρέπει σε pre-miRNA, δηλαδή μια μορφή φουρκέτας μήκους 70-100 νουκλεοτιδίων. Αυτή η μορφή στη συνέχεια εξέρχεται του πυρήνα μέσω της πρωτεΐνης εξπορτίνης της πυρηνικής μεμβράνης και όταν καταλήγει στο κυτταρόπλασμα μετατρέπεται υπό την επίδραση της Dicer (που είναι επίσης RNAάσηIII) και της PACT (πρωτεΐνη που δεσμεύει δίκλωνο RNA), σε δίκλωνο γραμμικό miRNA 19-24 νουκλεοτιδίων, αφαιρώντας την κεφαλή της φουρκέτας. Η μία από τις δύο αλυσίδες του μορίου αυτού δεσμεύεται από την Argonaut προκειμένου να σχηματιστεί το σύμπλοκο RISC και μετατρέπεται στην τελική μονόκλωνη μορφή του μονόκλωνου miRNA, το οποίο τελικά ρυθμίζει το επιθυμητό αγγελιαφόρο RNA (Σχήμα 1) (Pasquinelli, 2012), (Siomi & Siomi, 2010).



Σχήμα 1: Βιογένεση microRNA. Μεταγραφή σε μεγάλα πολυαδενυλιωμένα μόρια Pri-miRNA από την RNA πολυμεράσης II από συγκεκριμένα γονίδια. Επεξεργασία και μετατροπή σε Pre-miRNA από το σύμπλοκο Drosha/DGCR8. Μεταφορά του Pre-miRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα μέσω της εξπορτίνης 5. Περαιτέρω τροποποίηση από την κυτταροπλασματική RNAάση III Dicer σε συνδυασμό με την TRBP (*dsDNA binding protein partner*). Τελική αποδόμηση της μιας αλυσίδας και δημιουργία του λειτουργικού μονόκλωνου miRNA και σχηματισμός του συμπλόκου με το RISC. Τροποποιημένο από (L. Zhou et al., 2019)

Μέσω μιας συγκεκριμένης περιοχής του το miRNA καθορίζει το μόριο στόχο στο οποίο θα δεσμευτεί (C. Shin et al., 2010). Εμφανίζει συμπληρωματικότητα με την 3' αμετάφραστη περιοχή του mRNA στόχου και προκαλεί αποσταθεροποίηση και αποσιώπηση του mRNA. Η συμπληρωματικότητα των 3' αμετάφραστων περιοχών, και επομένως τα μόρια στόχοι ενός miRNA, μπορούν να είναι αρκετά και διαφορετικά μεταξύ τους, ενώ έχει αποδειχτεί ότι τέτοιου είδους δυνητικά 3' αμετάφραστες περιοχές στόχους διαθέτει το 60% των γονιδίων του ανθρώπινου

γονιδιώματος που κωδικοποιούν πολυπεπτιδικές αλυσίδες (Fabian et al., 2010), (Siomi & Siomi, 2010).

Η εμπλοκή των μορίων αυτών στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μιας σειράς κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος έχει επισημανθεί από αρκετές μελέτες (Belver, Papavasiliou, & Ramiro, 2011), (O'Connell, Rao, Chaudhuri, & Baltimore, 2010). Τα miRNA έχουν συσχετιστεί με τη λειτουργία και την ανάπτυξη τόσο των T ρυθμιστικών όσο και των (invariant natural killer TiNKT) NK κυττάρων που διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη ανοχής και ανοσίας, και των οποίων οι δυσλειτουργίες συνδέονται με μια σειρά αυτοάνοσων νοσημάτων (Berzins, Smyth, & Baxter, 2011), (Q. Tang & Bluestone, 2008).

1.2 Κυτταρικός θάνατος

Για τους πολυκύτταρους οργανισμούς ο κυτταρικός θάνατος αποτελεί μια εξαιρετικά σημαντική διαδικασία, η οποία σχετίζεται με την ανάπτυξη. Η δυσλειτουργία του οδηγεί σε ένα μεγάλο εύρος ασθενειών μεταξύ των οποίων διαταραχές νευροεκφυλιστικής φύσεως και καρκίνος.

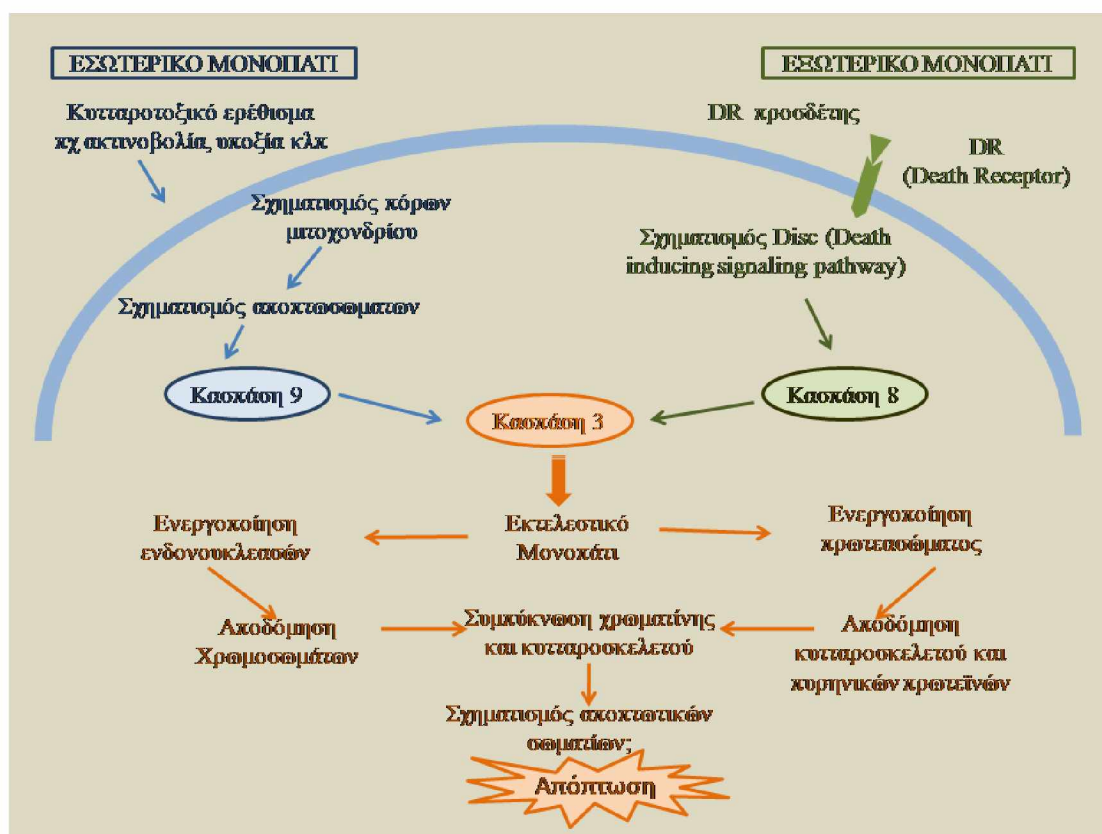
Οι κλασικές μορφές κυτταρικού θανάτου είναι η απόπτωση, η νέκρωση-νεκρόπτωση και ο αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος, καθεμιά από τις οποίες διαδραματίζει συγκεκριμένο ρόλο, ενεργοποιώντας διακριτά σηματοδοτικά μονοπάτια. Παρ' όλ' αυτά, κι άλλες μορφές κυτταρικού θανάτου έχουν περιγραφεί τα τελευταία χρόνια υποδεικνύοντας ότι το κύτταρο χρησιμοποιεί πολλούς διαφορετικούς τρόπους (D'Arcy, 2019).

1.2.1 Απόπτωση

Η απόπτωση, είναι μια διαδικασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου μεσολαβούμενη από κασπάσες. Τα αποπτωτικά κύτταρα εμφανίζουν μια σειρά χαρακτηριστικών, όπως συρρίκνωση του κυττάρου, συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων και δημιουργία εξογκωμάτων της πλασματικής μεμβράνης, και σε προχωρημένα στάδια κατακερματισμό του πυρήνα και σχηματισμό αποπτωτικών σωματίων (Chen, Kang, & Fu, 2018).

Η ενεργοποίηση των κασπασών, οι οποίες διακρίνονται στις εναρκτήριες κασπάσες και τις κασπάσες τελεστές, παίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη της απόπτωσης (Elmore, 2007), (1Elmore, 2007). Με τη ανίχνευση της κυτταρικής

βλάβης, ανενεργές προκασπάσες ενεργοποιούν τις εναρκτήριες κασπάσες 8 και 9, οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν τις κασπάσες τελεστές 3, 6 και 7 οι οποίες πυροδοτούν μια σειρά φαινομένων που καταλήγει στον κατακερματισμό του DNA από ενδονουκλεάσες, στη διαταραχή του κυτταροσκελετού και των πυρηνικών πρωτεϊνών, τη δημιουργία αποπτωτικών σωματίων και στην ενεργοποίηση φαγοκυττάρων (Martinvalet, Zhu, & Lieberman, 2005), (Poon, Lucas, Rossi, & Ravichandran, 2014). Η απόπτωση ενεργοποιείται από το ίδιο το κύτταρο μετά από την ανίχνευση βλάβης μέσω του εσωτερικού μονοπατιού. Όταν όμως ένα κύτταρο με βλάβη εντοπίζεται από κύτταρο του ανοσοποιητικού συστήματος τότε ενεργοποιείται το εξωτερικό μονοπάτι της απόπτωσης (Sicaetal., 1990), (Orpenheimetal., 2001). Σε κάθε περίπτωση στόχος είναι η απαλλαγή από την παρουσία μη φυσιολογικών κυττάρων. Κακή ρύθμιση της διαδικασίας της απόπτωσης με υπερβολική ή ανεπαρκή δράση οδηγεί σε εκφυλιστικές ασθένειες ή καρκίνο αντίστοιχα (Σχήμα 2) (Dickson, 2004).



Σχήμα 2: Σχηματική απεικόνιση των βασικών βημάτων του εσωτερικού και εξωτερικού μονοπατιού της απόπτωσης. Το εσωτερικό μονοπάτι της απόπτωσης πυροδοτείται από το ίδιο το κύτταρο ως απόκριση σε βλάβη, ενώ το εξωτερικό μονοπάτι πυροδοτείται

από ειδικά σήματα θανάτου σε υποδοχείς που εγείρονται από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα δύο μονοπάτια ενώνονται στο βήμα της ενεργοποίησης της κασπάσης 3 καταλήγοντας σε κυτταρικό θάνατο. Τροποποιημένο από (D'Arcy, 2019).

Εσωτερικό μονοπάτι της απόπτωσης

Το μονοπάτι πυροδοτείται από μια σειρά ερεθισμάτων μέσα στο ίδιο το κύτταρο και κυρίως από παράγοντες που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια. Η απουσία ορμονών, κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων, τα οποία λειτουργούν κανονικά ως αναστολείς, καθώς και η υποξία, τοξίνες, ιοί και άλλα που κανονικά θα έπρεπε να απουσιάζουν, όταν υπάρχουν πυροδοτούν την απόπτωση (Brenner & Mak, 2009). Κατά την έναρξη του μονοπατιού η κασπάση 9 δεσμεύεται στην πρωτεάση APOA1 (Adapter Protein Apoptotic protease activating Factor 1), η οποία σε ένα μη αποπτωτικό κύτταρο είναι αναδιπλωμένη ώστε να μην μπορεί να δεσμευτεί πάνω της η CARD περιοχή της προκασπάσης 9. Αλλαγές όμως στη μιτοχονδριακή μεμβράνη ενός αποπτωτικού κυττάρου, και κυρίως στη διαπερατότητα, επιτρέπουν σε προαποπτωτικές πρωτεΐνες όπως το κυτόχρωμα c, η Smac/Diablo, να περάσουν στο κυτταρόπλασμα και να ξεκινήσουν την απόπτωση (Cain, Bratton, & Cohen, 2002). Το κυτόχρωμα c δεσμεύεται στα μονομερή του ARAF1, πράγμα που οδηγεί στην αναδιαμόρφωσή του και καθιστά δυνατή τη δέσμευση dATP. Αυτή η δέσμευση οδηγεί σε περεταίρω αναδιαμορφώσεις του ARAF1 που επιτρέπουν τη δημιουργία συμπλόκων, των αποπτωσωμάτων (Acehan et al., 2002). Αυτά επιστρατεύουν και ενεργοποιούν τις προκασπάσες 9, οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στην ενεργοποίηση των τελεστών κασπασών 3 και αυτές προκαλούν τελικά την απόπτωση (Cain et al., 2002). Αντιθέτως, τα Smac/Diablo και HtrA2/Omi προκαλούν απόπτωση, παρεμποδίζοντας αναστολείς της απόπτωσης (IAPs Inhibitors of Apoptosis Proteins). Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι η δράση τους από μόνη της δεν θα ήταν αρκετή για να ενεργοποιήσει τη διαδικασία της απόπτωσης χωρίς την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c (Ekert & Vaux, 2005).

Εξωτερικό μονοπάτι της απόπτωσης

NK κύτταρα και μακροφάγα, τα οποία εκτελούν χρέη επιτήρησης, εκφράζουν αντιγόνα τα οποία έχουν την ικανότητα σύνδεσης με υποδοχείς DR (Death Receptors μέλη της οικογένειας TNF) που εκφράζει το κύτταρο στόχος και με αυτό τον τρόπο ενεργοποιείται η μετατροπή της προκασπάσης 8 σε κασπάση 8 και επομένως το

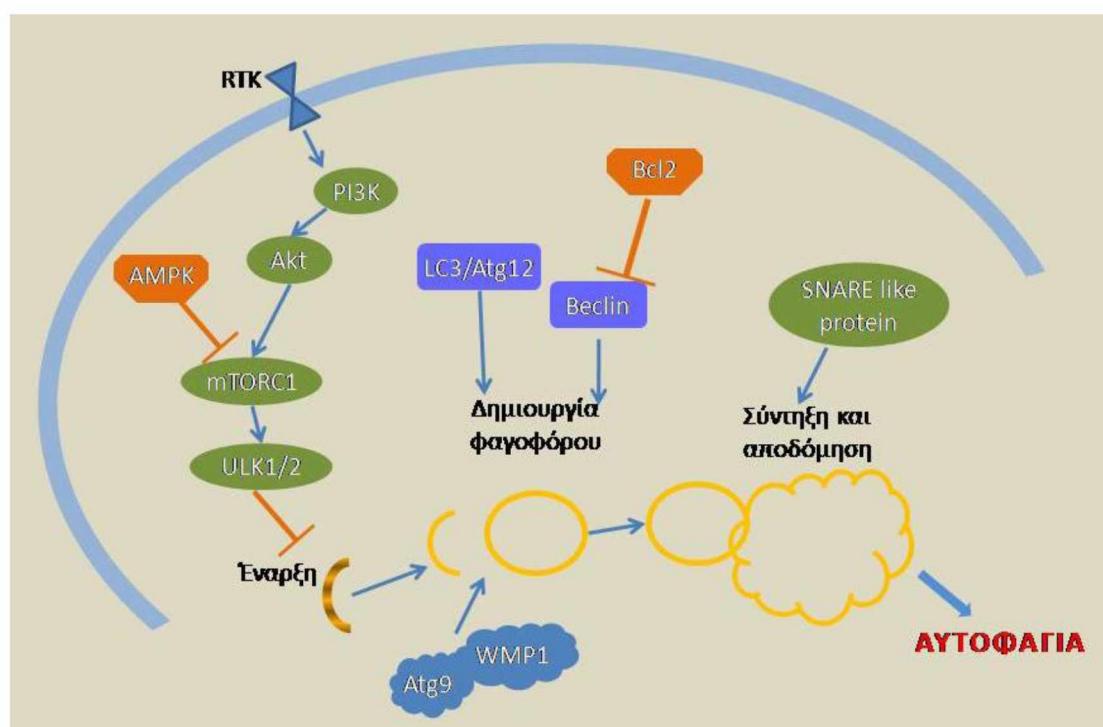
εσωτερικό μονοπάτι απόπτωσης (J. H. Kim et al., 2004). Με τη δέσμευση αντιγόνου στον υποδοχέα DR, η προκασπάση 8 ενώνεται στην κυτταροπλασματική περιοχή του αντιγόνου και συγκεκριμένα στο σύμπλοκο DISC (Death Inducing Complex). Το σύμπλοκο DISC περιλαμβάνει ή την περιοχή της πρωτεΐνης FAS (FADD) (I) ή την περιοχή του TNF (II) υποδοχέα που διαμεσολαβεί την αλληλεπίδραση της προκασπάσης 8 και του DISC (J. H. Kim et al., 2004). Αυτό οδηγεί στον διμερισμό και την ενεργοποίηση της προκασπάσης και την τελική δημιουργία της κασπάσης 8 που προκαλεί την απόπτωση με ένα από τα δύο μονοπάτια, η επιλογή του οποίου εξαρτάται από τον τύπο (I ή II) του κυττάρου (Samraj, Keil, Ueffing, Schulze-Osthoff, & Schmitz, 2006). Στα κύτταρα τύπου I η κασπάση 8 μέσω των τελεστών κασπάσων προκαλεί απόπτωση, ενώ στα τύπου II οι IAP αναστέλλουν τη δράση της κασπάσης 8, εκτός κι αν ανασταλούν κι οι ίδιες από ουσίες που απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια (Spencer, Gaudet, Albeck, Burke, & Sorger, 2009).

1.2.2 Αυτοφαγία

Η αυτοφαγία είναι μια διαδικασία εσωτερικής αποδόμησης η οποία προκαλείται ως αντίδραση σε διάφορους στρεσογόνους παράγοντες, όπως ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών, η υποξία, η παρουσία ελεύθερων ριζών (reactive oxygen species -ROS), η παρουσία φαρμακευτικών ουσιών, ή οι εκτεταμένες βλάβες μακρομορίων ή οργανιδίων. Μακρομόρια, συσσωματώματα μακρομορίων ή ολόκληρα οργανίδια, ενσωματώνονται σε κυστίδια τα οποία συντήκονται με λυσοσώματα προς καταστροφή και αποδόμηση (Shintani&Klionsky, 2004), (Mizushima, Levine, Cuervo, &Klionsky, 2008). Τα συστατικά που προκύπτουν διασπώνται και ανακυκλώνονται για να καλύψουν τις ανάγκες του κυττάρου. Η αυτοφαγία ενεργοποιείται και κατά την κυτταρική διαφοροποίηση και την εμβρυογένεση, καθώς και κατά την ανοσία προκειμένου να αποδομήσει ενδοκυτταρικά παθογόνα (Levine&Deretic, 2007), (Mizushimaetal., 2008).

Κατά την αυτοφαγία, σωματίδια ή περιοχές του κυττάρου περικλείονται σε κυστίδια με διπλή μεμβράνη τα αυτοφαγοσώματα, τα οποία στη συνέχεια συντήκονται με τα λυσοσώματα. Στα αυτοφαγολυσοσώματα που προκύπτουν ακολουθεί αποδόμηση από πρωτεάσες (W. W. Li, Li, & Bao, 2012), (Jixi Li et al., 2012). Έχουν περιγραφεί κι άλλες μορφές αυτοφαγίας, κατά τις οποίες σήματα ενεργοποίησης στην επιφάνεια ολόκληρων οργανιδίων, όπως τα μιτοχόνδρια η τα

υπεροξειδισώματα, προκαλούν την εξειδικευμένη και απευθείας σύντηξή τους με τα λυσοσώματα και την περαιτέρω αποδόμησή τους (Dice, 2007). Προκειμένου να σχηματιστεί το φαγοφόρο, απαιτείται το σύμπλοκο ULK1, το οποίο προκαλεί την έναρξη ενεργοποιώντας το σύμπλοκο P13K που αποτελείται από τις εξής υπομονάδες: ATG14L, Beclin 1, VSP34 και VSP15. Αυτό με τη σειρά του αλληλεπιδρά με ένα τρίτο σύμπλοκο που περιλαμβάνει τα ATG5, ATG12 και ATG16L, και μαζί με την LC3II πρωτεΐνη επιμηκώνει τα φαγοφόρα προκειμένου να σχηματιστεί το αυτοφαγόσωμα. Οι ουβικουτινιωμένες πρωτεΐνες ενώνονται με την πρωτεΐνη p62η οποία στη συνέχεια ενώνεται με την LC3II κατά τη διάρκεια σχηματισμού του αυτοφαγόσωματος, κι έτσι οι πρωτεΐνες στόχοι εγκολλώνονται στο αυτοφαγόσωμα, το οποίο συντήκεται με το λυσόσωμα προς την τελική αποδόμηση (Σχήμα 3) (Ndoye & Weeraratna, 2016).



Σχήμα 3: Ο σχηματισμός του συμπλόκου ULK 1 / 2 είναι απαραίτητος για την έναρξη δημιουργίας του φαγοφόρου και ρυθμίζεται το ULK 1 / 2 από το mTORC1, το οποίο με τη σειρά του ρυθμίζεται θετικά από το PI3K/Akt και αρνητικά από το AMPK. Αυξητικοί παράγοντες ενεργοποιούν το PI3K/Akt μονοπάτι μέσω υποδοχέων τυροσινικής κινάσης. Το σύμπλοκο Beclin, που καταστέλεται από το Bcl-2, ενεργοποιείται και οδηγεί στον τελικό σχηματισμό φαγοφόρου. Η διαμεμβρανική πρωτεΐνη Atg9 και η WMP1 (vesicle membrane protein) μπορεί να εμπλέκονται στη μετατόπιση λιπιδίων της μεμβράνης

απομόνωσης. Επιπλέον, το σύστημα με δράση παρόμοια της ουβικουιτίνης Atg12 και LC3 απαιτούνται στη διαδικασία. Τελικά, αυτοφαγόσωμα και λυσοσώμα συντήκονται μέσω της δράσης μιας *SNAPE like protein* και λυσοσωμικά ένζυμα υδρολύουν όλων των τύπων κατεστραμμένα οργανίδια, πρωτεΐνες, λιπίδια και νουκλεϊκά οξέα. Τροποποιημένο από (Chen et al., 2018).

Εκτός όμως από μηχανισμό επιβίωσης του κυττάρου σε αντίξοες συνθήκες, έχει βρεθεί να επάγει και μια μορφή κυτταρικού θανάτου, τον αυτοφαγικό κυτταρικό θάνατο που διακρίνεται από διαφορετικά μορφολογικά χαρακτηριστικά συγκρινόμενος με την απόπτωση και τη νέκρωση. Ο αυτοφαγικός κυτταρικός θάνατος χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη κενών στο κυτταρόπλασμα, χωρίς όμως ταυτόχρονη εκτεταμένη συμπύκνωση του πυρήνα ή ενεργοποίηση των κασπασών, καθώς και από λυσοσωμική αποδόμηση. (Noguchi et al., 2020)

1.2.3 Νέκρωση και Νεκρόπτωση

Η νέκρωση ως μορφή θανάτου παρατηρείται σε περιπτώσεις έντονων εξωτερικών ερεθισμάτων όπως τραυματισμός, φλεγμονή, παρουσία χημικών ή ακτινοβολίας και υποξία. Η βλάβη είναι τόσο σοβαρή και διαταράσσει τόσο έντονα την ομοιόσταση του κυττάρου, που αυτό δεν μπορεί να επανακάμψει. Ακολουθεί η ανάπτυξη μιας προφλεγμονώδους κατάστασης που περιλαμβάνει και την παρουσία προφλεγμονωδών πρωτεϊνών όπως ο NFκβ, που οδηγεί στη διόγκωση του κυττάρου, στο να διαρραγεί η κυτταρική μεμβράνη και να διαχυθεί το περιεχόμενο του κυττάρου στη γύρω περιοχή (Elmore, 2007).

Μια άλλη κατηγορία, η νεκρόπτωση, περιγράφηκε ως προγραμματισμένη και ρυθμιζόμενη μορφή της νέκρωσης η οποία συνήθως ενεργοποιείται όταν υπάρχει ανεπάρκεια της απόπτωσης για κάποιο λόγο, και διαμεσολαβείται κυρίως από TNFR1 (Tumor Necrosis Factor Receptors) και TLRs (Toll Like Receptors) (Chen et al., 2018). Όταν ενεργοποιείται ο TNFR, το σύμπλοκο που αποτελείται από τα TRADD, RIPK1, TRAF2, E3 λιγάσεσουβικουιτίνης, cIAP1/2 και LUBAC, είναι ασταθές όταν το RIPK1 αποουβικουιτινώνεται από τη CYLD. Αυτό οδηγεί στην παρουσία αυξημένων επιπέδων RIPK3 και MLKL και την αναστολή της κασπάσης 8 και τελικά το σχηματισμό νεκροσώματος. Η RIPK3 μέσα στο νεκρόσωμα φωσφορυλιώνεται και με τη σειρά της προκαλεί τη φωσφορυλίωση της MLKL. Η MLKL, είτε μεταναστεύει στη μεμβράνη όπου προκαλεί τη διαταραχή της και έπειτα νεκρόπτωση, ή αλληλεπιδρά με PGAM5 πάνω στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, ενεργοποιώντας τον

παραγοντα Dgp1 με επακόλουθη νεκρόπτωση. Όταν απουσιάζουν τα cIAPs και υπάρχει αναστολή της κασπάσης 8, το μονοπάτι συσχετίζεται με την ενεργοποίηση του Fas/TRAILR όπου ενεργοποιούνται τα TLR3/4 και οδηγούν σε νεκρόπτωσημεσολαβούμενη από TRIF ή TLR3 (Chen et al., 2018).

1.3 Σχέση αυτοανοσίας και κυτταρικού θανάτου

Προκειμένου να διατηρηθεί η ομοιόσταση, απαιτείται η ύπαρξη μιας λεπτής ισορροπίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απομάκρυνσης μη λειτουργικών κυττάρων, πράγμα που θέτει σε κίνδυνο την ακόμα λεπτότερη ισορροπία της ανοσο-ανοχής και της ανοσογονικότητας (Green et al., 2009). Η ανεπαρκής απομάκρυνση των δυσλειτουργικών ή νεκρών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή, έντονη και ισχυρή αντιγονοπαρουσίαση, καθώς και στη διασπορά αντιγόνων τα οποία στη συνέχεια θα διεγείρουν την ανοσοαπόκριση (Mistry & Kaplan, 2017), (Nagataetal., 2010). όμως αυτοί οι τύποι ανοσίας μπορούν να ενεργοποιηθούν και από συστατικά νεκρών κυττάρων του ίδιου του οργανισμού μέσω των ίδιων διαδικασιών απόπτωσης αυτοφαγίας και νέκρωσης, πράγμα που σημαίνει ότι η ανεπάρκειά τους μπορεί να οδηγήσει στην παρουσίαση ενός αυτοαντιγόνου και άρα στη δημιουργία κλώνων αυτοαντιδρώντων λεμφοκυττάρων και αυτοανοσίας (Dwivedi&Radic, 2018).

1.3.1 Απόπτωση και αυτοανοσία

Η ανοχή απαιτεί την απομάκρυνση των αυτοαντιδρώντων T κυττάρων, διαδικασία η οποία πραγματοποιείται στον θύμο αδένα κατά την ανάπτυξη, μέσω της απόπτωσής τους. Δυσλειτουργίες στη αποπτωτική διαδικασία μπορεί να οδηγήσουν σε επιβίωση αυτοαντιδρώντων κυττάρων και άρα αυτοανοσίας. Επιπλέον, επειδή δεν παρουσιάζεται όλο το ρεπερτόριο αυτοαντιγόνων στο θύμο, όπως μερικών μη καλά αιματούμενων οργάνων, μερικά κύτταρα διαφεύγουν της επιλογής του θύμου. Αυτά εκκαθαρίζονται πάλι μέσω της απόπτωσης, στην περιφέρεια μερικώς μέσω της έκφρασης του Fas ligand (Stuart & Hughes, 2002). Με αντίστοιχο τρόπο μέσω της απόπτωσης και της δέσμευσης σε Fas death receptor ελέγχεται και ο πληθυσμός των λεμφοκυττάρων που έχουν ήδη δράσει και πρέπει να περιοριστούν. Πειραματικά μοντέλα με απαλειφή των Fas death receptors δείχνουν ανάπτυξη συμπτωμάτων παρόμοιων με τον Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (ΣΕΛ), ενώ αντισώματα έναντι

αυτών των υποδοχέων οδήγησε σε σημαντική βελτίωση των συμπτωμάτων (Singer, Carrera, Marshak-Rothstein, Martínez-A, & Abbas, 1994).

Κατά το εσωτερικό μονοπάτι της απόπτωσης, η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια σε συνεργασία με το Apaf-1 ενεργοποιούν την κασπάση 9 (Ow, Green, Hao, & Mak, 2008) η οποία ενεργοποιεί τις κασπάσες 3 και 7. Το εναρκτήριο σήμα, Fas ligand, TNF ή TRAIL (TNF related apoptosis-inducing ligand) στην επιφάνεια του κυττάρου οδηγεί στη δημιουργία του συμπλόκου DISC την πρωτεΐνη FADD και την προκασπάση 8 (Strasser, Jost, & Nagata, 2009). Η πρωτεολυτική επεξεργασία της και ενεργοποίηση της κασπάσης 8 ενεργοποιεί την κασπάση 3, ή εναλλακτικά οδηγεί σε απελευθέρωση κυτοχρώματος c. Ο κατακερματισμός του DNA στην απόπτωση πραγματοποιείται από την CAD, μια DNAάση που ενεργοποιείται από τις κασπάσες (Enari et al., 1998). Η απελευθέρωσή της από την πρωτεΐνη καταστολέα της εξαρτάται από τη δράση της κασπάσης 3. Η κασπάση 3 επίσης ενεργοποιεί τη ROCK1 (Rho-associated Kinase 1) η οποία φωσφορυλιώνει τη μυοσίνη του κυτταροσκελετού προς το σχηματισμό των χαρακτηριστικών εξογκωμάτων (Sakahira, Iwamatsu, & Nagata, 2000), (Coleman et al., 2001). Στα επόμενα στάδια σχηματίζονται οι χαρακτηριστικές προεκβολές οι οποίες εκθέτουν πυρηνικό υλικό στην επιφάνειά τους, πράγμα που ανοίγει για τον οργανισμό το παράθυρο της αυτοανοσίας και της ενεργοποίησης αυτοαντιδρώντων B και T λεμφοκυττάρων (Cocca, Cline, & Radic, 2002), (M. Radic, Marion, & Monestier, 2004).

Έχει αποδειχτεί ότι παράγοντες όπως πεντραζίνες, η C1q πρωτεΐνη του συμπληρώματος, η C-reactive πρωτεΐνη ή η γαλακτοσφαιρίνη E8 (MFG-E8), δεσμεύονται στην επιφάνεια αποπτωτικών κυττάρων, προκαλώντας τη φαγοκυττάρωσή τους. Η πλούσια σε φωσφατιδυλοσερίνη επιφάνεια των αποπτωτικών κυττάρων αναγνωρίζεται και οδηγείται σε φαγοκυττάρωση από τους υποδοχείς Mer, Ax1 και Tyro3 της Gas6-εξαρτώμενης τυροσινικής κινάσης. Οποιαδήποτε δυσλειτουργία σε αυτούς τους μηχανισμούς μπορεί να οδηγήσει σε αυτοανοσία (Dwivedi & Radic, 2018). Όπως έχει αποδειχτεί σε ζωικά μοντέλα, ποντίκια με ανεπάρκεια στην MFG-E8 (Hanayama et al., 2004) ή στην DNAάσηII (Kawane et al., 2006) αναπτύσσουν αρθρίτιδα και αντιπυρηνικά αυτοαντισώματα μαζί με σπληνομεγαλία και σχετίζονται με τον φαινότυπο του Συστηματικού Ερυθρηματώδους Λύκου (ΣΕΛ). Ακόμα, ποντίκια με τριπλή απαλοιφή σε Mer, Ax1 και Tyro 3 αναπτύσσουν φαινότυπο παρόμοιο με του ΣΕΛ και της

Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας (ΡΑ), που περιλαμβάνει οίδημα στις αρθρώσεις και αυξημένα αντιπυρηνικά και αντιριβονουκλεοπρωτεϊνικά αυτοαντισώματα (Lu & Lemke, 2001), (M. Z. Radicetal., 2006).

1.3.2 Νέκρωση – Νεκρόπτωση και αυτοανοσία

Καθώς η νέκρωση αποτελεί μια πιο απότομη, τυχαία και μη οργανωμένη μορφή κυτταρικού θανάτου που προκαλείται από βίαιες αλλαγές στο κύτταρο, η ξαφνική απώλεια της κυτταρικής μεμβράνης έχει ως αποτέλεσμα τη μαζική διασπορά του περιεχομένου του κυττάρου και των προφλεγμονωδών πρωτεϊνών, DAMPs, όπως HMGB1, IL-1a, ATP κ.α. Υπάρχει όμως μια πιο οργανωμένη συνέχεια της συγκεκριμένης διαδικασίας, η νεκρόπτωση, που μπορεί να περιορίσει την άτακτη και ισχυρά προφλεγμονώδη φύση της νέκρωσης (Vandenabeele, Galluzzi, Vanden Berghe, & Kroemer, 2010). Αυτή η διαδικασία απαιτεί πολύπλοκη σηματοδότηση. Η νεκρόπτωση, που ξεκινάει με την παρουσία του TNFα, μπορεί επίσης να επαχθεί *de novo* μέσω της αναστολής της κασπάσης 8. Απαιτεί επίσης τη συμμετοχή των υποδοχέων ενεργοποίησης των πρωτεϊνικών κινασών (RIPK1, RIPK3) καθώς και των MLKL (Mixed Lineage Kinase domain Like), προκειμένου να σχηματιστεί ένα σύμπλοκο νέκρωσης (Cho et al., 2009). Η διαδικασία μπορεί να ανασταλεί από τη RIP1 (kinase inhibitor necrostatin-1). Ο σχηματισμός του συμπλόκου του νεκροσώματος επίσης απαιτεί την αποουβικουτινιλίωση της RIPK1 από το ένζυμο CYLD (Hitomi et al., 2008), (Moquin, McQuade, & Chan, 2013). Η ξαφνική και άτακτη απελευθέρωση του κυτταρικού περιεχομένου κατά τη νέκρωση απαιτεί τον έγκαιρο και αποτελεσματικό καθαρισμό του μικροπεριβάλλοντος, προκειμένου να αποφευχθούν εκτεταμένα φλεγμονώδη φαινόμενα. Η σύνδεση των νεκρωτικών κυττάρων με συστατικά του συμπληρώματος C3 και C4 είναι άμεση ενώ στην απόπτωση καθυστερεί (Gaipl et al., 2001). Δυσλειτουργία των συγκεκριμένων συστατικών του συμπληρώματος σχετίζεται με την αυτοανοσία. Παρ' όλο που στην απόπτωση σημαντικό ρόλο στην καταστροφή του κυττάρου διαδραματίζει η φαγοκυττάρωση, ο καθαρισμός των νεκρωτικών κυττάρων βασίζεται κυρίως στη μακροφωκυττάρωση (Krysko et al., 2006). Η απομάκρυνση των νεκρωτικών κυττάρων επίσης μεσολαβείται από τη C-reactive protein (CRP), την πρωτεΐνη SAP (Serum Amyloid Protein) και την DNAάσηI όπως και στα αποπτωτικά κύτταρα (Mulay et al., n.d.). Η αλληλοεπικάλυψη των συγκεκριμένων βημάτων των δύο μονοπατιών δεν

βοηθάει ιδιαίτερα στο να διακρίνουμε ποιος από τους δύο μηχανισμούς μέσω της δυσλειτουργίας του οδηγεί στην αυτοανοσία σε ζωικά μοντέλα με απαλοιφή για τα συγκεκριμένα συστατικά (X. Wu, Molinaro, Johnson, & Casiano, 2001), (Sachet, Liang, & Oehler, 2017). Παρ' όλο που η ακριβής συμμετοχή του συγκεκριμένου μηχανισμού δεν έχει αποσαφηνιστεί, είναι φανερό από τα μέχρι τώρα δεδομένα, πως ανεπάρκεια σε συγκεκριμένα συστατικά που οδηγούν σε φαγοκυττάρωση, δηλαδή στα συστατικά του συμπληρώματος τα MGF-8 ή μεταλλάξεις των υποδοχέων Mer, Axl και Tyro3, οδηγούν σε αυθόρμητα και ισχυρά φαινόμενα αυτοανοσίας έναντι πυρηνικών αυτοαντιγόνων (Dwivedi & Radic, 2018).

1.3.3 Αυτοφαγία και αυτοανοσία

Σήματα τα οποία μπορεί να οδηγήσουν στην έναρξη της αυτοφαγικής διαδικασίας, συμπεριλαμβάνουν διάφορους υποδοχείς αναγνώρισης παθογόνων, όπως TLRs (Toll-Like Receptors), αλλά και υποδοχείς παθογόνων IFN-gamma, DAP kinase, JNK, CD40, TNF-alpha, και NF-κB. Επιπλέον, συμπεριλαμβάνονται και μονοπάτια ενεργοποίησης από κυτταρικά θραύσματα, καθώς και πρωτεΐνες οι οποίες έχουν απωλέσει τη φυσιολογική τους αναδίπλωση (Levine, Mizushima, & Virgin, 2011). Το μονοπάτι AKT-TOR που ενεργοποιείται από την ινσουλίνη, καθώς και το Bcl-2 καταστέλλονται από Th2 κυτταροκίνες. Επομένως, η εμπλοκή της αυτοφαγίας τόσο στην έμφυτη, όσο και στην επίκτητη ανοσία είναι αναμενόμενη. TLR αγωνιστές, αλλά και σύμπλοκα του ανοσοποιητικού συστήματος, ενεργοποιούν τη διαδικασία της αυτοφαγίας έναντι βακτηρίων και παρασίτων που σχετίζεται με την πρωτεΐνη LC3, τη σχετιζόμενη με τους μικροσωληνίσκους (LAP), παράγοντες που φαίνεται να υπολειτουργούν στον ΣΕΛ. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα βακτήρια ενεργοποιούν το LAP μέσω των TLRs (Henault et al., 2012), (Lai & Devenish, 2012). Η σύντηξη των MHCII μορίων με τα αυτοφαγοσώματα οδηγεί στην παρουσίαση ενδοκυτταρικών αντιγόνων, ενώ η παρουσίαση των MHCI μπορεί να ενισχυθεί από την αυτοφαγία αλλά απαιτεί υψηλότερη συγκέντρωση αντιγόνων και περισσότερο χρόνο. Το τελευταίο την κατατάσσει στη δεύτερη γραμμή δράσης, εκτός από την περίπτωση δυσλειτουργίας της πρώτης οδού (Yin et al., 2018), (Chemali, Radtke, Desjardins, & English, 2011).

Ένας άλλος σημαντικός ρόλος της αυτοφαγίας είναι στην επιλογή των T λεμφοκυττάρων στο θύμο αδένα, ενώ συμμετέχει και στη ρύθμιση των B

λεμφοκυττάρων (Milleretal., 2008). Μελέτες έχουν δείξει ισχυρή συσχέτιση γονιδίων παραγωγής αντισωμάτων τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο και στην αυτοφαγία (Milan et al., 2015) και επιπλέον έχουν συσχετίσει αυτοάνοσα νοσήματα όπως ο ΣΕΛ με δυσλειτουργίες σε διάφορα επίπεδα της αυτοφαγίας (Clarke et al., 2015). Ακόμα, ο NF-κΒ, ο οποίος ρυθμίζει αρκετά γονίδια πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης, σχετίζεται με την αυτοφαγία και αυτή η διασύνδεση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή και την ανοσοαπόκριση (Trocoli & Djavaheri-Mergny, 2011), (Hayden & Ghosh, 2011).

Τέλος, οι κύριοι μεσολαβητές της ανοσοβιολογικής απόκρισης, οι κυτταροκίνες, σχετίζονται και με την αυτοφαγία. Χαρακτηριστικά αναφέρεται η IL-10, μια αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη, η οποία εμφανίζει ανασταλτική επίδραση στην αυτοφαγία μέσω του συμπλόκου mTOR (Park et al., 2011). Επίσης, η IL-6, που ανήκει στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και εμπλέκεται σε πολλά αυτοάνοσα νοσήματα, αναστέλλει την αυτοφαγία όταν αυτή προκαλείται από έλλειψη συστατικών. Το ίδιο ισχύει και για την IFN-γ η οποία επιδρά ρυθμίζοντας τα Bcl-2 και Beclin1 (B. Qin, Zhou, He, Yan, & Ding, 2015), (Dutta, Kathania, Raje, & Majumdar, 2012).

Στην έμφυτη ανοσία του ΣΕΛ, αύξηση του mTOR, σε συνδυασμό με ανεπάρκεια του ATG5, οδηγεί σε μη αποτελεσματική αυτοφαγία. Αυτό έχει ως συνέπεια την παραμονή πυρηνικών και κυτταροπλασματικών αντιγόνων που οδηγούν στην παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων ειδικών Β λεμφοκυττάρων και αντισωμάτων, μέσω της αύξησης της παραγωγής της IFN-γ από τα δενδριτικά κύτταρα. Στην επίκτητη ανοσία, η επιβίωση των Τ και των Β λεμφοκυττάρων επάγεται από την αυτοφαγία, η οποία με τη σειρά της ενισχύεται από τα υψηλά επίπεδα της LC3 (Yin et al., 2018).

Η ΣΚΠ είναι φλεγμονώδες οργανοειδικό νόσημα με αυτοαντιγόνα συστατικά της μυελίνης του ΚΝΣ, η οποία εκδηλώνεται με μορφές διαφορετικής βαρύτητας. Σε ζωικά μοντέλα (EAE), αλλά και σε ασθενείς έχει παρατηρηθεί αύξηση της ATG5 και της ανοσοσχετιζόμενης GTPάσης M, και μείωση της ATG16L2 στα αυτοαντιδρώντα Τ λεμφοκύτταρα (Paunovic et al., 2018), (Igcı et al., 2016). Ζωικά μοντέλα EAE με έλλειψη Beclin-1 γονιδίων σε CD4+ Τ κύτταρα που οδηγούνται σε αναστολή της αυτοφαγίας, κατέληξαν σε ικανοποιητική αναστολή των συμπτωμάτων (Konacs et al., 2012), ενώ παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε ζωικά μοντέλα με έλλειψη ATG7 (Bhattacharya, Parillon, Zeng, Han, & Eissa, 2014). Η ευεργετική

δράση της ραπαμυκίνης που αναστέλλει την αυτοφαγία σε EAE μοντέλα, ενισχύει ακόμα περισσότερο τον παθολογικό ρόλο της τελευταίας στη ΣΚΠ (Liang & Le, 2015).

Στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ), που είναι συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα που προσβάλλει τις αρθρώσεις, φαίνεται να συμμετέχουν δυσλειτουργικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως τα Β κύτταρα, τα μακροφάγα και τα Th17 και Tfh (Firestein, 2003). Οι ινοβλάστες, των οποίων η επιβίωση ρυθμίζεται από την αυτοφαγία και τη μειωμένη έκφραση του CHOP σε συνθήκες ενδοκυτταρικού στρες, έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της ασθένειας (Shin et al., 2010). Αν και υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα όσον αφορά της δράση της αυτοφαγίας στους αρθρικούς ινοβλάστες, έχει παρατηρηθεί ιδιαίτερα έντονη αυτοφαγική δραστηριότητα σε συνδετικό ιστό ασθενών (Buckland, 2013). Επιπλέον, στη ΡΑ η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που συσχετίζεται με την IL-17 έχει ανασταλτική επίδραση στην αποπτωτική δραστηριότητα των αρθρικών ινοβλαστών ενισχύοντας την αυτοφαγία (E. K. Kim et al., 2017).

Σε CD4+ T λεμφοκύτταρα στα οποία υπάρχει έντονη αυτοφαγία, προκαλείται αναστολή της απόπτωσής τους (van Loosdregt et al., 2016), ενώ αντιθέτως, η αναστολή της αυτοφαγίας σε συστήματα απαλοιφής γονιδίων ATG7 οδηγεί στην αναίρεση της αναστολής των συμπτωμάτων, φαινόμενο που μεσολαβείται από τη μειωμένη παραγωγή των IL-6 και IL-1 από την αναστολή της αυτοφαγίας (Lin et al., 2013). Τέλος η οπτινευρίνη ενισχύει τη σηματοδότηση των NF-κB και IFN-β, ρυθμίζοντας αρνητικά την οστεοκλαστογένεση, πράγμα που κάνει φανερό το ρόλο της αυτοφαγίας στην ΡΑ μέσω των προφλεγμονωδώνκυτταροκινών (Obaid et al., 2015).

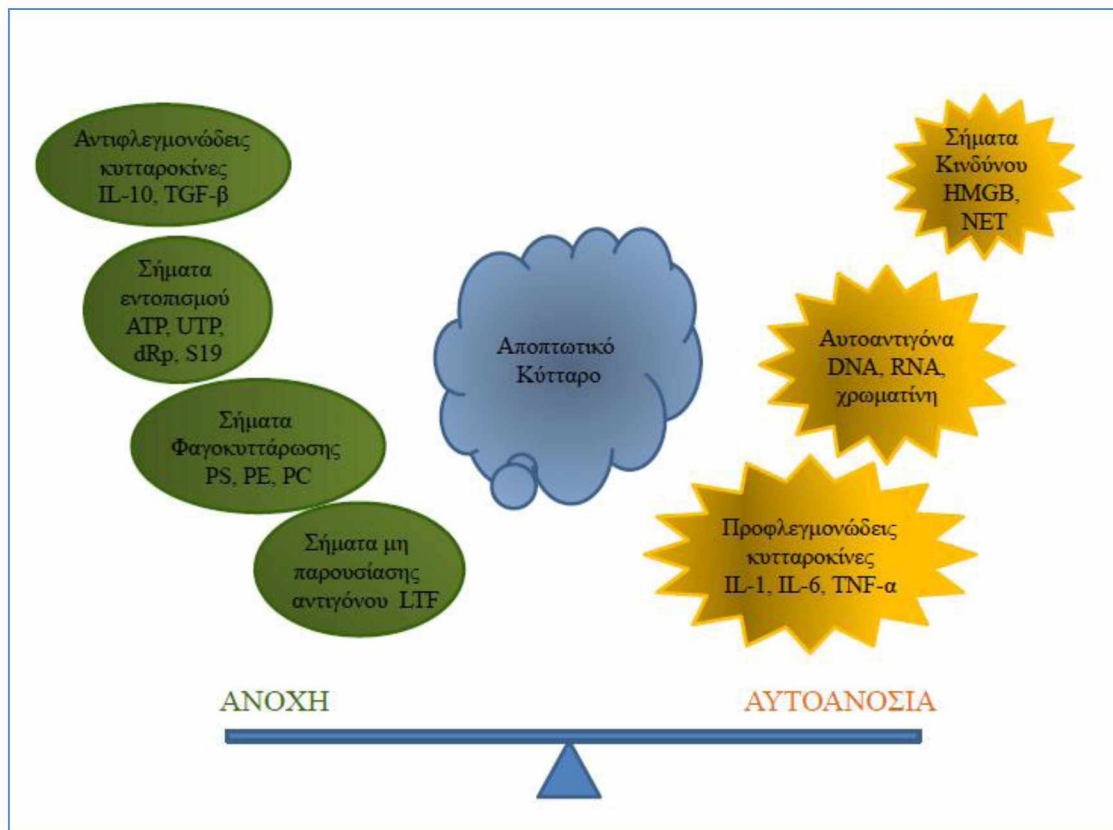
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Επιγενετική ρύθμιση κυτταρικού θανάτου σε αυτοάνοσα νοσήματα

Η αντίδραση του ανοσοβιολογικού συστήματος έναντι αυτοαντιγόνων χαρακτηρίζεται ως αυτοανοσία και μπορεί να αφορά οργανοειδικά ή συστηματικά νοσήματα. Στα οργανοειδικά νοσήματα η ανοσοβιολογική απόκριση αφορά αντιγόνα ενός συγκεκριμένου οργάνου, όπως συστατικά των αρθρώσεων στη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα, ή της μυελίνης του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος στη Σκλήρυνση Κατά Πλάκας. Στα συστηματικά νοσήματα η αντίδραση είναι πιο γενικευμένη, όπως στον Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο. Σε όλες τις περιπτώσεις παραβιάζεται η λεπτή γραμμή ισορροπίας μεταξύ ανοχής και αυτοανοσίας, διαδικασία που εμπλέκει και πλήθος επιγενετικών μηχανισμών (Mazzone et al., 2019).

Προκειμένου να διατηρηθεί η ομοιόσταση, τα αποπτωτικά κύτταρα εκκαθαρίζονται ταχύτατα από τα μακροφάγα, επειδή παρατεταμένη παραμονή αυτών των θραυσμάτων, ή συστατικών τους, μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή και έντονη ανοσοβιολογική δραστηριότητα, ή ακόμα και σε διαταραχή της ανοχής εάν υπάρχει το κατάλληλο γενετικό υπόβαθρο ή ο περιβαλλοντικός παράγοντας.

Σε φυσιολογικά αποπτωτικά κύτταρα εκκρίνονται αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-10, TGF-beta), καθώς επίσης και ειδικά σήματα προκειμένου να εντοπιστεί γρήγορα το αποπτωτικό κύτταρο (ATP adenosine triphosphate, UTP uridine triphosphate, dRpS19 dimero ribosomal protein S19), να φαγοκυτταρωθεί (PS phosphatidylserine, PE phosphatidylethanolamine, PC phosphatidylcholine) και να μην παρουσιαστούν τα αντιγόνα του (LTFL actotransferrin) προκειμένου να διατηρηθεί η ανοχή. Σε περίπτωση όμως διαταραχής της αποπτωτικής διαδικασίας και παρατεταμένης παραμονής, εκκρίνονται σήματα κινδύνου (HMGB-1 και NETs) και ταυτόχρονα γίνεται παρουσίαση αυτοαντιγόνων, με αποτέλεσμα να ενεργοποιούνται τα μακροφάγα και να εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1, IL-6, και TNF), πράγμα που οδηγεί στην αυτοανοσία (H. Wu, Fu, Zhao, Lu, & Lu, 2017).



Σχήμα 4: Τα αποπτωτικά κύτταρα επάγουν τόσο την ανοχή όσο και την αυτοανοσία;. Νωρίς στην αποπτωτική διαδικασία τα αποπτωτικά κύτταρα προάγουν την ανοχή μέσω αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών και σημάτων εντοπισμού ή μη παρουσίας αντιγόνου. Στην περίπτωση όμως παρατεταμένης παραμονής του αποπτωτικού κυττάρου ή των θραυσμάτων του, εκκρίνονται σήματα κινδύνου και επιπλέον γίνεται έκθεση αυτοαντιγόνων που προκαλούν την ενεργοποίηση των μακροφάγων και παράγουν με τη σειρά τους φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, συμβάλλοντας στην ανάπτυξη της αυτοανοσίας. ATP (adenosine triphosphate), UTP (uridine triphosphate), dRp S19 (dimer of ribosomal protein S19), PS (phosphatidylserine), PC (phosphatidylcholine), PE (phosphatidylethanolamine), LTF (Lactotransferrin). Τροποποιημένο σχήμα από (H. Wu et al., 2017)

Έρευνες έχουν συσχετίσει επιγενετικές τροποποιήσεις, όπως η μεθυλίωση του DNA με την ενεργοποίηση και δραστικότητα των μακροφάγων (Wallner et al., 2016) και ιδιαίτερα με τον ΣΕΛ όπου έχουν βρεθεί και αυξημένα επίπεδα S1P (sphingosine-1 phosphate) όπου η απομεθυλίωση του υποδοχέα του S1PR5 (sphingosine-1 phosphate receptor 5) οδηγεί σε δυσλειτουργία της φαγοκυτταρικής διαδικασίας (Barnawi, Jersmann, Haberberger, Hodge, & Meech, 2017).

Η αυτοανοσία προκύπτει όταν γενετικά επιδεκτικά άτομα έρθουν σε επαφή με έναν περιβαλλοντικό παράγοντα όπως κάποιο μικροβιακό αντιγόνο ή ακτινοβολία, ικανό να πυροδοτήσει την εκδήλωση της αυτοανοσίας. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων, αυτοί οι παράγοντες διεγείρουν τις διαδικασίες κυτταρικού θανάτου, πιθανότατα και επιγενετικά, οδηγώντας σε αυξημένη και εκτεταμένη παρουσίαση ενδοκυτταρικών αυτοαντιγόνων. Αυτό θέτει σε κίνδυνο τη λειτουργία της ανοχής και καταλήγει στη μη φυσιολογική παρουσίαση αυτοαντιγόνων από νεκρά κύτταρα στα T λεμφοκύτταρα και σε επακόλουθη εκδήλωση αυτοανοσίας.

Πίνακας 1:Επιγενετικές αλλαγές σε αυτοάνοσα νοσήματα.

Αυτοάνοσο Νόσημα	Μεθυλίωση DNA	Τροποποίηση Ιστονών	miRNA
ΣΕΛ	↓ T κυττάρων ↓ IFN ↓ περφορίνη	↑ H3, H4 μεθυλίωση ↑ H3, H4 ακετυλίωση	↑ miRNA-21 ↑ miRNA-148a
ΡΑ	↑ Αρθρικών κυττάρων ↓ T κυττάρων	↑ H3 ακετυλίωση	↑ miRNA-146a
ΣΚΠ	↓ T κυττάρων	Δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα	↑ miRNA-25 ↑ miRNA-106β ↑ miRNA92α-1

Τροποποιημένος από (Mazzone et al., 2019).

Ο ρόλος των ρυθμιστικών κυττάρων

CD4+CD25+ T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα (Tregs) εκφράζουν μια ποικιλία αντιγόνων όπως ο CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen-4), ο TNFR (Tumor Necrosis Factor Receptor) Toll-Like Receptor 4 (TLR4), Programmed Death-1 (PD-1). Τα T ρυθμιστικά κύτταρα συμμετέχουν στην καταστροφή των T λεμφοκυττάρων μέσω διαφόρων οδών. Μπορούν να απελευθερώσουν το granzyme A/B μαζί με περφορίνη, προκαλώντας απευθείας ενεργοποίηση πρωτεασών και απόπτωση. Επίσης μπορούν να ενεργοποιήσουν το μονοπάτι μέσω του TRAIL-DR5 (Tumor necrosis factor-related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)-Death Receptor 5) (Declercq, Vanden Berghe, & Vandenabeele, 2009), (Z. Zhang & Zhang, 2015). Επίσης τα Foxp3 T ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα ενισχύουν την έκφραση των κασπασών 3 και 9 και μειώνουν την έκφραση αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών, αναστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προάγοντας την απόπτωση και τη νέκρωση (Ma et al., 2013).

2.1 Επιγενετική ρύθμιση της απόπτωσης στην αυτοανοσία

Η απόπτωση, η οποία ενεργοποιείται μέσω του υποδοχέα Fas και του εξωτερικού μονοπατιού, ή του Bcl-2 και του εσωτερικού μονοπατιού, πυροδοτείται από εξωκυτταρικούς (ακτινοβολία, κυτταρικό στες φλεγμονή κ.α.) ή ενδογενείς παράγοντες όπως το p53. Σε κάθε περίπτωση ενεργοποιείται η κασπάση 3 που ξεκινάει τη διαδικασία της απόπτωσης (H. Wu et al., 2017).

2.1.1 Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)

Στον ΣΕΛ έχει παρατηρηθεί αυξημένη απόπτωση T λεμφοκυττάρων σε περιφερικό αίμα αλλά και σε δερματικές βλάβες. Επιπλέον, ορός από ασθενείς προκάλεσε την αύξηση της απόπτωσης σε φυσιολογικά λεμφοκύτταρα και ουδετερόφιλα, πράγμα που μπορεί να οφείλεται στις αυξημένες συγκεντρώσεις του διαλυτού προσδέτη Fas (FasL) στον ορό των ασθενών, και άρα στην ενεργοποίηση του εξωτερικού μονοπατιού της απόπτωσης. Η υπερϊώδης ακτινοβολία, εκτός από έναν εξωγενή παράγοντα που πυροδοτεί την απόπτωση δείχνει και ισχυρή συσχέτιση με την ενεργοποίηση του ΣΕΛ. Η δημιουργία αποπτωτικών διογκώσεων και λυσοσωμάτων αποτελούν τις κύριες πηγές αυτοαντιγόνων. Ανώριμα δενδριτικά κύτταρα ωριμάζουν ώστε να παρουσιάσουν αυτά τα αντιγόνα σε συνδυασμό με άλλα συνοδά μόρια ενεργοποιητές, όπως CD86, CD40 MHCII καθώς και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως IL-6 και IL-12β. Στην συνέχεια ενεργοποιούν τα T λεμφοκύτταρα. Σε αυτή την περίπτωση η δράση της IL-6 αναστέλλει τα T ρυθμιστικά και ενισχύει τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων. Ακολουθεί η ενεργοποίηση των B αυτοαντιδρώντων κυττάρων και η παραγωγή αυτοαντισωμάτων. Αυτά τα φαινόμενα, εκτός του ότι οδηγούν στην εκδήλωση της αυτοάνοσης φλεγμονής, προκαλούν περαιτέρω ενεργοποίηση της απόπτωσης, διαταραχή της ανοχής και άρα επιδείνωση της ασθένειας. Παρ' όλ' αυτά η αναστολή της απόπτωσης των T λεμφοκυττάρων έχει αποδειχτεί ότι συνεισφέρει στην ανάπτυξη του ΣΕΛ (H. Wu et al., 2017).

miRNAs και απόπτωση στον ΣΕΛ

Σε ζωικά μοντέλα του ΣΕΛ με μετάλλαξη του Fas παρατηρήθηκε ανεπαρκής απόπτωση κα άρα υψηλός ρυθμός πολλαπλασιασμού B και T λεμφοκυττάρων, καθώς

και επακόλουθη ανάπτυξη φλεγμονής και νεφρίτιδας. Ομάδες αντιαποπτωτικών miRNA παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση σε ασθενείς, ενώ τα προαποπτωτικά miRNA εμφανίζουν αυξημένη έκφραση. Το miRNA17-92, που αναστέλλει την απόπτωση εμφανίζει μειωμένη έκφραση σε διάφορες μελέτες (Mogilyansky & Rigoutsos, 2013), (Carlsen et al., 2013). Η χορήγηση γλυκοκορτικοστεροειδών οδήγησε στην αύξηση των miRNA29β και miRNA29-c σε T λεμφοκύτταρα ασθενών, για τα οποία είναι γνωστό ότι στοχεύουν μέλη της οικογένειας των αντιαποπτωτικών Bcl-2 (Hong et al., 2013), (H. Qin et al., 2013). Τέλος, και το miRNA21, που λειτουργεί ως καταστολέας της απόπτωσης, εμφανίζει αυξημένα επίπεδα σε διάφορες μελέτες σε ασθενείς με ΣΕΛ (Stagakis et al., 2011), (Z. M. Tang et al., 2014).

Μεθυλίωση του DNA και απόπτωση στον ΣΕΛ

Όσον αφορά τη μεθυλίωση και την επίδρασή της στην απόπτωση στον ΣΕΛ, τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Παρ' όλ' αυτά, γονίδια που σχετίζονται με την απόπτωση, όπως το p53 ογκοκατασταλτικό γονίδιο, υπερεκφράζονται, μέσω της διαδικασίας της απομεθυλίωσης του DNA, οδηγώντας ταυτόχρονα σε αυξημένη απόπτωση σε περιφερικό αίμα και σε κύτταρα αλλοιώσεων του δέρματος ασθενών με ΣΕΛ (Weinreb & Desman, 2005), (Chauhan, Handa, Das, & Pati, 2004). Υπομεθυλίωση του DNA έχει επίσης παρατηρηθεί σε CD4+ αλλά όχι σε CD8+ T λεμφοκύτταρα ασθενών (Javierre et al., 2010), (Z. M. Tang et al., 2014). Η υπομεθυλίωση αυτή στη θέση του p53 μπορεί να σχετίζεται με αυξημένη έκφρασή του και άρα δυσλειτουργική αποπτωτική διαδικασία σε ασθενείς.

Η MBD4 (Methyl-CpG-Binding Domain 4) μπορεί να επιστρατευτεί από μεθυλιωμένο DNA οδηγώντας σε περεταίρω επιγενετικές τροποποιήσεις ιστονών και αναδιάταξη χρωματίνης ήδη μεθυλιωμένων περιοχών. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη, που εμπλέκεται στην αποπτωτική διαδικασία, βρέθηκε να είναι αυξημένη στα CD4+ T λεμφοκύτταρα, πράγμα που οδηγεί σε ενδείξεις παρεμβολής στην αποπτωτική διαδικασία σε ασθενείς (Balada, Ordi-Ros, Serrano-Acedo, Martinez-Lostao, & Vilardell-Tarrés, 2007).

Τα μόρια Fas-FasL και PD-1-PD-L1 επίσης ρυθμίζονται μέσω της μεθυλίωσης και συμμετέχουν στο μονοπάτι της απόπτωσης επηρεάζοντας σημαντικά την εκδήλωση του ΣΕΛ. Και τα δύο έχουν βρεθεί να οδηγούνται σε υπερέκφραση σε λεμφοκύτταρα έπειτα από υπομεθυλίωση περιοχών των υποκινητών τους. Ακόμα κι

αν κάτι τέτοιο δεν οδηγεί στην αποσαφήνιση του μονοπατιού εξέλιξης της νόσου, δεν παύει να αποτελεί έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο (H. Wu et al., 2017).

2.1.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (RA)

Η RA, ως χρόνια αυτοάνοσο νόσημα, χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη σύνθεση φλεγμονωδών κυτταροκινών στο αρθρικό υγρό, καθώς και υπερπλασία στην περιοχή, με αυξημένη φλεγμονώδη κυτταρική παρουσία. Αυτή η έντονα επιθετική παρουσία των αρθρικών ινοβλαστών, καθώς και η αντίστασή τους στην απόπτωση έχει μάλιστα οδηγήσει στο χαρακτηρισμό τους ως καρκινικού τύπου (Fassbender, Seibel, & Hebert, 1992). Η διαφοροποίηση των αρθρικών ινοβλαστών δεν έχει συνδεθεί με κάποιο γενετικό τόπο και θεωρείται ότι οφείλεται σε επιγενετικές τροποποιήσεις.

Ένας από τους βασικούς μηχανισμούς παθογένειας της ασθένειας είναι η παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών από τους αρθρικούς ινοβλάστες, η οποία μεσολαβείται από επιγενετικούς παράγοντες. Η έξαρση και εξέλιξη της νόσου βασίζεται σε φαινόμενα γενικότερης υπομεθυλίωσης στους αρθρικούς ινοβλάστες, λόγω της μειωμένης έκφρασης γονιδίων όπως της DNMT1. Στα ίδια κύτταρα παρατηρείται μεθυλίωση υποκινητών συγκεκριμένων γονιδίων όπως των DR3 (death receptor 3), πράγμα που επηρεάζει την αποπτωτική διαδικασία καθώς και την παραγωγή της IL-6. Επιπλέον, το μεγαλύτερο ποσοστό επίπτωσης της ασθένειας στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες μπορεί να συσχετιστεί με το φαινόμενο αδρανοποίησης του X χρωμοσώματος το οποίο φαίνεται να υπερεκφράζεται στο αδρανοποιημένο X χρωμόσωμα των CD4+ T λεμφοκυττάρων των θηλυκών ασθενών, πράγμα που δεν ισχύει για τους άνδρες (Aslani et al., 2016).

miRNA και απόπτωση στη RA

Η διαφοροποιημένη έκφραση των miRNA μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στη παθογένεια της RA. Μελέτες έδειξαν αύξηση της έκφρασης των miR-155 και miR-146 σε αρθρικούς ινοβλάστες ασθενών στους οποίους χορηγήθηκαν TNF-α και IL-1β. Μονοκύτταρα από περιφερικό αίμα ασθενών έδειξε υψηλότερες συγκεντρώσεις miR-155, ενώ ενισχυμένη έκφρασή του κατέστειλε τις μεταλλοπρωτεΐνες 3 καθώς επίσης μείωσε την επαγωγή της έκφρασης των μεταλλοπρωτεΐνισών 3 και 1 από τους TLR προσδέτες, συσχετίζοντας τη δράση τους με την αυτοφαγία. Αυτός ο

κατασταλτικός ρόλος του miR-155 στις μεταλλοπρωτεϊνάσες μπορεί να καταδεικνύει έναν κρίσιμο βήμα στην ενεργοποίηση της καταστροφικής δράσης των αρθρικών ινοβλαστών στη ΡΑ (Stanczyk et al., 2008). Αυτά τα δεδομένα ενισχύονται και από άλλη μια έρευνα μελέτης της έκφρασης του miR-146 (Nakasa et al., 2008). Τα επίπεδα miR-146 στους αρθρικούς ινοβλάστες αυξήθηκαν με τη χορήγηση TNF-α και IL-1β ενώ περαιτέρω ανάλυση σε περιφερικό αίμα και αρθρικό υγρό των ασθενών έδειξε αύξηση της έκφρασης του miR-146α και μείωση της έκφρασης των miR-363 και miR-498. Βρέθηκε δε, θετική συσχέτιση της έκφρασης miR-146α με τον TNF-α. Επιπλέον, η υπερέκφραση του miR-146α κατέστειλε την απόπτωση των Τ λεμφοκυττάρων καταδεικνύοντας σημαντικό ρόλο του miR-146α στην παθογένεια της νόσου. Επιπλέον ανεξάρτητες μελέτες υποδεικνύουν τα miR-146α και miR-155 ως μόρια με σταθερά ενισχυμένη έκφραση σε αρθρικούς ινοβλάστες και σε μονοκύτταρα περιφερικού αίματος αλλά και αρθρικού υγρού ασθενών καθώς και σε Τ κύτταρα και Th17 κύτταρα (Stanczyk et al., 2008)(Jingyi Li et al., 2010) (Pauley et al., 2008). Επιπλέον, το miRNA-155 φαίνεται να αποτελεί μόριο ρυθμιστή προφλεγμονωδών κυτταροκινών σε μονοκύτταρα ασθενών με ΡΑ και η ποσότητα του σχετίζεται άμεσα με τον παθολογικό φαινότυπο της ασθένειας. (Elmesmari et al., 2016). Έρευνες σε ζωικά μοντέλα ενίσχυσαν το ρόλο των miRNA-146α και miRNA-155, οι οποίες έχουν χαρακτηριστικά διαφοροποιημένη έκφραση σε ασθενείς με ΡΑ, μια και χορήγησή τους σε ποντίκια οδήγησε στην αναστολή της οστεοκλαστογένεσης και της καταστροφής των αρθρώσεων (Nakasa, Shibuya, Nagata, Niimoto, & Ochi, 2011).

Μεθυλίωση DNA και απόπτωση στη ΡΑ

Έχει περιγραφεί και διαφοροποιημένη μεθυλίωση σε λεμφοκύτταρα ασθενών με ΡΑ που μπορεί να οδηγεί στη δημιουργία αυτοαντιδρώντων Τ και Β κλώνων, ενώ οι υποκινητές των CD21 και IL-6 βρέθηκαν υπομεθυλιωμένοι σε περιφερικά μονοκύτταρα ασθενών. Μελέτες επιπέδων μεθυλίωσης σε ολόκληρο το γονιδίωμα αποκάλυψαν διαφορές στα Β κύτταρα υγείων και ασθενών (Glossop et al., 2016). Μερικές από αυτές συσχέτισαν τη διαφοροποίηση με το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας MHC (Y. Liu et al., 2013). Όσον αφορά τα Τ ρυθμιστικά λεμφοκύτταρα των ασθενών αποκαλύφθηκε υπερμεθυλίωση η οποία θα μπορούσε να εμποδίσει τη δέσμευση του μεταγραφικού παράγοντα NF-AT2 οδηγώντας σε μικρότερη έκφραση του CTLA-4 (Cribbs et al., 2014).

Η ενεργοποίηση των αρθρικών ινοβλαστών στη PA μπορεί να οφείλεται στην προοδευτική απώλεια της μεθυλίωσης σε συγκεκριμένους τόπους. Η μεθυλίωση των CpG νησίδων στην περιοχή του υποδοχέα θανάτου 3 (DR3) των αρθρικών ινοβλαστών οδηγεί στην αυξημένη αντίστασή τους στην απόπτωση (Takami et al., 2006).

Η αντίσταση των αρθρικών ινοβλαστών στην απόπτωση φαίνεται να σχετίζεται και με μια άλλη διαδικασία εκτός από τις τροποποιήσεις των ιστονών όπως η δράση τροποποιητών παρόμοιων με την ουβικουιτίνη (SUMOs, Small Ubiquitin-like Modifiers) οι οποίοι επηρεάζουν την ικανότητα των αρθρικών ινοβλαστών να αντιδρούν στην απόπτωση που επάγεται από τη σύνδεση με το Fas. Αυτά τα μόρια φαίνεται να υπερεκφράζονται στους αρθρικούς ινοβλάστες (Meinecke et al., 2007).

Ακετυλίωση και απόπτωση στη PA

Μελέτες μονοκυττάρων ασθενών με PA οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών παρουσίασαν αυξημένη δραστηριότητα αποακετυλασών HDAC των ιστονών, συγκρινόμενα με αντίστοιχα κύτταρα υγείων ατόμων (Gillespie et al., 2012).

Τροποποιήσεις ιστονών σε αρθρικούς ινοβλάστες

Έχει παρατηρηθεί μειωμένη δράση αποακετυλασών σε αρθρικούς ινοβλάστες στην PA σε σχέση με άλλες ασθένειες όπως στην οστεοαρθρίτιδα, ενώ έχει καταγραφεί και αυξημένη ακετυλίωση ιστονών στον υποκινητή της IL-6, συνδέοντάς την με αυξημένη έκφραση και τη διαδικασία της απόπτωσης (Wada et al., 2014). Επιπλέον, αυξημένη σηματοδότηση βρέθηκε στην ενεργή μορφή της H3K4me3 των υποκινητών των MMP-1, MMP-3, MMP-9, και MMP-13 και μειωμένη σηματοδότηση της H3K27me3 των υποκινητών των MMP-1 και MMP-9. Αυτές οι επιγενετικές διαφοροποιήσεις θα μπορούσαν εν μέρη να εξηγήσουν τα αυξημένα επίπεδα των MMP στους αρθρικούς ινοβλάστες στους ασθενείς, καθώς και την επιθετική συμπεριφορά και την αντίσταση στην απόπτωση (Araki et al., 2016).

2.1.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).

MicroRNAs και απόπτωση στη ΣΚΠ

Παρ όλο που έχουν επιχειρηθεί πολλές προσεγγίσεις στον εντοπισμό μιας πιθανής διαφορικής έκφρασης miRNAs στη ΣΚΠ τα αποτελέσματα είναι ανομοιογενή, αν όχι αντιφατικά, πιθανότατα λόγω της ετερογένειας των δειγμάτων των μορφών της ασθένειας ή των τύπων κυττάρων που μελετήθηκαν η ακόμα και των τεχνικών μέσω των οποίων πραγματοποιήθηκαν. Αξιοποιήσιμα αποτελέσματα θα μπορούσαν να προκύψουν από ομοιογενείς και αμιγείς πληθυσμούς κυττάρων ασθενών και υγείων μαρτύρων, όπως σε δυο μελέτες που κατέληξαν, όχι μόνο στον εντοπισμό συγκεκριμένων miRNAs με διαφορετική έκφραση στους ασθενείς, αλλά επιπλέον και στη συσχέτιση του miR-92a-1 με το βαθμό εξέλιξης και τη διάρκεια την νόσου σε ασθενείς με RRMS (Gandhi et al., 2013). Παρ όλ αυτά, η συσχέτιση των miRNAs με την επαγωγή η αναστολή του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου παραμένει αναπόδεικτη.

2.2 Επιγενετική ρύθμιση νέκρωσης και νεκρόπτωσης στην αυτοανοσία

Αυτή η μορφή κυτταρικού θανάτου όπου ενεργοποιούνται μονοπάτια του TNF και Fas-FasL και προστατεύει έναντι ενδοκυτταρικών παθογόνων έχει αποδειχτεί ότι διατηρεί μεγάλη συσχέτιση με την IFN-α.

2.2.1 Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)

Σε μοντέλα ποντικών όπου έχει γίνει απαλοιφή του υποδοχέα της IFN-α των μακροφάγων εμφανίζεται μειωμένη νεκρόπτωση όταν αυτή προκαλείται από *Salmonella*. Αυτό το αποτέλεσμα υποδεικνύει μια συσχέτιση του ρόλου της νεκρόπτωσης σε ασθενείς με ΣΕΛ που παρουσιάζουν μειωμένη παραγωγή IFN-α (Murphy et al., 2013), (Hos et al., 2017). Προς επιβεβαίωση, άλλες μελέτες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα του συγκεκριμένου τύπου κυτταρικού θανάτου σε Β λεμφοκύτταρα ασθενών με ΣΕΛ (Hos et al., 2017). Επιπλέον, παρουσιάζεται έντονη ερευνητική δραστηριότητα στο μονοπάτι του TNF που σχετίζεται με την ασθένεια, ο οποίος φαίνεται να επηρεάζει άμεσα τη νεκροπρωτική δραστηριότητα (H. Wu et al., 2017).

2.2.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ)

Σε περιφερικό αίμα ασθενών με ΡΑ, τόσο το ποσοστό όσο και η ενεργότητα των Τ ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (CD4+CD25+) φάνηκαν να είναι αρκετά μειωμένα, ενώ το ποσοστό των Th17 κυττάρων και των συσχετιζόμενων κυτταροκινών όπως IL-17, IL-23, IL-6, και TNF-α, βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες. Το ισοζύγιο Th17/Treg φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικό στην έναρξη και εξέλιξη της νόσου (Kawashiri et al., 2011).

2.2.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).

Η ενεργότητα των Τ ρυθμιστικών κυττάρων στη ΣΚΠ φαίνεται να επηρεάζεται από την επίδραση των miR-106b και miR-25. Η επιγενετική τους ρύθμιση αφορά το μονοπάτι στο οποίο εμπλέκεται ο TGF-β (De Santis et al., 2010). Επίσης έχει παρατηρηθεί υποχώρηση της ασθένειας σε ΕΑΕ μοντέλα ποντικών μέσω της μείωσης της IL-6, καθώς και των σχετιζόμενων με τα Th17 κύτταρα κυτταροκινών, και αύξησης των ίδιων των Τ ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (R. Zhang et al., 2015). Επιπλέον, το miR-17- 92 συμμετέχει στη διαφοροποίηση των Τ ρυθμιστικών μέσω της ρύθμισης της έκφρασης της IL-10 σε ΕΑΕ ποντίκια (de Kouchkovsky et al., 2013). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν τη συσχέτιση της επιγενετικής ρύθμισης των Τ ρυθμιστικών κυττάρων και συνεπώς της συμμετοχής τους στην απόπτωση και στη νέκρωση στη ΣΚΠ (Shu et al., 2017).

Μεθυλίωση και νέκρωση στη ΣΚΠ

Ανάλυση 485000 θέσεων CpG του γονιδιώματος περιφερικού αίματος ασθενών με ΣΚΠ και υγιών μαρτύρων έδειξε διαφορετική μεθυλίωση σε 30 κυρίως περιοχές μεταξύ των οποίων κι ο TCR η IL-32 (Graves et al., 2014). Μια άλλη, μεγαλύτερη ανάλυση συγκριτικής μεθυλίωσης κατέδειξε 319 σημαντικά υπερμεθυλιωμένες και 220 σημαντικά υπομεθυλιωμένες περιοχές, οι οποίες σχετίζονται με την επιβίωση των ολιγοδενδριτικών κυττάρων και την ανοσοβιολογική απόκριση αντίστοιχα (Huynh & Casaccia, 2013).

Τροποποίηση ιστονών και νέκρωση στη ΣΚΠ

Οι ακετυλάσες και οι αποακετυλάσες των ιστονών HATs και HDACs στοχεύουν επίσης σε μια ευρύτερη ποικιλία πρωτεϊνών οι οποίες ρυθμίζουν τον

μεταβολισμό και τον κυτταρικό θάνατο. Στα νευρικά κύτταρα, η μη συντονισμένη ρύθμιση της ομοιόστασης της ακετυλίωσης ενοχοποιείται για εκφυλιστικές νόσους του νευρικού συστήματος (Sweet, Shakespear, Kamal, & Fairlie, 2012). Στο δημοφιλέστερο ζωικό μοντέλο της ΣΚΠ, την ΕΑΕ, αναστολείς των HDAC, καθώς και μεταβολίτες τους, παρεμπόδισαν την ανάπτυξη της επαγόμενης, μέσω μεταφοράς αυτοαντιδρώντων κυττάρων, ΕΑΕ (Dasgupta, Zhou, Jana, Banik, & Pahan, 2003). Παρόμοιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και σε ποντίκια τα οποία ανοσοποιήθηκαν με αυτοαντιγόνο, στα οποία η χορήγηση τέτοιων μεταβολιτών ανέστειλε τα συμπτώματα (Camelo et al., 2005). Στη συγκεκριμένη μάλιστα μελέτη, τα αυξημένα επίπεδα ακετυλίωσης των ιστονών σε ΕΑΕ ποντίκια, στα οποία είχε χορηγηθεί τέτοιος μεταβολίτης, συσχετίστηκαν με μειωμένη έκφραση κασπασών 3 και 9 συσχετίζοντας τη με την απόπτωση και τη νέκρωση.

Άλλες μελέτες επίσης έχουν δείξει ότι η αναστολή των HDAC επηρεάζει και τη λειτουργία των δενδριτικών κυττάρων των Th1, Th17, και των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων (Nencioni et al., 2007). Μειώνει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-6, IL-12, TNF- α) από τα δενδριτικά κύτταρα, καθώς επίσης καταστέλλει την έκφραση των IL-6, IL-12, και TNF- α σε δενδριτικά κύτταρα μυελού των οστών σε ποντίκια (Reddy et al., 2008). Οι HDAC αναστολείς δρουν παρεμποδίζοντας τη δράση των Th1 και Th17 κυττάρων και μειώνουν τα επίπεδα IL-12 και IL-23 που παίζουν ρόλο κλειδί στη μετατροπή των T κυττάρων σε Th1 και Th17. Τέλος, αναστέλλουν την ανάπτυξη των T ρυθμιστικών κυττάρων, αποακετυλιώνοντας τον μεταγραφικό παράγοντα Foxp3 (Tao et al., 2007). Επιπρόσθετα δεδομένα δείχνουν ότι η ενίσχυση της δράσης των ρυθμιστικών κυττάρων από HDAC αναστολείς οφείλεται στην ενισχυμένη έκφραση του αρνητικού ρυθμιστή CTLA-4, ή αλλιώς CD152. Αναστολείς των HDACi μπορούν να προστατεύσουν από μια αυτοάνοση απόκριση στο νευρικό σύστημα τόσο μέσω ανοσοκατασταλτικών φαινομένων όσο και μέσω της επιβίωσης των νευρικών κυττάρων εμπλέκοντας διαμεσολαβητές απόπτωσης και νεκρωσης (Akimova et al., 2010).

2.3 Επιγενετική ρύθμιση του αυτοφαγικού κυτταρικού θανάτου στην αυτοανοσία

Η αυτοφαγία, εκτός από τον φυσιολογικό της ρόλο, που είναι η εκκαθάριση μη λειτουργικών πρωτεϊνών και οργανιδίων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και στην

ανάπτυξη και διαφοροποίηση B και T λεμφοκυττάρων (H. Wu et al., 2017). Ο mTOR (serine/threonine kinase Mammalian Target Of Rapamycin), αποτελεί μόριο ρυθμιστή της αυτοφαγικής διαδικασίας. Η φαγοκυττάρωση των DNA-ICs από τα δενδριτικά κύτταρα οδηγεί στην ενεργοποίηση του TLR9 (Toll Like Receptor 9) και την επακόλουθη έκκριση IFN-α, πράγμα που οδηγεί στην ενεργοποίηση της LAP (LC3-Associated Phagocytosis) αυτοφαγικής διαδικασίας. Κάτι τέτοιο όμως εντείνει ακόμα περισσότερο την αντίδραση στο ενδοκυτταρικό DNA, οπότε ένα άλλο μόριο ρυθμιστής της αυτοφαγίας η Beclin-1, αναστέλλει την παραγωγή της IFN-α που παίζει κρίσιμο ρόλο στην παθογένεια του ΣΕΛ και άλλων αυτοάνοσων νοσημάτων.

2.3.1 Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος (ΣΕΛ)

Διαταραχές της αυτοφαγίας έχουν συνδεθεί με την αυτοανοσία και ειδικότερα στον ΣΕΛ (Weissmann, 1964). Έρευνες έχουν συσχετίσει μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς του γονιδίου Atg5 (autophagy-related gene 5) με την επιδεκτικότητα στον ΣΕΛ (X. J. Zhou et al., 2011), ενώ έχει αποδειχτεί επίσης ότι και το Atg7 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των B λεμφοκυττάρων και στην αυτοφαγία στον ΣΕΛ (Clarke et al., 2015). Σε ασθενείς, έχουν ανιχνευτεί χαμηλά επίπεδα Beclin-1, mTOR, και LC3-II (Pan et al., 2015). Παρ' όλο που η αυτοφαγία σχετίζεται με επιγενετικούς μηχανισμούς, η συσχέτιση τους με την παθογένεση της ασθένειας παραμένει ασαφής. Μελέτες έχουν δείξει ότι η Sirtuin-1 (Sirt-1), μια αποακετυλάση των ιστονών, που ρυθμίζει την αυτοφαγική διαδικασία μέσω της μιτοχονδριακής δραστηριότητας, έχει αυξημένα επίπεδα σε ζωικά μοντέλα ΣΕΛ (MRL/lpr mice) (Hu, Long, Zhao, Yin, & Lu, 2009). Η υπολειτουργία της ίδιας πρωτεΐνης οδηγεί σε αυξημένη ακετυλίωση των H3 και H4 ιστονών με αποτέλεσμα να μειώνονται τα αντι-dsDNA IgG αντισώματα και οι βλάβες στα νεφρά (Javierre et al., 2010).

2.3.2 Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ)

Αρκετές μελέτες έχουν συσχετίσει τα επίπεδα της IL-3 και της έκφρασης του Sirt1. Συγκεκριμένα η αύξηση της IL-3 φαίνεται να συσχετίζεται με μειωμένα επίπεδα έκφρασης του Sirt1 και αυξημένη αποπτωτική δραστηριότητα σε μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών (Mazzone et al., 2019).

Στους αρθρικούς ινοβλάστες ασθενών με ΡΑ παρατηρήθηκε αυξημένη μεθυλίωση των ιστονων H3K4 και μειωμένη των H3K27, οδηγώντας στην αύξηση της έκφρασης των MMP-1,-9,-3 και MMP-13 οι οποίες εμπλέκονται στην εξωκυττάρια αποικοδόμηση. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί υπερμεθυλίωση, και άρα μείωση του DR3, που σχετίζεται με αντίσταση στην απόπτωση και διαταραχή της αυτοφαγίας.

Όσον αφορά τον ρόλο των miRNA, η αύξηση των miRNA203 και 155 συσχετίζονται με εξωκυττάρια αποικοδόμηση μέσω της αύξησης MMP-1 και IL-6 στην πρώτη περίπτωση και μείωση MMP-3 στη δεύτερη. Η μείωση του miRNA34 σχετίζεται με αντίσταση στην απόπτωση, ενώ του miRNA20a και 19b σχετίζονται με τα TLR4 και την αυτοφαγία και TLR2 αντίστοιχα. Τέλος, μείωση του miRNA22 οδηγεί σε αύξηση του CYR61, που επηρεάζει τόσο τον πολλαπλασιασμό, όσο και τη διαφοροποίηση των Th17 κυττάρων (Araki et al., 2016).

2.3.3 Σκλήρυνση Κατά Πλάκας (ΣΚΠ).

Η μελέτη των Kulakova et al. συνέκρινε φυσιολογικούς δότες και ασθενείς δυο διαφορετικών μορφών της ασθένειας RRMS και PPMS. Στους ασθενείς παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης σε περισσότερους από τους μισούς γενετικούς τόπου που μελετήθηκαν, και επιπλέον τα επίπεδα μεταξύ των ασθενών παρουσίαζαν διαφορές στη μεθυλίωση με υψηλότερη σε αυτά των PPMS, που αποτελεί και την πιο επιθετική μορφή της ασθένειας. Το ESRRG γονίδιο, που αποτελεί πιθανό μεταγραφικό παράγοντα του DMNT1, παρουσίαζε διαφορετικό επίπεδο μεθυλίωσης μεταξύ των δυο ομάδων των ασθενών. Επιπλέον στους ασθενείς με την προοδευτική μορφή της νόσου διαφορετική μεθυλίωση παρατηρήθηκε μεταξύ άλλων και στο γονίδιο ATG16L2 που σχετίζεται με την αυτοφαγία (Kulakova et al., 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.

Φαρμακευτική Προσέγγιση

Σύμφωνα με όσα αναπτύχθηκαν στις προηγούμενες ενότητες, είναι σαφές από τη μέχρι τώρα ερευνητική δραστηριότητα, ότι υπάρχει επιγενετική βάση στα αυτοάνοσα νοσήματα. Οι επιγενετικές όμως διαφοροποιήσεις έχουν απλά καταγραφεί και παρατηρηθεί. Θα ήταν εξαιρετικά χρήσιμο, αν μπορούσε να αποσαφηνιστεί, κατά πόσο αυτές οι αλλαγές είναι η πραγματική αιτία, ή το αποτέλεσμα της εξέλιξης της αυτοανοσίας. Σε κάθε περίπτωση όμως, η μη μονιμότητα της αλλαγής, σε αντίθεση με τις αλλαγές του γονιδιώματος, που είναι μόνιμες, καθιστά τις επιγενετικές αλλαγές έναν ιδιαίτερα ελκυστικό θεραπευτικό στόχο. Φαρμακευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν σε επιγενετικές αλλαγές στα αυτοάνοσα νοσήματα, θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αναστολή, ή και αναστροφή των συμπτωμάτων σε ορισμένες περιπτώσεις (Egger, Liang, Aparicio, & Jones, 2004).

3.1 Επιγενετικές αλλαγές που αφορούν τη μεθυλίωση του DNA

Χαρακτηριστικό παράδειγμα παρέμβασης στη συγκεκριμένη επιγενετική διαδικασία, αποτελεί ο πρωτότυπος αναστολέας 5 αζακυτιδίνη. Αρχικά, αναπτύχθηκε ως κυτταροτοξικός παράγοντας όμως, όπως αποδείχτηκε στη συνέχεια, διαθέτει πιθανή δραστικότητα αναστολέα DNAμεθυλοτρανσφερασών. Η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία υποκαθιστά τις κυτοσίνες στο αντιγραφόμενο DNA, και άρα η δραστικότητά του κορυφώνεται στην S φάση του κυτταρικού κύκλου, όπου και πραγματοποιείται η αντιγραφή. Δεσμεύεται όμως και σε RNA, διακόπτοντας τη μετάφραση των αγγελιαφόρων mRNA. Επιπλέον, αναστέλλει τη μεθυλίωση παρεμποδίζοντας τις DNAμεθυλοτρανσφεράσες.

Μελέτες σε ζωικά μοντέλα Συστηματικής Σκλήρυνσης, έδειξαν ότι τέτοιοι αναστολείς ανέστρεψαν τα πρότυπα υπερμεθυλίωσης σε ινοβλάστες και επανέφεραν την Wnt σηματοδότηση και την έκφραση κολλαγόνου τύπου I (Dees et al., 2014). Στα EAE ζωικά μοντέλα της ΣΚΠ η χορήγηση 5-αζα-20-δεοξυκυτιδίνης ενίσχυσε την ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα των Foxp3⁺ T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων. Επιπλέον, ανέστειλε την εξέλιξη της νόσου στα πειραματόζωα, καταστέλλοντας ταυτόχρονα τη φλεγμονώδη αντίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Vojinovic et al., 2011), (Chan et al., 2014).

Στα φαινόμενα όμως της μεθυλίωσης υπάρχει πάντα και η άλλη όψη του νομίσματος. Η 5-αζακυτιδίνη επέδειξε την ακριβώς αντίστροφη δράση, ενισχύοντας τη λειτουργία των T ρυθμιστικών κυττάρων μέσω της απομεθυλίωσης του Foxp3 και ταυτόχρονα ενίσχυσε την έκφραση των IgG από τα B λεμφοκύτταρα (Lal et al., 2009), (Wang et al., 2014). Τέτοιου είδους διττές δράσεις καθιστούν τη χρήση αυτού του φαρμάκου δυσχερή, ειδικά σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, των οποίων τα κύτταρα συχνά εμφανίζουν εκτεταμένη υπομεθυλίωση σε κρίσιμες περιοχές. Πιθανή λύση στο πρόβλημα της διττής δράσης των αζανουκλεοζιτών μπορεί να αποτελέσει η χρήση αναλόγων όπως η zebularine, προκαϊναμίδη και των 5-φθορο-20-δεοξυκυτιδινών και της υδραλαζίνης. Αυτά τα ανάλογα χρησιμοποιούνται για τις καρδιακές αρρυθμίες και την υπέρταση αντίστοιχα. Πέρα από τις συνθετικές φαρμακευτικές ουσίες, χρησιμοποιούνται και φυσικά προϊόντα, όπως συστατικά που απομονώνονται από τσάι και σπόγγους τα οποία αναστέλλουν τη δράση των DNAμεθυλοτρανσφερασών (Zouali, 2019).

Σε καταστάσεις όπως ο καρκίνος, κλινικές δοκιμές που στοχεύουν την DNAμεθυλοτρανσφεράση 1, βρίσκονται ήδη σε εξέλιξη, όμως κάτι τέτοιο δε φαίνεται να είναι άμεσα εφικτό για τα αυτοάνοσα νοσήματα. Ο κύριος λόγος είναι το γεγονός ότι στην αυτοανοσία οι αλλαγές αφορούν κυρίως την υπομεθυλίωση και όχι την υπερμεθυλίωση περιοχών του γονιδιώματος. Έρευνες έχουν δείξει ότι παράγοντες απομεθυλίωσης, όπως η υδραλαζίνη, μειώνουν την ικανότητα ανοχής των B λεμφοκυττάρων, συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη και εξέλιξη της αυτοανοσίας (Mazari, Ouazane, & Zouali, 2007). Αυτοάνοσα νοσήματα στα οποία παρατηρείται εκτεταμένη υπομεθυλίωση, όπως ο ΣΕΛ και η ΡΑ, απαιτούν το σχεδιασμό και την ανάπτυξη παραγόντων ενίσχυσης της μεθυλίωσης του DNA. Πρέπει να σημειωθεί βέβαια, ότι ο σχεδιασμός θα πρέπει να είναι αρκετά λεπτομερής, ώστε να αποφευχθεί μη επιθυμητή υπερμεθυλίωση, σχετιζόμενη με περιοχές δημιουργίας νεοπλασιών. Κατά τη διάρκεια των ερευνών εμφανίζονται ορισμένα αποτελέσματα διαφορικής επιγενετικής δράσης τέτοιων παραγόντων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μεθοτρεξάτη η οποία εξαλείφει τη δράση της SAM (S-adenosyl-methionine) που αποτελεί υπόστρωμα DNAμεθυλοτρανσφερασών κατά τη διάρκεια της μεθυλίωσης του DNA, μειώνοντας τη δραστηριότητά της (Nihal, Wu, & Wood, 2014). Σε ασθενείς με ΡΑ η συγκεκριμένη ουσία φαίνεται να αυξάνει τη μεθυλίωση του DNA. Κάτι παρόμοιο έχει παρατηρηθεί και με το κυκλοφωσφαμίδιο. Αυτά τα αποτελέσματα θέτουν ένα επιπλέον ζήτημα επίδρασης της επιγενετικής δράσης ορισμένων

φαρμάκων στην κλινική αποτελεσματικότητά τους (de Andres et al., 2015), (J. Zhang et al., 2011).

3.2 Αναστολείς Αποακετυλίωσης ιστονών

Η δράση των HDAC και HAT ενζύμων, έγκειται στη ρύθμιση της μεταγραφής των γονιδίων μέσω της αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. Τα σύμπλοκα που δημιουργούνται από το DNA και τις ιστόνες, καθιστούν το DNA προσβάσιμο και χαλαρά διαμορφωμένο στην περίπτωση των HATs που ακετυλιώνουν το αμινοτελικό άκρο των ιστονών, επιτρέποντας την πρόσβαση των μεταγραφικών παραγόντων και της RNA πολυμεράσης. Σε αντίθεση, η δράση των HDACs αφορά την απομάκρυνση των ακετυλομάδων από τα αμινοτελικά άκρα των ιστονών, αποκαθιστώντας τη μη προσπελάσιμη, μεταγραφικά ανενεργή μορφή του DNA. Έντονη ερευνητική δραστηριότητα παρατηρείται στην ανάπτυξη αναστολέων αποακετυλασών (HDACis). Τα αποτελέσματα δείχνουν αντιφλεγμονώδη δράση σε πειραματόζωα και *in vitro* μελέτες (Halili, Andrews, Sweet, & Fairlie, 2009). Παρ' όλο που η δράση των HDACs παραπέμπει σε αποακετυλίωση των ιστονών, φυλογενετικές αναλύσεις υποδεικνύουν δράση αποακετυλίωσης από τα συγκεκριμένα μόρια και σε άλλες πρωτεΐνες μη ιστόνες. Τα σημεία ακετυλίωσης που αφορούν τη δράση τους είναι περίπου 3600 σε 1750 πρωτεΐνες, εκ των οποίων μόνο οι 61 αφορούν ιστόνες, επεκτείνοντας έτσι τη σφαίρα επιρροής τους στα επίπεδα του φαινομένου της φωσφορυλίωσης. Ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών, επεκτείνεται διαρκώς και βρίσκει εφαρμογή σε ένα μεγάλο εύρος ασθενειών, όπως ο καρκίνος ή νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η δράση των HDAC αναστολέων έχει συσχετιστεί με αύξηση της αυτοφαγίας σε αρκετές μορφές καρκίνου και άλλες ασθένειες όπως σε εγκεφαλικές βλάβες, αλλά δεν έχει αποδειχθεί τέτοιου είδους δράση μέχρι τώρα σε αυτοάνοσα νοσήματα (Hargarten & Williamson, 2018). Συγκεκριμένα, τέτοιοι αναστολείς όπως το SAHA και το TSA, έχουν δείξει ευεργετικά αποτελέσματα σε ζωικά μοντέλα του ΣΕΛ (Ballestar, Esteller, & Richardson, 2006). Το TSA παρουσιάζει ανοσοκατασταλτική δραστηριότητα σε ανθρώπινα T λεμφοκύτταρα ασθενών με ΣΕΛ (Zouali, 2019). Στα T λεμφοκύτταρα ασθενών με ΣΕΛ παρατηρείται μειωμένη ακετυλίωση, σε αντίθεση με την ενίσχυση της ακετυλίωσής τους, που θεωρήθηκε ότι θα είχε ευεργετικό αποτέλεσμα. Αναστολείς αποακετυλίωσης ιστονών, όπως το υποερουλανιλίδιο, το υδροξυαμικό οξύ

(SAHA) και το TSA έχουν δείξει ευεργετική δράση βελτίωσης των συμπτωμάτων του ΣΕΛ σε ζωικά μοντέλα (Zouali, 2019). Το υδροξυαμικό οξύ είναι και από τις ελάχιστες δραστικές ουσίες της οποίας η δράση συσχετίζεται με αυξημένη απόπτωση ινοβλαστών σε ζωικά μοντέλα αρθρίτιδας (Klein & Gay, 2015). Παρ' όλ' αυτά το βαλπροϊκό οξύ, που χρησιμοποιείται σε διπολικούς ασθενείς και αναστέλλει τις αποακετυλάσες των ιστονών, οδήγησε επιληπτικούς ασθενείς, στους οποίους χορηγήθηκε, στην ανάπτυξη συμπτωμάτων παρόμοιων με αυτά του ΣΕΛ (Yung & Mau, 2014).

Παρά τα μη αναμενόμενα αντιφατικά αποτελέσματα, τα οποία δημιουργούν περιορισμούς στις προσδοκίες εφαρμογής μιας τέτοιας θεραπείας, η χορήγηση HDAC αναστολέων στην νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα, οδήγησε σε ευεργετικά αποτελέσματα (Vojinovic et al., 2011). Η ρυθμιστική δράση της ακετυλίωσης στον κύριο μεταγραφικό παράγοντα φλεγμονωδών καταστάσεων NF-κB είναι αποδεδειγμένη. Δεδομένου ότι ο NF-κB ενεργοποιείται και ρυθμίζει τον κυτταρικό θάνατο των β κυττάρων μέσω της IL-1β, είναι φανερό η πιθανή ευεργετική δράση της αναστολής των HDAC στα β κύτταρα τα οποία υπόκεινται σε τοξικές κυτταροκίνες. Ο HDAC αναστολέας TSA, επιδεικνύει ανασταλτική δράση στην ενεργοποίηση των ινοβλαστών στην Συστηματική Σκλήρυνση. Επιπλέον, η ανασταλτική του δράση στην HDAC7 μειώνει την έκφραση των γονιδίων COL1A1 και COL3A1. Σε αρθρικά κύτταρα από ασθενείς με PA, το TSA μείωσε τη σταθερότητα των mRNA που κωδικοποιούν IL-6 και διέκοψε την παραγωγή της προφλεγμονώδους κυτταροκίνης. Επίδραση του TSA στα T λεμφοκύτταρα του ΣΕΛ ανέστρεψε το πρότυπο αυξημένης έκφρασης του CD40L και της IL-10 και την ανώμαλη έκφραση της IFN-γ (Zouali, 2019).

Αναστολείς αποακετυλασών των ιστονών, που εφαρμόστηκαν σε κλινικές δοκιμές όπως ο ITF2357, στην περίπτωση της ιδιοπαθούς αρθρίτιδας, οδήγησαν σε θετικά αποτελέσματα στα 2/3 ενός συνόλου 17 ασθενών, ενώ δεν έλειψαν και αντιφατικά αποτελέσματα σε τρεις από αυτούς (Vojinovic et al., 2011). Η ευεργετική δράση του συγκεκριμένου αναστολέα, αποδίδεται από τους ερευνητές στη μείωση της έκφρασης της IL-6, ενώ οι πιο σύγχρονες έρευνες εφαρμογής HDAC αναστολέων επικεντρώνονται στη βελτιστοποίηση της θεραπευτικής ικανότητας, και την ελαχιστοποίηση της τοξικότητάς τους (Lee et al., 2015). Σε ζωικά μοντέλα της ελκώδους κολίτιδας υπάρχουν παρόμοια αποτελέσματα από τη χρήση HDAC αναστολέων, όπως για παράδειγμα του SAHA και του ITF2357 καθώς και του

βαλπροϊκού οξέος, οι οποίοι μείωσαν τη φλεγμονώδη αντίδραση και ανέστειλαν συμπτώματα, όπως αιμορραγίες ή απώλεια ιστού. Παράλληλα, παρατηρήθηκε και μείωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών σε καλλιέργειες (Zouali, 2019). Είναι όμως φανερό, ότι επειδή κάθε HDAC μπορεί να στοχεύει σε διαφορετικά γονίδια μπορεί να έχουμε ως αποτέλεσμα τη διαφορετική έκφραση πολλών γονιδίων και άρα αυξημένη τοξικότητα (Kroesen et al., 2014). Γι αυτό το λόγο θα πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπ' όψη η διττή δράση των αναστολέων αυτών στην επιγενετική θεραπεία καθώς και στην εφαρμογή ασφαλέστερων πρωτοκόλλων.

3.3 Θεραπείες με στόχο microRNAs

Η διαφορετική έκφραση των microRNAs στα αυτοάνοσα νοσήματα, τα καθιστά ισχυρούς υποψήφιους βιοδείκτες, επομένως μπορούν να αποτελέσουν εξίσου ελκυστικούς θεραπευτικούς στόχους μέσω της επαγωγής ή της αναστολής τους. Μια ήδη εφαρμοζόμενη, σε ερευνητικό επίπεδο, τακτική είναι ο σχεδιασμός ολιγονουκλεοτιδίων που στοχεύουν σε microRNAs (anti-miRs). Αυτά εμφανίζουν ισχυρή συμπληρωματικότητα με το microRNA στόχο, αναστέλλοντας τη δράση του, ή ακόμα και προκαλώντας την αποδόμησή του, όπως έχει φανεί σε πειράματα κυτταροκαλλιεργείων. Σε δοκιμές πειραματικών μοντέλων αρθρίτιδας, τέτοιου είδους αποσιώπηση του miR-223 οδήγησε σε μείωση των κλινικών συμπτωμάτων (Jixi Li et al., 2012). Υπήρξε επίσης και κλινική δοκιμή σε πέντε ασθενείς με ΣΕΛ, οι οποίοι είχαν υψηλά επίπεδα ιντερφερονών, στους οποίους η ρύθμιση των επιπέδων έκφρασης του miR-146a οδήγησε σε μείωση της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων, δημιουργώντας ισχυρές προσδοκίες για την ευεργετική δράση της συγκεκριμένης θεραπευτικής προσέγγισης (Y. Tang et al., 2009). Η αναστολή της έκφρασης των miRNA, δεν περιλαμβάνει μόνο ολιγονουκλεοτίδια όπως αυτά που περιγράφηκαν, αλλά και μικρά μόρια αναστολές ή miRNA σπόγγους. Τα miRNA σπόγγοι, είναι αλληλουχίες mRNA που περιλαμβάνουν πολλές θέσεις δέσμευσης miRNA, και η προσθήκη τους σε κυτταροκαλλιέργειες, μέσω φορέων που τις κωδικοποιούν, οδηγεί στην απαλοιφή των miRNA, επιτρέποντας έτσι τη μετάφραση των mRNA στόχων. Η χρήση τέτοιων miRNA σπόγγων στη ΣΚΠ, με στόχο την αποσιώπηση του miR-326, οδήγησε στη μείωση των Th17 κυττάρων και την άμβλυνση των συμπτωμάτων της νόσου (Zouali, 2019). Παρ' όλ' αυτά η συσχέτιση της δράσης των miRNA με τις μορφές κυτταρικού θανάτου δεν έχει αποδειχθεί στην αυτοανοσία, παρά μόνο για τη

νόσο του Crohn όπου η δράση ενός πλήθους miRNA φαίνεται να μειώνει τα επίπεδα της αυτοφαγίας και άρα την απόπτωση και τη νέκρωση στην οποία αυτή οδηγεί όταν αποτύχει να επαναφέρει την κυτταρική λειτουργία σε κατάσταση στρες (Hargarten&Williamson, 2018).

3.4 Επιγενετική Έγερση Ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων

Η θεραπευτική χρήση των ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σταθερότητα της έκφρασης του δείκτη Foxp3, μια και η απώλεια της έκφρασής του και η επακόλουθη μετατροπή των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων σε T κύτταρα τελεστές, μπορεί να έχει δυσμενείς συνέπειες για την κλινική τους αποτελεσματικότητα. Είναι επίσης γνωστό, ότι εκτός από την έκφραση του Foxp3 στη σταθεροποίηση των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων συμμετέχουν και επιγενετικοί μηχανισμοί, όπως η τροποποιήσεις των ιστονών, ή η μεθυλίωση του DNA, η έκφραση των miRNA και οι αλλαγές στη διαμόρφωση της χρωματίνης (Zouali, 2019), (Arveyetal., 2015), (Huehn&Beyer, 2015).

Στο πλαίσιο δημιουργίας μιας θεραπευτικής στρατηγικής που περιλαμβάνει την έγερση σταθερών κατασταλτικών T ρυθμιστικών κυττάρων, χορηγήθηκε σε ποντίκια ο παράγοντας HDAC9, ένας HDAC αναστολέας κλάσης II, ο οποίος προκάλεσε αύξηση των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων, καθώς και της λειτουργικότητάς τους, τόσο σε ποντίκια όσο και σε πιθήκους (Zouali, 2019). Δεν παρατηρήθηκε όμως κάτι ανάλογο με αναστολείς κλάσης I. Επίσης, οι DNMT αναστολείς προκαλούν αύξηση της έκφρασης των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων, παρ' όλ' αυτά το φαινόμενο συνοδεύεται από αυξημένη κυτταρική τοξικότητα και ενισχυμένη έκφραση, τόσο των Th1 όσο και των Th2 κυτταροκινών (Lal et al., 2009). Έχει αποδειχτεί από μελέτες σε ανθρώπους, ότι τα Foxp3^{hi}CD41^{lo} T λεμφοκύτταρα παρά την ετερογένειά τους μπορούν να κατηγοριοποιηθούν, δείχνοντας ένα πρότυπο απομεθυλιωμένων περιοχών που σχετίζεται με την κατασταλτική ενεργότητα της κάθε ομάδας. Τα CD45RA^{hi}Foxp3^{lo} μη ενεργά T ρυθμιστικά και τα CD45RA^{lo}Foxp3^{hi} ενεργοποιημένα T ρυθμιστικά εμφανίζουν 85-100% απομεθυλίωση συγκεκριμένων θέσεων και κατασταλτική δράση, ενώ τα CD45RA^{lo}Foxp3^{lo} T ρυθμιστικά εμφανίζουν λιγότερο από 50% απομεθυλίωση συγκεκριμένων θέσεων, δε διαθέτουν κατασταλτική δράση και εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, όπως IL-2 και IFN-γ (Miyara et al., 2009). Τα

δεδομένα αυτά δείχνουν ότι υφίσταται ένα ρεαλιστικό σενάριο σχεδιασμού και δημιουργίας σταθερών T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων μέσω επιγενετικών μηχανισμών, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά στα αυτοάνοσα νοσήματα.

3.5 Βιοδείκτες

Διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιοχές του γονιδιώματος σε αυτοάνοσα νοσήματα και σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως στη PA, θα μπορούσε να λειτουργήσει και ως βιοδείκτης για την ασθένεια. Τα μη διαφοροποιημένα T κύτταρα στη PA παρουσιάζουν κοινές περιοχές υπερμεθυλίωσης με FLS (Rhead et al., 2017). Υπάρχει ερευνητική δραστηριότητα γύρω από το πεδίο απόδειξης της συσχέτισης αυτού του επιγενετικού χαρακτηριστικού, με τον κίνδυνο ανάπτυξης PA, και της εδραίωσης του ως χρήσιμου βιοδείκτη αξιολόγησης της εξέλιξης της νόσου.

Ένα άλλο μόριο με επιγενετική δράση που θα μπορούσε να αποδειχτεί χρήσιμος βιοδείκτης είναι τα miRNAs, μια και ανιχνεύονται σχετικά εύκολα σε αρκετά υγρά του σώματος. Στη νεφρίτιδα του ΣΕΛ τα miR-26a και miR-30b παρουσιάζονται ως υποψήφια μόρια βιοδείκτες, μια και μειώνεται η έκφρασή τους στους ασθενείς (Costa-Reis et al., 2015). Από αυτά, το miR-26a αυξάνονται στα εξωσωμάτια ούρων, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο ενδοκυτταρική σηματοδότηση (Ichii et al., 2014), ενώ το miR-29c φάνηκε να συσχετίζεται άμεσα, και να διαθέτει ακόμα και προγνωστική αξία, για τη δυσλειτουργία των νεφρών στον ΣΕΛ (Zouali, 2019). Αυτά τα στοιχεία καθιστούν τα miR-26a και miR-30b ισχυρούς πιθανούς βιοδείκτες για το μέλλον. Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι το miR30b συσχετίζεται με μείωση της αυτοφαγικής διαδικασίας σε νεοπλασματικές κατάστασεις (Hargarten & Williamson, 2018). Θα πρέπει βέβαια να ληφθεί σοβαρά υπ όψη το γεγονός ότι υπάρχει σοβαρή διακύμανση στην ερμηνεία των συγκεκριμένων μορίων ως βιοδεικτών (Churov, Oleinik, & Knip, 2015). Τα μόρια αυτά επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από το φύλο και αρκετούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως και από τον τρόπο ζωής (Vrijens, Bollati, & Nawrot, 2015), (Khalifa et al., 2016). Επιπλέον, δεν έχουν καθιερωθεί ακόμα αριθμητικά τα επίπεδά τους, για να υπάρχει κάποιο σημείο αναφοράς του δείκτη, παρά τη διαφορετική έκφραση που φαίνεται να παρουσιάζουν στο ΣΕΛ. Τέλος, τα επίπεδα αυτών των μορίων επηρεάζονται σημαντικά κατά τη

διάρκεια και την εξέλιξη φλεγμονωδών καταστάσεων, καθιστώντας τη χρήση τους ιδιαίτερα δυσχερή. Για παράδειγμα, στη PA σε μελέτες σύγκρισης ασθενών μαρτύρων, η χορήγηση τόσο του adalimumab (αντι-TNF αντίσωμα), όσο και του etanercept (μια ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη η οποία περιλαμβάνει μέρος του υποδοχέα του TNF και της σταθερής περιοχής των IgG1 αντισωμάτων), δεν οδήγησαν σε καμία σαφή αξιολόγηση των miRNAs στόχων (Cuppen et al., 2016). Προτού χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες απαιτείται περαιτέρω αξιολόγηση των μορίων αυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.

Περιβάλλον

Εκτός από τη συσχέτιση γενετικών και επιγενετικών παραγόντων στην απώλεια της ανοχής και την έγερση της αυτοανοσίας, αλλά και της εμπλοκής τους στους μηχανισμούς κυτταρικού θανάτου που περιγράφηκαν στα κεφάλαια που προηγήθηκαν, εξαιρετικά πιθανή είναι και η εμπλοκή περιβαλλοντικών παραγόντων. Μάλιστα, η εμπλοκή των περιβαλλοντικών παραγόντων στην αυτοανοσία, δεν αφορά μόνο την απώλεια της ανοχής σε γενετικά επιδεκτικά άτομα, αλλά και τη διαταραχή επιγενετικών μηχανισμών υπό την πίεση περιβαλλοντικών ερεθισμάτων, όπως την υπερέκφραση κάποιων φυσιολογικά αποσιωπημένων γονιδίων μέσω ενεργοποίησης επιγενετικών ρυθμιστικών μονοπατιών. Περιβαλλοντικοί παράγοντες που ενοχοποιούνται για τέτοια φαινόμενα είναι η υπεριώδης ακτινοβολία, διατροφικές συνήθειες, φάρμακα, τοξικά χημικά καθώς και μικροβιακές μολύνσεις.

4.1 Υπεριώδης Ακτινοβολία

Είναι γνωστό ότι η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί να οδηγήσει σε απομεθυλίωση συγκεκριμένων περιοχών της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Στην αυτοανοσία σχετίζεται με φαινόμενα έξαρσης των συμπτωμάτων και συγκεκριμένα στον ΣΕΛ, η φωτοευαισθησία αποτελεί χαρακτηριστικό σχεδόν των δύο τρίτων των ασθενών (Zouali, 2019), ενώ μειώνει την έκφραση της DNMT1 σε επίπεδο μεταγραφής και εμποδίζει τη διαδικασία της μεθυλίωσης των T λεμφοκυττάρων ασθενών (H. Qin et al., 2013). Παρ' όλ' αυτά, ο μηχανισμός μέσω του οποίου η υπεριώδης ακτινοβολία πραγματοποιεί τη δράση της σε επίπεδο μεταβολής της μεθυλίωσης του DNA παραμένει άγνωστος.

4.2 Φάρμακα

Παρ' όλο που η επαγωγή αυτοανόσων νοσημάτων όπως ο ΣΕΛ είναι ένα χαρακτηριστικό που έχει βρεθεί για αρκετές φαρμακευτικές ουσίες, όπως η ισονιαζίνη, τα σουλφαναμίδια, η προκαϊναμίδη, η υδραλαζίνη και άλλες, χωρίς να είναι γνωστός ο μηχανισμός με το οποίο δρουν, δύο από αυτές ενοχοποιούνται περισσότερο, η προκαϊναμίδη και η υδραλαζίνη. Η προκαϊναμίδη είναι μια

φαρμακευτική ουσία που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των αρρυθμιών, ενώ η υδραλαζίνη είναι ένα αντιυπερτασικό φάρμακο (Zouali, 2019). Η προκαϊναμίδη και η υδραλαζίνη εγείρουν τη δημιουργία αντιστονικών αντισωμάτων, ενώ και τα δύο αναστέλλουν την DNAμεθυλοτρανσφεράση 1. Η διαφορά έγκειται στον τρόπο δράσης τους. Η προκαϊναμίδη δρα ως ανταγωνιστικός αναστολέας ενώ η υδραλαζίνη δρα έμμεσα μέσω του ERK που ελέγχει ανασταλικά τη μεταγραφή των DNAμεθυλοτρανσφερασών. Στα ζωικά μοντέλα, η υδραλαζίνη ενοχοποιήθηκε και για τη μεταστροφή της ανοχής των Β λεμφοκυττάρων έναντι αυτοαντιγόνων, και την πυροδότηση αυτοαντισωμάτων (Mazari et al., 2007).

4.3 Τοξικές Ουσίες

Η συστηματική και χρόνια έκθεση σε χημικά, έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να πυροδοτήσει αυτοάνοσα νοσήματα. Τέτοια χημικά περιλαμβάνουν ξενοβιοτικά συστατικά, συστατικά πετρελαιοειδών, διοξείδιο του πυριτίου και άλλα (Pollard, Hultman, & Kono, 2010). Ένα από τα βασικά συστατικά φαρμάκων, παρασιτοκτόνων, πλαστικών, υφασμάτων αλλά και φωτογραφικών υγρών, η υδραζίνη, έχει ενοχοποιηθεί ιδιαίτερος. Αποτελεί δε συστατικό μυκήτων αλλά και προϊόντων καπνού, και είναι γνωστό ότι οι καπνιστές διαθέτουν σημαντικά αυξημένα ποσοστά εμφάνισης ΡΑ και ΣΕΛ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Ένα άλλο συστατικό προϊόντων διατροφής το τετραμεθυλοπενταδεκάνιο (TMPD), με την κοινή ονομασία pristane, έχει δείξει δυνατότητα έγερσης αυτοανοσίας σε ζωικά μοντέλα, ενώ σε *in vitro* πειράματα επάγει αλλαγές στη χρωματίνη, και επομένως στην έκφραση κάποιων γονιδίων. Ένα άλλο, βιομηχανικής φύσεως συστατικό, το τριγλωροαιθυλένιο, έχει αποδειχτεί να επιδεινώνει την αυτοανοσία και η δράση του εκτυλίσσεται μέσω της διαφοροποίησης προτύπων μεθυλίωσης του DNA. Τέλος, τα βαρέα μέταλλα, τα οποία ενοχοποιούνται για πολλές και διαφορετικές καταστάσεις, έχουν ενοχοποιηθεί και για τη δημιουργία αυτοάνοσων νοσημάτων, και μάλιστα η δράση τους συσχετίζεται με μια πληθώρα διαφορετικών επιγενετικών μηχανισμών που δρουν στην έκφραση διαφόρων γονιδίων (Zouali, 2019).

4.4 Μικροβίωμα

Το ανθρώπινο μικροβίωμα αποτελεί ουσιαστικά έναν περιβαλλοντικό παράγοντα εγκατεστημένο στο εσωτερικό του ανθρώπινου σώματος, και ως τέτοιος

μπορεί να επηρεάσει την έκφραση γονιδίων μέσω επιγενετικών μηχανισμών και να συσχετιστεί, όπως αποδεικνύεται από πρόσφατες έρευνες, με αυτοάνοσα νοσήματα. Μερικά αυτοάνοσα νοσήματα που σχετίζονται με αλλαγές στο μικροβίωμα, είναι η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (IBD), η ΡΑ, ο ΣΕΛ και ο διαβήτης τύπου 1. Η επίδραση του μικροβιώματος στο επιγένομα σχετίζεται με αλλαγές, τόσο της σύστασης, όσο και της λειτουργίας του. Ένας τρόπος με τον οποίο επηρεάζεται η έκφραση των γονιδίων του ξενιστή, είναι η μεταφορά μικροβιακών επιγενετικών ενζύμων ή και μη κωδικοποιών RNA μορίων στα κύτταρα του, χωρίς αυτό να αποκλείει το σενάριο της επίδρασης προϊόντων του μεταβολισμού των μικροβίων στα επιγενετικά ένζυμα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου, που μπορούν να δράσουν ως αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών, φαινόμενο που μπορεί να οδηγήσει ακόμα και σε καταστολή μιας φλεγμονώδους αντίδρασης σε μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος, σε μακροφάγα, T λεμφοκύτταρα, αλλά και δενδριτικά κύτταρα (Vinolo et al., 2011), (Chang, Hao, Offermanns, & Medzhitov, 2014), (Agraia et al., 2013).

Παρ' όλ' αυτά, και οι επιγενετικές αλλαγές με τη σειρά τους μπορούν να έχουν επίδραση στο ίδιο το μικροβίωμα, όπως για παράδειγμα miRNAs εγκλεισμένα σε εξωκυτταρικά κυστίδια, μπορούν να εισέλθουν στα βακτηριακά κύτταρα, επηρεάζοντας τη γονιδιακή τους έκφραση. Η συσχέτιση αυτή έχει αποδειχτεί σε πειραματικά μοντέλα ποντικού, όπου τα νεογνά αδυνατούν να αναπτύξουν ένα φυσιολογικό μικροβίωμα, όταν απενεργοποιηθεί το ένζυμο Dicer που παίζει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση των miRNA μορίων (S. Liu et al., 2016).

Παρ' όλο που οι αποδείξεις της συσχέτισης του μικροβιώματος και της επίδρασής του στους επιγενετικούς μηχανισμούς για την έγερση αυτοάνοσων νοσημάτων είναι ακόμα φτωχές, υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις που οδηγούν σε αυτό το σκεπτικό. Έχει καταγραφεί αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των miR-30c και miR-130a και πρωτεϊνών που σχετίζονται με την αυτοφαγία σε βιοψία ειλεού ασθενών με νόσο του Crohn, δημιουργώντας υπόνοιες για τη συσχέτισή τους με την παθογένεια της νόσου (Nguyen et al., 2014). Επιπλέον, η δυσβακτηρίωση, καθώς και διάφορα συμπτώματα σε περιπτώσεις ζωικών μοντέλων διαβήτη τύπου 1, μπορούσαν να αναστραφούν από αναστολείς αποακετυλασών των ιστονών (Hara, Alkanani, Dinarello, & Zippri, 2014). Δε λείπουν βέβαια και τα αντιφατικά αποτελέσματα όσον αφορά τη συσχέτιση του μικροβιώματος και των επιγενετικών μηχανισμών, αποδεικνύοντας όχι μόνο την πολυπαραγοντική φύση της σχέσης αυτής, αλλά και την

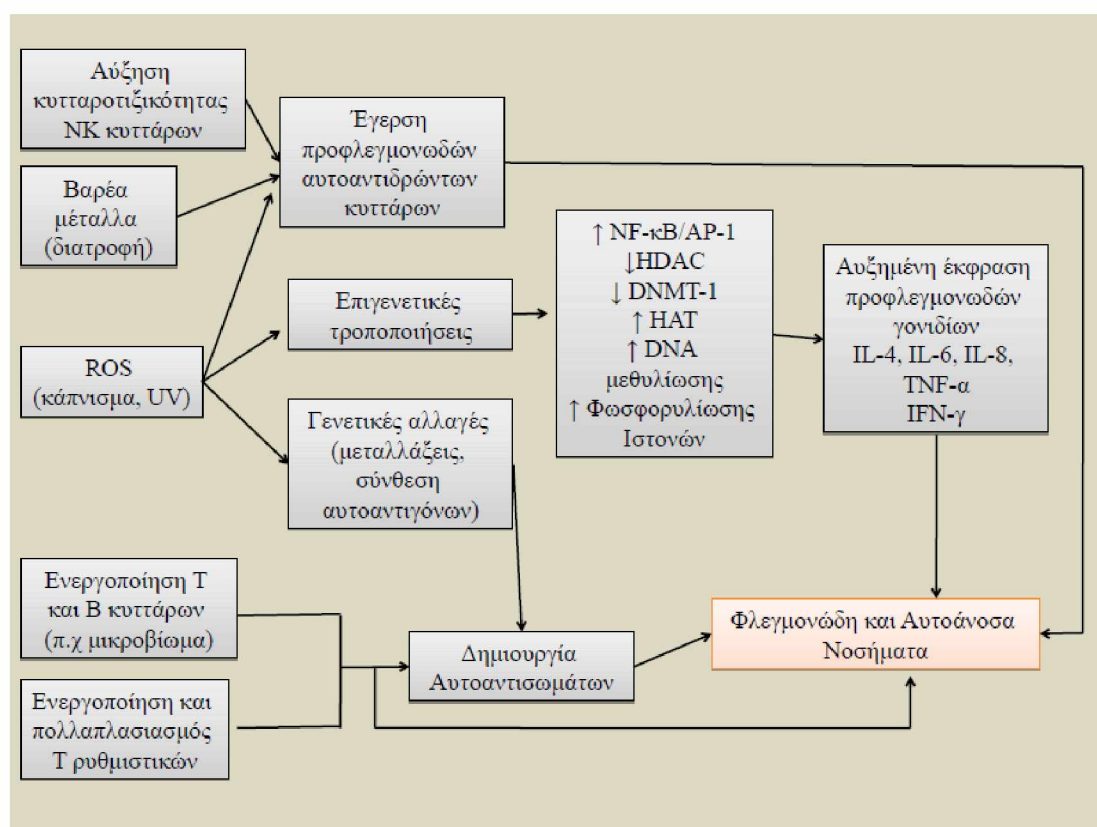
ανάγκη για λεπτομερέστερες μελέτες, προκειμένου να υπάρξει οποιαδήποτε εφαρμογή σε επίπεδο θεραπευτικών στόχων ή βιοδεικτών για την αυτοανοσία.

4.5 Διατροφή

Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μια ισχυρή συσχέτιση της αυξημένης πιθανότητας επίπτωσης αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως η ΣΚΠ και ο διαβήτης, στις ανεπτυγμένες χώρες του Δυτικού κόσμου και του τρόπου διατροφής. Επιπλέον μελέτες της επίδρασης του τρόπου διατροφής στην έκφραση των γονιδίων, έχει οδηγήσει στο όρο επιγενετική των θρεπτικών. Επιγενετικά φαινόμενα, όπως οι τροποποιήσεις του DNA και των ιστονών, εξαρτώνται από την πρόσληψη μέσω διατροφής αρκετών ιχνοστοιχείων, καθώς και ενδιάμεσων προϊόντων του μεταβολισμού, η ποιοτική και ποσοτική σύσταση των οποίων εξαρτάται από τη διατροφή αυτή καθαυτή. Αυτές οι επιγενετικές αλλαγές, όπως έχει περιγραφεί στις προηγούμενες ενότητες, μπορούν να επηρεάσουν την εξέλιξη μιας νόσου μέσω της επαγωγής ή αναστολής της έκφρασης γονιδίων. Για παράδειγμα, η διαθεσιμότητα θρεπτικών, όπως οι βιταμίνες του συμπλέγματος Β (Β2, Β6 και Β12,) αλλά και η μεθειονίνη, ο ψευδάργυρος και άλλα στοιχεία, φαίνεται να αποτελούν κύριους ρυθμιστές των επιπέδων του SAM που αποτελεί με τη σειρά του τη βασική πηγή μεθυλομάδας σε πολλές βιοχημικές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA (Oaks & Perl, 2014). Εξυπακούεται ότι δίαιτες φτωχές σε τέτοιου είδους συστατικά περιορίζουν τη διαθεσιμότητα του SAM και άρα τη δυνατότητα μεθυλίωσης οδηγώντας σε φαινόμενα υπομεθυλίωσης του DNA. Κάτι τέτοιο έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με ΣΕΛ, όπου διαταραχές του κύκλου παραγωγής του SAM, αλλά και της έκφρασης των DNMTs ενοχοποιούνται για τα μειωμένα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA. Στις περιπτώσεις ασθενών όπου τα μειωμένα επίπεδα έκφρασης των DNMT1 συσχετίζονται με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η υπερϊώδης ακτινοβολία, λοιμώξεις, ή το κάπνισμα, η επιδεκτικότητα στην επιδείνωση της ασθένειας είναι εντονότερη όταν συνυπάρχει δίαιτα φτωχή σε δότες μεθυλομάδων. Επιπλέον, σε ασθενείς με ΣΕΛ, έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα αναστολέων μεταφοράς μεθυλομάδων και μειωμένα επίπεδα ιχνοστοιχείων απαραίτητων για τη διαδικασία αυτή. Στα ζωικά μοντέλα ΣΕΛ έχει βρεθεί συσχέτιση της διαφοροποίησης της συγκέντρωσης τέτοιων ιχνοστοιχείων με την υποχώρηση ή την έξαρση της νόσου. Συμπερασματικά, είναι φανερό ότι η

διαθεσιμότητα τέτοιων συστατικών που επηρεάζουν τη διαδικασία της μεθυλίωσης, θα έπρεπε να λαμβάνεται υπ' όψη στη διαχείριση παθολογικών καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από υπομεθυλίωση, όπως σε ορισμένα αυτοάνοσα νοσήματα. (Zouali, 2019)

Στο σχήμα 5 που ακολουθεί, συνοψίζεται ο τρόπος επίδρασης των περιβαλλοντικών παραγόντων στους επιγενετικούς μηχανισμούς που συμμετέχουν στα αυτοάνοσα νοσήματα.



Σχήμα 5: Συσχέτιση μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων και επιγενετικών μηχανισμών και της επίδρασής τους στους μηχανισμούς ανάπτυξης φλεγμονωδών και αυτοάνοσων νοσημάτων. Τροποποιημένο σχήμα από: (Hussain & Tripathi, 2018)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατά την περιγραφή των βασικών μηχανισμών αυτοανοσίας και κυτταρικού θανάτου, καταγράφηκε πόσο κρίσιμη είναι η διατήρηση της ομοιόστασης, που απαιτεί τη διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απομάκρυνσης δυσλειτουργικών κυττάρων του οργανισμού. Όπως αναφέρθηκε, υπάρχει μια πολύ λεπτή διαχωριστική γραμμή μεταξύ ανοσο-ανοχής και ανοσογονικότητας, καθιστώντας κρίσιμο το ρόλο των μηχανισμών κυτταρικού θανάτου και κύρια των αποπτωτικών μηχανισμών, δυσλειτουργία των οποίων μπορεί να οδηγήσει σε παραμονή αυτοαντιγόνων, και επομένως πιθανή ανάπτυξη αυτοανοσίας.

Η ανεπαρκής απομάκρυνση των δυσλειτουργικών ή νεκρών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε φλεγμονή, έντονη και ισχυρή αντιγονοπαρουσίαση, καθώς και στη διασπορά αντιγόνων τα οποία στη συνέχεια θα διεγείρουν την ανοσοαπόκριση. (Mistry&Kaplan, 2017), (Nagataetal., 2010). όμως αυτοί οι τύποι ανοσίας μπορούν να ενεργοποιηθούν και από συστατικά νεκρών κυττάρων του ίδιου του οργανισμού, μέσω των ίδιων διαδικασιών απόπτωσης, αυτοφαγίας και νέκρωσης, πράγμα που σημαίνει ότι η ανεπάρκειά τους μπορεί να οδηγήσει στην παρουσίαση ενός αυτοαντιγόνου και άρα στη δημιουργία κλώνων αυτοαντιδρώντων λεμφοκυττάρων και αυτοανοσίας (Dwivedi&Radic, 2018).

Από τους τύπους κυτταρικού θανάτου οι οποίοι παίζουν ως ένα βαθμό κάποιο ρόλο στην έγερση της αυτοανοσίας, ιδιαίτερη έμφαση πρέπει να δοθεί κατά κύριο λόγο στην απόπτωση, για την οποία πειραματικά δεδομένα δείχνουν άμεση συσχέτιση με την παθογένεια τέτοιων νοσημάτων. Η αυτοφαγία εμπλέκεται σε αρκετά φαινόμενα, όπως απομόνωση παθογόνων μικροοργανισμών, έκκριση κυτταροκινών, αντιγονοπαρουσίαση, ανάπτυξη και διαφοροποίηση λεμφοκυττάρων, ενώ υπάρχει άμεση εμπλοκή της με την εξέλιξη νοσημάτων όπως η ΣΚΠ, ο ΣΕΛ και η ΡΑ. Παρ' όλ' αυτά, δε λείπουν και αντιφατικά ευρήματα που σχετίζονται με το είδος του ιστού και του νοσήματος, τα οποία χρίζουν περαιτέρω διερεύνησης (Lio & Hsieh, 2008).

Η διατήρηση της ομοιόστασης του ανοσοβιολογικού συστήματος, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δράση των ρυθμιστικών CD4+CD25+ T λεμφοκυττάρων. Κρίσιμο ρόλο στην αυτοανοσία φαίνεται να παίζει η ισορροπία μεταξύ των T ρυθμιστικών και των Th17 κυττάρων. Στην αυτοανοσία γενικότερα, αλλά και

ειδικότερα σε αυτή τη σχέση των T κυττάρων, ιδιαίτερο ρόλο φαίνεται να παίζουν περιβαλλοντικοί παράγοντες, όταν όμως βρίσκουν πρόσφορο έδαφος σε γενετικά επιδεκτικά άτομα.

Στη δυσλειτουργία των ρυθμιστικών T λεμφοκυττάρων και άρα στην αιτιοπαθογένεια αυτοάνοσων νοσημάτων, φαίνεται να εμπλέκονται και επιγενετικοί μηχανισμοί. Η παρουσία ενός επιδεκτικού γενετικού υποβάθρου σε συνδυασμό με τη δυσλειτουργία των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων και την πυροδότηση από συγκεκριμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες, συνεισφέρουν στην έγερση και εξέλιξη ενός αυτοάνοσου νοσήματος. Η μελέτη των επιγενετικών μηχανισμών στη διέγερση του πολλαπλασιασμού αυτών των κυττάρων, αλλά και στην αποκατάσταση της λειτουργίας τους και της έκφρασης του Foxp3, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών στρατηγικών. Λόγω όμως της πολυπλοκότητας, τόσο της αυτοανοσίας όσο και των μηχανισμών της επιγενετικής ρύθμισης, απαιτεί την πληρέστερη μελέτη και διαλεύκανση της συσχέτισης της επιγενετικής και των T ρυθμιστικών λεμφοκυττάρων.

Το μέγεθος της επίδρασης των περιβαλλοντικών παραγόντων στην εξέλιξη των αυτοάνοσων νοσημάτων, αντικατροπτίζεται και στο εύρος της επίπτωσής τους στα μονοζυγωτικά δίδυμα, στα οποία κυμαίνεται από 13 έως 61%. Σε αυτούς του παράγοντες περιλαμβάνονται και φαρμακευτικές ουσίες, όπως η υδραλαζίνη, το κάπνισμα, η υπερϊώδης ακτινοβολία και το μικροβίωμα μεταξύ άλλων. Από αυτούς, αρκετοί μπορούν να επιτελέσουν τη δράση τους μέσω επιγενετικών αλλαγών, όπως έχει αποδειχτεί σε κύτταρα ασθενών, επηρεάζοντας την έκφραση γονιδίων. Η αποσαφήνιση όμως αυτής της επιγενετικής επίδρασης στο επίπεδο του ίδιου του μηχανισμού της αυτοανοσίας, κρίνεται απαραίτητη, έχοντας υπόψη μας την πιθανότητα μια πολυπαραγοντικής δράσης επιγενετικών μηχανισμών για τα επίσης πολυπαραγοντικά αυτά νοσήματα. Παρά τη διαφοροποίηση των συμπτωμάτων όμως, ο βασικός σκελετός συσχέτισης επιγενετικής και έγερσης της αυτοανοσίας, φαίνεται να μοιράζεται αρκετά στοιχεία μεταξύ των διαφόρων αυτόάνοσων νοσημάτων. Συνεπώς, μια μελέτη σύγκρισης γονιδιωμάτων με τη συνδρομή του International Human Epigenome Consortium η οποία έχει ήδη ενεργοποιηθεί (Bujold et al., 2016), θα επιφέρει χρήσιμα συμπεράσματα όσον αφορά την εκτίμηση των βιοδεικτών και της διαγνωστικής ή προγνωστικής τους χρησιμότητας, καθώς και την ανάπτυξη καινοτόμων αποτελεσματικών θεραπευτικών σχημάτων. Η συσχέτιση των επιγενετικών μηχανισμών, όπως για παράδειγμα η δράση των miRNA, και της

αιτιοπαθογένειας των αυτοάνοσων νοσημάτων, έχει αποδειχθεί σε τέτοιο βαθμό, ώστε να κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη και κατανόησή τους, προκειμένου να γεννηθεί η νέα εποχή επιγενετικής θεραπείας, πρόγνωσης, και διάγνωσης, ακόμα και παρέμβασης στους επιγενετικούς μηχανισμούς, μέσω παραγόντων επαναδιαμόρφωσης του DNA, αποσιώπησης ή ενεργοποίησης γονιδίων. Ένας μεγάλος σκόπελος, που πρέπει να ξεπεράσει η ερευνητική κοινότητα σε μια τέτοια προσπάθεια, είναι οι παράπλευρες επιδράσεις, συνήθως μη προβλέψιμες ή μη επιθυμητές, που δημιουργεί μια επιγενετική θεραπευτική προσέγγιση, όπως για παράδειγμα ή χρήση των αναστολέων DNAμεθυλοτρανσφερασών και των αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών, που ενεργοποιούν ογκογονίδια, οδηγώντας σε νεοπλασματικές ασθένειες. Ένα επιπλέον πρόβλημα που πρέπει να ληφθεί υπ' όψη είναι η αναστρεψιμότητα των επιγενετικών φαινομένων. Το πλεονέκτημα της αναστροφής ενός επιγενετικού μηχανισμού για θεραπευτικούς λόγους, μπορεί να μετατραπεί σε μειονέκτημα όταν τα αποτελέσματα μιας επιγενετικής θεραπευτικής προσέγγισης αναστραφούν και οδηγήσουν στην προηγούμενη κατάσταση, όπως για παράδειγμα στη μεθυλίωση του DNA.

Όλα αυτά, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι, πέρα από την πολυπλοκότητα της ίδιας τους της δράσης, οι επιγενετικοί μηχανισμοί επηρεάζουν και ο ένας τον άλλο, προκειμένου να ρυθμίσουν την έκφραση του γονιδιώματος, αποτελούν σημαντική τροχοπέδη στην ανάπτυξη θεραπευτικών επιγενετικών στόχων ή βιοδεικτών στο πεδίο της αυτοανοσίας στο άμεσο μέλλον, αλλά ταυτόχρονα θέτουν μια ιδιαίτερη πρόκληση για την επιστημονική κοινότητα που φαίνεται ήδη να ανταποκρίνεται.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Acehan, D., Jiang, X., Morgan, D. G., Heuser, J. E., Wang, X., & Akey, C. W. (2002). Three-dimensional structure of the apoptosome: Implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Molecular Cell*, *9*(2), 423–432. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00442-2](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00442-2)
- Akimova, T., Ge, G., Golovina, T., Mikheeva, T., Wang, L., Riley, J. L., & Hancock, W. W. (2010). Histone/protein deacetylase inhibitors increase suppressive functions of human FOXP3+ Tregs. *Clinical Immunology*, *136*(3), 348–363. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2010.04.018>
- Araki, Y., Tsuzuki Wada, T., Aizaki, Y., Sato, K., Yokota, K., Fujimoto, K., ... Mimura, T. (2016). Histone Methylation and STAT-3 Differentially Regulate Interleukin-6-Induced Matrix Metalloproteinase Gene Activation in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *Arthritis and Rheumatology*, *68*(5), 1111–1123. <https://doi.org/10.1002/art.39563>
- Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., Van Der Veecken, J., Deroos, P., ... Rudensky, A. Y. (2013). Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*, *504*(7480), 451–455. <https://doi.org/10.1038/nature12726>
- Arvey, A., van der Veecken, J., Plitas, G., Rich, S. S., Concannon, P., & Rudensky, A. Y. (2015). Genetic and epigenetic variation in the lineage specification of regulatory T cells. *ELife*, *4*(OCTOBER2015). <https://doi.org/10.7554/eLife.07571>
- Aslani, S., Mahmoudi, M., Karami, J., Jamshidi, A. R., Malekshahi, Z., & Nicknam, M. H. (2016, February 17). Epigenetic alterations underlying autoimmune diseases. *Autoimmunity*, Vol. 49, pp. 69–83. <https://doi.org/10.3109/08916934.2015.1134511>
- Balada, E., Ordi-Ros, J., Serrano-Acedo, S., Martinez-Lostao, L., & Vilardell-Tarrés, M. (2007). Transcript overexpression of the MBD2 and MBD4 genes in CD4 + T cells from systemic lupus erythematosus patients . *Journal of Leukocyte Biology*, *81*(6), 1609–1616. <https://doi.org/10.1189/jlb.0107064>
- Ballestar, E., Esteller, M., & Richardson, B. C. (2006). The Epigenetic Face of Systemic Lupus Erythematosus. *The Journal of Immunology*, *176*(12), 7143–7147. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.12.7143>

- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2005). Reversing histone methylation. *Nature*, *436*(7054), 1103–1106. <https://doi.org/10.1038/nature04048>
- Barnawi, J., Jersmann, H., Haberberger, R., Hodge, S., & Meech, R. (2017). Reduced DNA methylation of sphingosine-1 phosphate receptor 5 in alveolar macrophages in COPD: A potential link to failed efferocytosis. *Respirology*, *22*(2), 315–321. <https://doi.org/10.1111/resp.12949>
- Berzins, S. P., Smyth, M. J., & Baxter, A. G. (2011, February). Presumed guilty: Natural killer T cell defects and human disease. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 11, pp. 131–142. <https://doi.org/10.1038/nri2904>
- Bhattacharya, A., Parillon, X., Zeng, S., Han, S., & Eissa, N. T. (2014). Deficiency of autophagy in dendritic cells protects against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(38), 26525–26532. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.575860>
- Brenner, D., & Mak, T. W. (2009, December). Mitochondrial cell death effectors. *Current Opinion in Cell Biology*, Vol. 21, pp. 871–877. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.09.004>
- Bujold, D., Morais, D. A. de L., Gauthier, C., Côté, C., Caron, M., Kwan, T., ... Bourque, G. (2016). The International Human Epigenome Consortium Data Portal. *Cell Systems*, *3*(5), 496–499.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2016.10.019>
- Cain, K., Bratton, S. B., & Cohen, G. M. (2002). The Apaf-1 apoptosome: A large caspase-activating complex. *Biochimie*, *84*(2–3), 203–214. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01376-7](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01376-7)
- Camelo, S., Iglesias, A. H., Hwang, D., Due, B., Ryu, H., Smith, K., ... Dangond, F. (2005). Transcriptional therapy with the histone deacetylase inhibitor trichostatin A ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*, *164*(1–2), 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.02.022>
- Carlsen, A. L., Schetter, A. J., Nielsen, C. T., Lood, C., Knudsen, S., Voss, A., ... Heegaard, N. H. H. (2013). Circulating microRNA expression profiles associated with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*, *65*(5), 1324–1334. <https://doi.org/10.1002/art.37890>
- Chan, M. W. Y., Chang, C. Bin, Tung, C. H., Sun, J., Suen, J. L., & Wu, S. F. (2014). Low-dose 5-Aza-2'-deoxycytidine pretreatment inhibits experimental autoimmune encephalomyelitis by induction of regulatory T cells. *Molecular*

- Medicine*, 20(1), 248–256. <https://doi.org/10.2119/molmed.2013.00159>
- Chang, P. V., Hao, L., Offermanns, S., & Medzhitov, R. (2014). The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(6), 2247–2252. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322269111>
- Chauhan, R., Handa, R., Das, T. P., & Pati, U. (2004). Over-expression of TATA binding protein (TBP) and p53 and autoantibodies to these antigens are features of systemic sclerosis, systemic lupus erythematosus and overlap syndromes. *Clinical and Experimental Immunology*, 136(3), 574–584. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02463.x>
- Chen, Q., Kang, J., & Fu, C. (2018, December 1). The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, Vol. 3. <https://doi.org/10.1038/s41392-018-0018-5>
- Cho, Y. S., Challa, S., Moquin, D., Genga, R., Ray, T. D., Guildford, M., & Chan, F. K. M. (2009). Phosphorylation-Driven Assembly of the RIP1-RIP3 Complex Regulates Programmed Necrosis and Virus-Induced Inflammation. *Cell*, 137(6), 1112–1123. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.037>
- Churov, A. V., Oleinik, E. K., & Knip, M. (2015, November 1). MicroRNAs in rheumatoid arthritis: Altered expression and diagnostic potential. *Autoimmunity Reviews*, Vol. 14, pp. 1029–1037. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.07.005>
- Clarke, A. J., Ellinghaus, U., Cortini, A., Stranks, A., Simon, A. K., Botto, M., ... Kvien, T. K. (2015). Autophagy is activated in systemic lupus erythematosus and required for plasmablast development. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 74(5), 912–920. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204343>
- Coleman, M. L., Sahai, E. A., Yeo, M., Bosch, M., Dewar, A., & Olson, M. F. (2001). Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nature Cell Biology*, 3(4), 339–345. <https://doi.org/10.1038/35070009>
- Condello, M., Pellegrini, E., Caraglia, M., & Meschini, S. (2019, February 1). Targeting autophagy to overcome human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20030725>
- Costa-Reis, P., Russo, P. A., Zhang, Z., Colonna, L., Maurer, K., Gallucci, S., ... Sullivan, K. E. (2015). The role of microRNAs and human epidermal growth factor receptor 2 in proliferative lupus nephritis. *Arthritis and Rheumatology*,

- 67(9), 2415–2426. <https://doi.org/10.1002/art.39219>
- Costello, J. F., & Plass, C. (2001). Methylation matters. *Journal of Medical Genetics*, Vol. 38, pp. 285–303. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.5.285>
- Cribbs, A. P., Kennedy, A., Penn, H., Read, J. E., Amjadi, P., Green, P., ... Williams, R. O. (2014). Treg cell function in rheumatoid arthritis is compromised by CTLA-4 promoter methylation resulting in a failure to activate the indoleamine 2,3-dioxygenase pathway. *Arthritis and Rheumatology*, 66(9), 2344–2354. <https://doi.org/10.1002/art.38715>
- Cuppen, B. V. J., Rossato, M., Fritsch-Stork, R. D. E., Concepcion, A. N., Schenk, Y., Bijlsma, J. W. J., ... Lafeber, F. P. J. G. (2016). Can baseline serum microRNAs predict response to TNF-alpha inhibitors in rheumatoid arthritis? *Arthritis Research and Therapy*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S13075-016-1085-Z>
- D'Arcy, M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*, 43(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
- Dasgupta, S., Zhou, Y., Jana, M., Banik, N. L., & Pahan, K. (2003). Sodium Phenylacetate Inhibits Adoptive Transfer of Experimental Allergic Encephalomyelitis in SJL/J Mice at Multiple Steps. *The Journal of Immunology*, 170(7), 3874–3882. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.7.3874>
- de Andres, M. C., Perez-Pampin, E., Calaza, M., Santaclara, F. J., Ortea, I., Gomez-Reino, J. J., & Gonzalez, A. (2015). Assessment of global DNA methylation in peripheral blood cell subpopulations of early rheumatoid arthritis before and after methotrexate. *Arthritis Research and Therapy*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0748-5>
- de Kouchkovsky, D., Esensten, J. H., Rosenthal, W. L., Morar, M. M., Bluestone, J. A., & Jeker, L. T. (2013). microRNA-17–92 Regulates IL-10 Production by Regulatory T Cells and Control of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 191(4), 1594–1605. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203567>
- De Santis, G., Ferracin, M., Biondani, A., Caniatti, L., Rosaria Tola, M., Castellazzi, M., ... Granieri, E. (2010). Altered miRNA expression in T regulatory cells in course of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*, 226(1–2), 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.06.009>

- Declercq, W., Vanden Berghe, T., & Vandenabeele, P. (2009, July 23). RIP Kinases at the Crossroads of Cell Death and Survival. *Cell*, Vol. 138, pp. 229–232. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.07.006>
- Dees, C., Schlottmann, I., Funke, R., Distler, A., Palumbo-Zerr, K., Zerr, P., ... Distler, J. H. W. (2014). The Wnt antagonists DKK1 and SFRP1 are downregulated by promoter hypermethylation in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(6), 1232–1239. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-203194>
- Dice, J. F. (2007). Chaperone-mediated autophagy. *Autophagy*, Vol. 3, pp. 295–299. <https://doi.org/10.4161/auto.4144>
- Dickson, D. W. (2004). Apoptotic mechanisms in Alzheimer neurofibrillary degeneration: Cause or effect? *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 114, pp. 23–27. <https://doi.org/10.1172/JCI22317>
- Dutta, R. K., Kathania, M., Raje, M., & Majumdar, S. (2012). IL-6 inhibits IFN- γ induced autophagy in Mycobacterium tuberculosis H37Rv infected macrophages. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 44(6), 942–954. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.02.021>
- Dwivedi, N., & Radic, M. (2018, August 18). Burning controversies in NETs and autoimmunity: The mysteries of cell death and autoimmune disease. *Autoimmunity*, Vol. 51, pp. 267–280. <https://doi.org/10.1080/08916934.2018.1523395>
- Egger, G., Liang, G., Aparicio, A., & Jones, P. A. (2004, May 27). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, Vol. 429, pp. 457–463. <https://doi.org/10.1038/nature02625>
- Ehrlich, M., & Lacey, M. (2013, October). DNA methylation and differentiation: Silencing, upregulation and modulation of gene expression. *Epigenomics*, Vol. 5, pp. 553–568. <https://doi.org/10.2217/epi.13.43>
- Ekert, P. G., & Vaux, D. L. (2005, December). The mitochondrial death squad: Hardened killers or innocent bystanders? *Current Opinion in Cell Biology*, Vol. 17, pp. 626–630. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2005.09.001>
- Elmesmari, A., Fraser, A. R., Wood, C., Gilchrist, D., Vaughan, D., Stewart, L., ... Kurowska-Stolarska, M. (2016). MicroRNA-155 regulates monocyte chemokine and chemokine receptor expression in Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology (United Kingdom)*, 55(11), 2056–2065.

<https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew272>

- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology*, Vol. 35, pp. 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., & Nagata, S. (1998). A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature*, 391(6662), 43–50. <https://doi.org/10.1038/34112>
- Fabian, M. R., Sonenberg, N., & Filipowicz, W. (2010). Regulation of mRNA Translation and Stability by microRNAs. *Annual Review of Biochemistry*, 79(1), 351–379. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060308-103103>
- Fassbender, H. G., Seibel, M., & Hebert, T. (1992). Pathways of destruction in metacarpal and metatarsal joints of patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 21(1), 10–16. <https://doi.org/10.3109/03009749209095055>
- Fritz, E. L., Rosenberg, B. R., Lay, K., Mihailović, A., Tuschl, T., & Papavasiliou, F. N. (2013). A comprehensive analysis of the effects of the deaminase AID on the transcriptome and methylome of activated B cells. *Nature Immunology*, 14(7), 749–755. <https://doi.org/10.1038/ni.2616>
- Fuks, F., Hurd, P. J., Wolf, D., Nan, X., Bird, A. P., & Kouzarides, T. (2003). The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *Journal of Biological Chemistry*, 278(6), 4035–4040. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210256200>
- Gaipl, U. S., Kuenkele, S., Voll, R. E., Beyer, T. D., Kolowos, W., Heyder, P., ... Herrmann, M. (2001). Complement binding is an early feature of necrotic and a rather late event during apoptotic cell death. *Cell Death and Differentiation*, 8(4), 327–334. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400826>
- Gillespie, J., Savic, S., Wong, C., Hempshall, A., Inman, M., Emery, P., ... McDermott, M. F. (2012). Histone deacetylases are dysregulated in rheumatoid arthritis and a novel histone deacetylase 3-selective inhibitor reduces interleukin-6 production by peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis and Rheumatism*, 64(2), 418–422. <https://doi.org/10.1002/art.33382>
- Glossop, J. R., Emes, R. D., Nixon, N. B., Packham, J. C., Fryer, A. A., Matthey, D. L., & Farrell, W. E. (2016). Genome-wide profiling in treatment-naive early rheumatoid arthritis reveals DNA methylome changes in T and B lymphocytes.

- Epigenomics*, 8(2), 209–224. <https://doi.org/10.2217/epi.15.103>
- Graves, M. C., Benton, M., Lea, R. A., Boyle, M., Tajouri, L., Macartney-Coxson, D., ... Lechner-Scott, J. (2014). Methylation differences at the HLA-DRB1 locus in CD4+ T-Cells are associated with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 20(8), 1033–1041. <https://doi.org/10.1177/1352458513516529>
- Green, D. R., Ferguson, T., Zitvogel, L., & Kroemer, G. (2009, May). Immunogenic and tolerogenic cell death. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 9, pp. 353–363. <https://doi.org/10.1038/nri2545>
- Guo, H., Zhu, P., Yan, L., Li, R., Hu, B., Lian, Y., ... Qiao, J. (2014). The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature*, 511(7511), 606–610. <https://doi.org/10.1038/nature13544>
- Halili, M., Andrews, M., Sweet, M., & Fairlie, D. (2009). Histone Deacetylase Inhibitors In Inflammatory Disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(3), 309–319. <https://doi.org/10.2174/156802609788085250>
- Hanayama, R., Tanaka, M., Miyasaka, K., Aozasa, K., Koike, M., Uchiyama, Y., & Nagata, S. (2004). Science Supporting Online Materials: Autoimmune Disease and Impaired Uptake of Apoptotic Cells in Germinal Centers of MFG-E8–Deficient Mice. *Science (New York, N.Y.)*, 304(5674), 1147–1150. <https://doi.org/10.1126/science.1094359>
- Hara, N., Alkanani, A. K., Dinarello, C. A., & Zipris, D. (2014). Histone deacetylase inhibitor suppresses virus-induced proinflammatory responses and type 1 diabetes. *Journal of Molecular Medicine*, 92(1), 93–102. <https://doi.org/10.1007/s00109-013-1078-1>
- Hargarten, J. C., & Williamson, P. R. (2018, August 14). Epigenetic regulation of autophagy: A path to the control of autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, Vol. 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01864>
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2011, February). NF-κB in immunobiology. *Cell Research*, Vol. 21, pp. 223–244. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.13>
- Henault, J., Martinez, J., Riggs, J. M., Tian, J., Mehta, P., Clarke, L., ... Sanjuan, M. A. (2012). Noncanonical Autophagy Is Required for Type I Interferon Secretion in Response to DNA-Immune Complexes. *Immunity*, 37(6), 986–997. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.09.014>
- Hitomi, J., Christofferson, D. E., Ng, A., Yao, J., Degtarev, A., Xavier, R. J., & Yuan, J. (2008). Identification of a Molecular Signaling Network that Regulates a

- Cellular Necrotic Cell Death Pathway. *Cell*, 135(7), 1311–1323. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.10.044>
- Hong, Y., Wu, J., Zhao, J., Wang, H., Liu, Y., Chen, T., ... Zhai, Z. (2013). miR-29b and miR-29c Are Involved in Toll-Like Receptor Control of Glucocorticoid-Induced Apoptosis in Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069926>
- Hos, N. J., Ganesan, R., Gutiérrez, S., Hos, D., Klimek, J., Abdullah, Z., ... Robinson, N. (2017). Type I interferon enhances necroptosis of Salmonella Typhimurium-infected macrophages by impairing antioxidative stress responses. *Journal of Cell Biology*, 216(12), 4107–4121. <https://doi.org/10.1083/jcb.201701107>
- Hu, N., Long, H., Zhao, M., Yin, H., & Lu, Q. (2009). Aberrant expression pattern of histone acetylation modifiers and mitigation of lupus by SIRT1-siRNA in MRL/lpr mice. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 38(6), 464–471. <https://doi.org/10.3109/03009740902895750>
- Hussain, M. S., & Tripathi, V. (2018, March 30). Smoking under hypoxic conditions: A potent environmental risk factor for inflammatory and autoimmune diseases. *Military Medical Research*, Vol. 5. <https://doi.org/10.1186/s40779-018-0158-5>
- Huynh, J. L., & Casaccia, P. (2013, February). Epigenetic mechanisms in multiple sclerosis: Implications for pathogenesis and treatment. *The Lancet Neurology*, Vol. 12, pp. 195–206. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70309-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70309-5)
- Ichii, O., Otsuka-Kanazawa, S., Horino, T., Kimura, J., Nakamura, T., Matsumoto, M., ... Kon, Y. (2014). Decreased miR-26a expression correlates with the progression of podocyte injury in autoimmune glomerulonephritis. *PLoS ONE*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110383>
- Igci, M., Baysan, M., Yigiter, R., Ulasli, M., Geyik, S., Bayraktar, R., ... Cakmak, E. A. (2016). Gene expression profiles of autophagy-related genes in multiple sclerosis. *Gene*, 588(1), 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.04.042>
- Jaenisch, R., & Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: How the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genetics*, Vol. 33, pp. 245–254. <https://doi.org/10.1038/ng1089>
- Javierre, B. M., Fernandez, A. F., Richter, J., Al-Shahrour, F., Ignacio Martin-Subero, J., Rodriguez-Ubreva, J., ... Ballestar, E. (2010). Changes in the pattern of DNA methylation associate with twin discordance in systemic lupus erythematosus. *Genome Research*, 20(2), 170–179. <https://doi.org/10.1101/gr.100289.109>

- Kawashiri, S. Y., Kawakami, A., Okada, A., Koga, T., Tamai, M., Yamasaki, S., ... Eguchi, K. (2011). CD4+CD25 highCD127 low/- Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology*, 38(12), 2517–2521. <https://doi.org/10.3899/jrheum.110283>
- Khalifa, O., Pers, Y. M., Ferreira, R., Sénéchal, A., Jorgensen, C., Apparailly, F., & Duroux-Richard, I. (2016). X-linked miRNAs associated with gender differences in rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11). <https://doi.org/10.3390/ijms17111852>
- Kim, E. K., Kwon, J. E., Lee, S. Y., Lee, E. J., Kim, D. S., Moon, S. J., ... Cho, M. La. (2017). IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy. *Cell Death and Disease*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.490>
- Kim, J. H., Lee, S. Y., Oh, S. Y., Han, S. I., Park, H. G., Yoo, M. A., & Kang, H. S. (2004). Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/Bcl-X and activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. *Oncology Reports*, 12(6), 1233–1238. <https://doi.org/10.3892/or.12.6.1233>
- Klein, K., & Gay, S. (2015, January 11). Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, Vol. 27, pp. 76–82. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000128>
- Kouzarides, T. (2007, February 23). Chromatin Modifications and Their Function. *Cell*, Vol. 128, pp. 693–705. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005>
- Kovacs, J. R., Li, C., Yang, Q., Li, G., Garcia, I. G., Ju, S., ... Lu, B. (2012). Autophagy promotes T-cell survival through degradation of proteins of the cell death machinery. *Cell Death and Differentiation*, 19(1), 144–152. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.78>
- Kroesen, M., Gielen, P. R., Brok, I. C., Armandari, I., Hoogerbrugge, P. M., & Adema, G. J. (2014). HDAC inhibitors and immunotherapy; A double edged sword? *Oncotarget*, 5(16), 6558–6572. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2289>
- Krysko, D. V., Denecker, G., Festjens, N., Gabriels, S., Parthoens, E., D'Herde, K., & Vandenabeele, P. (2006). Macrophages use different internalization mechanisms to clear apoptotic and necrotic cells. *Cell Death and Differentiation*, 13(12), 2011–2022. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401900>
- Kulakova, O. G., Kabilov, M. R., Danilova, L. V., Popova, E. V., Baturina, O. A.,

- Tsareva, E. Y., ... Vlassov, V. V. No Title. , 8 *Acta naturae* § (2016).
- Lai, S., & Devenish, R. J. (2012). LC3-Associated Phagocytosis (LAP): Connections with Host Autophagy. *Cells*, *1*(3), 396–408. <https://doi.org/10.3390/cells1030396>
- Lal, G., Zhang, N., van der Touw, W., Ding, Y., Ju, W., Bottinger, E. P., ... Bromberg, J. S. (2009). Epigenetic Regulation of Foxp3 Expression in Regulatory T Cells by DNA Methylation. *The Journal of Immunology*, *182*(1), 259–273. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.182.1.259>
- Lee, J., Hong, E. C., Jeong, H., Hwang, J. W., Kim, H., Bae, E. K., ... Koh, E. M. (2015). A novel histone deacetylase 6-selective inhibitor suppresses synovial inflammation and joint destruction in a collagen antibody-induced arthritis mouse model. *International Journal of Rheumatic Diseases*, *18*(5), 514–523. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12501>
- Levine, B., & Deretic, V. (2007, October). Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, Vol. 7, pp. 767–777. <https://doi.org/10.1038/nri2161>
- Levine, B., Mizushima, N., & Virgin, H. W. (2011, January 20). Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, Vol. 469, pp. 323–335. <https://doi.org/10.1038/nature09782>
- Li, Jingyi, Wan, Y., Guo, Q., Zou, L., Zhang, J., Fang, Y., ... Wu, Y. (2010). Altered microRNA expression profile with miR-146a upregulation in CD4+T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*, *12*(3). <https://doi.org/10.1186/ar3006>
- Li, Jixi, McQuade, T., Siemer, A. B., Napetschnig, J., Moriwaki, K., Hsiao, Y. S., ... Wu, H. (2012). The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell*, *150*(2), 339–350. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.019>
- Li, W. W., Li, J., & Bao, J. K. (2012, April). Microautophagy: Lesser-known self-eating. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Vol. 69, pp. 1125–1136. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0865-5>
- Liang, P., & Le, W. (2015, August 11). Role of autophagy in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neuroscience Bulletin*, Vol. 31, pp. 435–444. <https://doi.org/10.1007/s12264-015-1545-5>
- Lin, N. Y., Beyer, C., Gießl, A., Kireva, T., Scholtyssek, C., Uderhardt, S., ... Distler,

- J. H. W. (2013). Autophagy regulates TNF α -mediated joint destruction in experimental arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(5), 761–768. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201671>
- Lio, C. W. J., & Hsieh, C. S. (2008). A Two-Step Process for Thymic Regulatory T Cell Development. *Immunity*, 28(1), 100–111. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.11.021>
- Liu, S., Da Cunha, A. P., Rezende, R. M., Cialic, R., Wei, Z., Bry, L., ... Weiner, H. L. (2016). The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA. *Cell Host and Microbe*, 19(1), 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.12.005>
- Liu, Y., Aryee, M. J., Padyukov, L., Fallin, M. D., Hesselberg, E., Runarsson, A., ... Feinberg, A. P. (2013). Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nature Biotechnology*, 31(2), 142–147. <https://doi.org/10.1038/nbt.2487>
- Lu, Q., & Lemke, G. (2001). Homeostatic regulation of the immune system by receptor tyrosine kinases of the Tyro 3 family. *Science*, 293(5528), 306–311. <https://doi.org/10.1126/science.1061663>
- Martinvalet, D., Zhu, P., & Lieberman, J. (2005). Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, 22(3), 355–370. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.02.004>
- Mazari, L., Ouarzane, M., & Zouali, M. (2007). Subversion of B lymphocyte tolerance by hydralazine, a potential mechanism for drug-induced lupus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(15), 6317–6322. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610434104>
- Mazzone, R., Zwergel, C., Artico, M., Taurone, S., Ralli, M., Greco, A., & Mai, A. (2019, February 26). The emerging role of epigenetics in human autoimmune disorders. *Clinical Epigenetics*, Vol. 11. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0632-2>
- Meinecke, I., Cinski, A., Baier, A., Peters, M. A., Dankbar, B., Wille, A., ... Pap, T. (2007). Modification of nuclear PML protein by SUMO-1 regulates Fas-induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(12), 5073–5078. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608773104>
- Milan, E., Perini, T., Resnati, M., Orfanelli, U., Oliva, L., Raimondi, A., ... Cenci, S. (2015). A plastic SQSTM1/p62-dependent autophagic reserve maintains

- proteostasis and determines proteasome inhibitor susceptibility in multiple myeloma cells. *Autophagy*, *11*(7), 1161–1178. <https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1052928>
- Mistry, P., & Kaplan, M. J. (2017). Cell death in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Clinical Immunology*, *185*, 59–73. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.08.010>
- Miyara, M., Yoshioka, Y., Kitoh, A., Shima, T., Wing, K., Niwa, A., ... Sakaguchi, S. (2009). Functional Delineation and Differentiation Dynamics of Human CD4+ T Cells Expressing the FoxP3 Transcription Factor. *Immunity*, *30*(6), 899–911. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.03.019>
- Mizushima, N., Levine, B., Cuervo, A. M., & Klionsky, D. J. (2008, February 28). Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature*, Vol. 451, pp. 1069–1075. <https://doi.org/10.1038/nature06639>
- Mogilyansky, E., & Rigoutsos, I. (2013, December). The miR-17/92 cluster: A comprehensive update on its genomics, genetics, functions and increasingly important and numerous roles in health and disease. *Cell Death and Differentiation*, Vol. 20, pp. 1603–1614. <https://doi.org/10.1038/cdd.2013.125>
- Moquin, D. M., McQuade, T., & Chan, F. K. M. (2013). CYLD Deubiquitinates RIP1 in the TNF α -Induced Necrosome to Facilitate Kinase Activation and Programmed Necrosis. *PLoS ONE*, *8*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076841>
- Mulay, S. R., Desai, J., Kumar, S. V., Eberhard, J. N., Thomasova, D., Romoli, S., ... Pepys, M. B. (n.d.). *Serum amyloid P component controls chromatin degradation and prevents antinuclear autoimmunity*. (6). <https://doi.org/10.1038/9544>
- Murphy, J. M., Czabotar, P. E., Hildebrand, J. M., Lucet, I. S., Zhang, J. G., Alvarez-Diaz, S., ... Alexander, W. S. (2013). The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism. *Immunity*, *39*(3), 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.06.018>
- Nagata, S., Hanayama, R., & Kawane, K. (2010, March 5). Autoimmunity and the Clearance of Dead Cells. *Cell*, Vol. 140, pp. 619–630. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.014>
- Nakasa, T., Miyaki, S., Okubo, A., Hashimoto, M., Nishida, K., Ochi, M., & Asahara, H. (2008). Expression of MicroRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue.

- Arthritis and Rheumatism*, 58(5), 1284–1292. <https://doi.org/10.1002/art.23429>
- Nakasa, T., Shibuya, H., Nagata, Y., Niimoto, T., & Ochi, M. (2011). The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 63(6), 1582–1590. <https://doi.org/10.1002/art.30321>
- Ndoye, A., & Weeraratna, A. T. (2016). Autophagy- An emerging target for melanoma therapy [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*, Vol. 5. <https://doi.org/10.12688/F1000RESEARCH.8347.1>
- Nencioni, A., Beck, J., Werth, D., Grünebach, F., Patrone, F., Ballestrero, A., & Brossart, P. (2007). Histone deacetylase inhibitors affect dendritic cell differentiation and immunogenicity. *Clinical Cancer Research*, 13(13), 3933–3941. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2903>
- Nguyen, H. T. T., Dalmasso, G., Müller, S., Carrière, J., Seibold, F., & Darfeuille-Michaud, A. (2014). Crohn’s disease-associated adherent invasive escherichia coli modulate levels of microRNAs in intestinal epithelial cells to reduce autophagy. *Gastroenterology*, 146(2), 508–519. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.10.021>
- Nihal, M., Wu, J., & Wood, G. S. (2014). Methotrexate inhibits the viability of human melanoma cell lines and enhances Fas/Fas-ligand expression, apoptosis and response to interferon-alpha: Rationale for its use in combination therapy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 563, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.04.019>
- Noguchi, M., Hirata, N., Tanaka, T., Suizu, F., Nakajima, H., & Chiorini, J. A. (2020, July 1). Autophagy as a modulator of cell death machinery. *Cell Death and Disease*, Vol. 11. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2724-5>
- Oaks, Z., & Perl, A. (2014). Metabolic control of the epigenome in systemic Lupus erythematosus. *Autoimmunity*, 47(4), 256–264. <https://doi.org/10.3109/08916934.2013.834495>
- Oppenheim, R. W., Flavell, R. A., Vinsant, S., Pevette, D., Kuan, C. Y., & Rakic, P. (2001). Programmed cell death of developing mammalian neurons after genetic deletion of caspases. *Journal of Neuroscience*, 21(13), 4752–4760. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.21-13-04752.2001>
- Orban, T., Kis, J., Szere day, L., Engelmann, P., Farkas, K., Jalahej, H., & Treszl, A. (2007). Reduced CD4+ T-cell-specific gene expression in human type 1 diabetes

- mellitus. *Journal of Autoimmunity*, 28(4), 177–187.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2007.01.002>
- Ow, Y. L. P., Green, D. R., Hao, Z., & Mak, T. W. No Title. , 9 *Nature Reviews Molecular Cell Biology* § (2008).
- Pan, Q., Gao, C., Chen, Y., Feng, Y., Liu, W. J., & Liu, H. feng. (2015, April 1). Update on the role of autophagy in systemic lupus erythematosus: A novel therapeutic target. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, Vol. 71, pp. 190–193.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.02.017>
- Park, H. J., Lee, S. J., Kim, S. H., Han, J., Bae, J., Kim, S. J., ... Chun, T. (2011). IL-10 inhibits the starvation induced autophagy in macrophages via class I phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway. *Molecular Immunology*, 48(4), 720–727. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2010.10.020>
- Pasquinelli, A. E. (2012, April). MicroRNAs and their targets: Recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship. *Nature Reviews Genetics*, Vol. 13, pp. 271–282. <https://doi.org/10.1038/nrg3162>
- Pauley, K. M., Satoh, M., Chan, A. L., Bubb, M. R., Reeves, W. H., & Chan, E. K. L. (2008). Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Research and Therapy*, 10(4). <https://doi.org/10.1186/ar2493>
- Paunovic, V., Petrovic, I. V., Milenkovic, M., Janjetovic, K., Pravica, V., Dujmovic, I., ... Trajkovic, V. (2018). Autophagy-independent increase of ATG5 expression in T cells of multiple sclerosis patients. *Journal of Neuroimmunology*, 319, 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.03.001>
- Pollard, K. M., Hultman, P., & Kono, D. H. (2010, March 15). Toxicology of autoimmune diseases. *Chemical Research in Toxicology*, Vol. 23, pp. 455–466. <https://doi.org/10.1021/tx9003787>
- Poon, I. K. H., Lucas, C. D., Rossi, A. G., & Ravichandran, K. S. (2014). Apoptosis_clearance_rev_NatImmu2014. *Nature Reviews. Immunology*, 14(3), 166–180. <https://doi.org/10.1038/nri3607>
- Qin, B., Zhou, Z., He, J., Yan, C., & Ding, S. (2015). IL-6 Inhibits Starvation-induced Autophagy via the STAT3/Bcl-2 Signaling Pathway. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep15701>
- Qin, H., Zhu, X., Liang, J., Wu, J., Yang, Y., Wang, S., ... Xu, J. (2013). MicroRNA-29b contributes to DNA hypomethylation of CD4+ T cells in systemic lupus

- erythematosus by indirectly targeting DNA methyltransferase 1. *Journal of Dermatological Science*, 69(1), 61–67.
<https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2012.10.011>
- Radic, M., Marion, T., & Monestier, M. (2004). Nucleosomes Are Exposed at the Cell Surface in Apoptosis. *The Journal of Immunology*, 172(11), 6692–6700.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.11.6692>
- Radic, M. Z., Shah, K., Zhang, W., Lu, Q., Lemke, G., & Hilliard, G. M. (2006). Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein P2 Is an Autoantibody Target in Mice Deficient for Mer, Axl, and Tyro3 Receptor Tyrosine Kinases. *The Journal of Immunology*, 176(1), 68–74. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.1.68>
- Reddy, P., Sun, Y., Toubai, T., Duran-Struuck, R., Clouthier, S. G., Weisiger, E., ... Ferrara, J. L. M. (2008). Histone deacetylase inhibition modulates indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent DC functions and regulates experimental graft-versus-host disease in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 118(7).
<https://doi.org/10.1172/jci34712>
- Rhead, B., Hologue, C., Cole, M., Shao, X., Quach, H. L., Quach, D., ... Criswell, L. A. (2017). Rheumatoid Arthritis Naive T Cells Share Hypermethylation Sites With Synoviocytes. *Arthritis and Rheumatology*, 69(3), 550–559.
<https://doi.org/10.1002/art.39952>
- Sachet, M., Liang, Y. Y., & Oehler, R. (2017, October 1). The immune response to secondary necrotic cells. *Apoptosis*, Vol. 22, pp. 1189–1204.
<https://doi.org/10.1007/s10495-017-1413-z>
- Sakahira, H., Iwamatsu, A., & Nagata, S. (2000). Specific chaperone-like activity of inhibitor of caspase-activated DNase for caspase-activated DNase. *Journal of Biological Chemistry*, 275(11), 8091–8096.
<https://doi.org/10.1074/jbc.275.11.8091>
- Samraj, A. K., Keil, E., Ueffing, N., Schulze-Osthoff, K., & Schmitz, I. (2006). Loss of caspase-9 provides genetic evidence for the type I/II concept of CD95-mediated apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 281(40), 29652–29659.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M603487200>
- Scharf, A. N. D., & Imhof, A. (2011). Every methyl counts--epigenetic calculus. *FEBS Letters*, 585(13), 2001–2007. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2010.11.029>
- Shin, Y. J., Han, S. H., Kim, D. S., Lee, G. H., Yoo, W. H., Kang, Y. M., ... Chae, H. J. (2010). Autophagy induction and CHOP under-expression promotes survival

- of fibroblasts from rheumatoid arthritis patients under endoplasmic reticulum stress. *Arthritis Research and Therapy*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/ar2921>
- Shintani, T., & Klionsky, D. J. (2004, November 5). Autophagy in health and disease: A double-edged sword. *Science*, Vol. 306, pp. 990–995. <https://doi.org/10.1126/science.1099993>
- Shu, Y., Hu, Q., Long, H., Chang, C., Lu, Q., & Xiao, R. (2017, April 1). Epigenetic Variability of CD4+CD25+ Tregs Contributes to the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, Vol. 52, pp. 260–272. <https://doi.org/10.1007/s12016-016-8590-3>
- Sica, A., Wang, J. M., Colotta, F., Dejana, E., Mantovani, A., Oppenheim, J. J., ... Matsushima, K. (1990). Monocyte chemotactic and activating factor gene expression induced in endothelial cells by IL-1 and tumor necrosis factor. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 144(8), 3034–3038. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2182712>
- Singer, G. G., Carrera, A. C., Marshak-Rothstein, A., Martínez-A, C., & Abbas, A. K. (1994). Apoptosis, fas and systemic autoimmunity: the MRL-Ipr/Ipr model. *Current Opinion in Immunology*, 6(6), 913–920. [https://doi.org/10.1016/0952-7915\(94\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0952-7915(94)90013-2)
- Siomi, H., & Siomi, M. C. (2010, May 14). Posttranscriptional Regulation of MicroRNA Biogenesis in Animals. *Molecular Cell*, Vol. 38, pp. 323–332. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.03.013>
- Spencer, S. L., Gaudet, S., Albeck, J. G., Burke, J. M., & Sorger, P. K. (2009). Non-genetic origins of cell-to-cell variability in TRAIL-induced apoptosis. *Nature*, 459(7245), 428–432. <https://doi.org/10.1038/nature08012>
- Stagakis, E., Bertias, G., Verginis, P., Nakou, M., Hatziapostolou, M., Kritikos, H., ... Boumpas, D. T. (2011). Identification of novel microRNA signatures linked to human lupus disease activity and pathogenesis: MiR-21 regulates aberrant T cell responses through regulation of PDCD4 expression. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(8), 1496–1506. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.139857>
- Stanczyk, J., Leslie Pedrioli, D. M., Brentano, F., Sanchez-Pernaute, O., Kolling, C., Gay, R. E., ... Kyburz, D. (2008). Altered expression of microRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 58(4), 1001–1009. <https://doi.org/10.1002/art.23386>
- Strasser, A., Jost, P. J., & Nagata, S. (2009, February 20). The Many Roles of FAS

- Receptor Signaling in the Immune System. *Immunity*, Vol. 30, pp. 180–192.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.01.001>
- Sweet, M. J., Shakespear, M. R., Kamal, N. A., & Fairlie, D. P. (2012, January). HDAC inhibitors: Modulating leukocyte differentiation, survival, proliferation and inflammation. *Immunology and Cell Biology*, Vol. 90, pp. 14–22.
<https://doi.org/10.1038/icb.2011.88>
- Takami, N., Osawa, K., Miura, Y., Komai, K., Taniguchi, M., Shiraiishi, M., ... Shiozawa, S. (2006). Hypermethylated promoter region of DR3, the death receptor 3 gene, in rheumatoid arthritis synovial cells. *Arthritis and Rheumatism*, 54(3), 779–787. <https://doi.org/10.1002/art.21637>
- Tang, Q., & Bluestone, J. A. (2008, March). The Foxp3+ regulatory T cell: A jack of all trades, master of regulation. *Nature Immunology*, Vol. 9, pp. 239–244.
<https://doi.org/10.1038/ni1572>
- Tang, Y., Luo, X., Cui, H., Ni, X., Yuan, M., Guo, Y., ... Shen, N. (2009). MicroRNA-146a contributes to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. *Arthritis and Rheumatism*, 60(4), 1065–1075. <https://doi.org/10.1002/art.24436>
- Tang, Z. M., Fang, M., Wang, J. P., Cai, P. C., Wang, P., & Hu, L. H. (2014). Clinical Relevance of Plasma miR-21 in New-Onset Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 28(6), 446–451.
<https://doi.org/10.1002/jcla.21708>
- Tao, R., De Zoeten, E. F., Özkaynak, E., Chen, C., Wang, L., Porrett, P. M., ... Hancock, W. W. (2007). Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nature Medicine*, 13(11), 1299–1307.
<https://doi.org/10.1038/nm1652>
- Trocoli, A., & Djavaheri-Mergny, M. (2011). The complex interplay between autophagy and NF-κB signaling pathways in cancer cells. *American Journal of Cancer Research*, 1(5), 629–649. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21994903>
- van Loosdregt, J., Rossetti, M., Spreafico, R., Moshref, M., Olmer, M., Williams, G. W., ... Albani, S. (2016). Increased autophagy in CD4+ T cells of rheumatoid arthritis patients results in T-cell hyperactivation and apoptosis resistance. *European Journal of Immunology*, 46(12), 2862–2870.
<https://doi.org/10.1002/eji.201646375>

- Vandenabeele, P., Galluzzi, L., Vanden Berghe, T., & Kroemer, G. (2010, October). Molecular mechanisms of necroptosis: An ordered cellular explosion. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 11, pp. 700–714. <https://doi.org/10.1038/nrm2970>
- Vinolo, M. A. R., Rodrigues, H. G., Hatanaka, E., Sato, F. T., Sampaio, S. C., & Curi, R. (2011). Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(9), 849–855. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.07.009>
- Vojinovic, J., Damjanov, N., D'Urzo, C., Furlan, A., Susic, G., Pasic, S., ... Dinarello, C. A. (2011). Safety and efficacy of an oral histone deacetylase inhibitor in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 63(5), 1452–1458. <https://doi.org/10.1002/art.30238>
- Vrijens, K., Bollati, V., & Nawrot, T. S. (2015). MicroRNAs as potential signatures of environmental exposure or effect: A systematic review. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 123, pp. 399–411. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408459>
- Wada, T. T., Araki, Y., Sato, K., Aizaki, Y., Yokota, K., Kim, Y. T., ... Mimura, T. (2014). Aberrant histone acetylation contributes to elevated interleukin-6 production in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 444(4), 682–686. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.01.195>
- Wallner, S., Schröder, C., Leitão, E., Berulava, T., Haak, C., Beißer, D., ... Horsthemke, B. (2016). Epigenetic dynamics of monocyte-to-macrophage differentiation. *Epigenetics and Chromatin*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13072-016-0079-z>
- Wang, Y. Y., Shu, Y., Xiao, Y. F., Wang, Q., Kanekura, T., Li, Y. P., ... Xiao, R. (2014). Hypomethylation and overexpression of ITGAL (CD11a) in CD4+ T cells in systemic sclerosis. *Clinical Epigenetics*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1868-7083-6-25>
- Weinreb, D. B., & Desman, G. T. (2005). Expression of p53 and apoptosis in discoid lupus erythematosus. *Croatian Medical Journal*, 46(6), 998. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16342357>
- Weissmann, G. (1964). LYSOSOMES, AUTOIMMUNE PHENOMENA, AND DISEASES OF CONNECTIVE TISSUE. *The Lancet*, 284(7374), 1373–1375. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(64\)91163-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(64)91163-8)

- Wu, H., Fu, S., Zhao, M., Lu, L., & Lu, Q. (2017, January 1). Dysregulation of cell death and its epigenetic mechanisms in systemic lupus erythematosus. *Molecules*, Vol. 22. <https://doi.org/10.3390/molecules22010030>
- Wu, X., Molinaro, C., Johnson, N., & Casiano, C. A. (2001). Secondary necrosis is a source of proteolytically modified forms of specific intracellular autoantigens: Implications for systemic autoimmunity. *Arthritis and Rheumatism*, 44(11), 2642–2652. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200111\)44:11<2642::AID-ART444>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200111)44:11<2642::AID-ART444>3.0.CO;2-8)
- Yin, H., Wu, H., Chen, Y., Zhang, J., Zheng, M., Chen, G., ... Lu, Q. (2018). The Therapeutic and Pathogenic Role of Autophagy in Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*, Vol. 9, p. 1512. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01512>
- Yung, R., & Mau, T. (2014). Potential of epigenetic therapies in non-cancerous conditions. *Frontiers in Genetics*, Vol. 5. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00438>
- Zhang, J., Yuan, B., Zhang, F., Xiong, L., Wu, J., Pradhan, S., & Wang, Y. (2011). Cyclophosphamide perturbs cytosine methylation in Jurkat-T cells through LSD1-mediated stabilization of DNMT1 protein. *Chemical Research in Toxicology*, 24(11), 2040–2043. <https://doi.org/10.1021/tx2003849>
- Zhang, R., Tian, A., Wang, J., Shen, X., Qi, G., & Tang, Y. (2015). miR26a Modulates Th17/Treg Balance in the EAE Model of Multiple Sclerosis by Targeting IL6. *NeuroMolecular Medicine*, 17(1), 24–34. <https://doi.org/10.1007/s12017-014-8335-5>
- Zhang, Z., & Zhang, R. (2015, October 1). Epigenetics in autoimmune diseases: Pathogenesis and prospects for therapy. *Autoimmunity Reviews*, Vol. 14, pp. 854–863. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.05.008>
- Zhao, M., Wang, Z., Yung, S., & Lu, Q. (2015, October 1). Epigenetic dynamics in immunity and autoimmunity. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, Vol. 67, pp. 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.05.022>
- Zhou, L., Lim, H. W., & Mi, Q.-S. (2019). Epigenetics. In *Vitiligo* (pp. 253–264). https://doi.org/10.1007/978-3-319-62960-5_25
- Zhou, X. J., Lu, X. L., Lv, J. C., Yang, H. Z., Qin, L. X., Zhao, M. H., ... Zhang, H. (2011). Genetic association of PRDM1-ATG5 intergenic region and autophagy with systemic lupus erythematosus in a Chinese population. *Annals of the*

Rheumatic Diseases, 70(7), 1330–1337. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.140111>
Zouali, M. (2019). Epigenetics of autoimmune diseases. In *The Autoimmune Diseases*
(pp. 429–466). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812102-3.00025-7>