

Αυτοαντισώματα σε Συστηματικά Αυτοάνοσα Νοσήματα

Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη

Βιοπαθολόγος, Διευθύντρια ΕΣΥ

Τμήμα Ανοσολογίας- Ιστοσυμβατότητας Γ.Ν.Α «ο Ευαγγελισμός»

Το ανοσιακό σύστημα εξελίχθηκε στη σημερινή του μορφή με σκοπό την προστασία του οργανισμού από μια δυνητικά ατέρμονη ποικιλία παραγόντων πρόκλησης νόσου, αποφεύγοντας ταυτόχρονα επιβλαβείς επιδράσεις στο «ίδιο». Επειδή η ανάπτυξη ανοσιακών μηχανισμών μπορεί να οδηγήσει όχι μόνο σε καταστροφή των παθογόνων παραγόντων, μέσω ισχυρών φλεγμονωδών μορίων, αντισωμάτων και κυτταροκτόνων κυττάρων, αλλά και σε βλάβη των φυσιολογικών κυττάρων, το ανοσιακό σύστημα πρέπει να ρυθμίζεται επαρκώς και καταλλήλως. Η ανοσορύθμιση αυτή συμπεριλαμβάνει όλους εκείνους τους εγγενείς και εξωγενείς μηχανισμούς που σκοπό έχουν, με την κινητοποίησή τους, την εξουδετέρωση των παθογόνων και την επίτευξη της ομοιόστασης. Έτσι, μέσω της ανοσορύθμισης, προλαμβάνονται κυτταρικές μεταβολές (ιστική βλάβη, νεοπλασίες) και παρεμποδίζεται η εξέλιξη της ανοσιακής απόκρισης προς αυτοανοσία.

Σήμερα, οι σύγχρονες απόψεις θεωρούν την αυτοανοσία, ως μία απαραίτητη, βασική φυσιολογική λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος που παίζει κεντρικό ρόλο στην ανοσιακή απάντηση. Διαταραχή της φυσιολογικής αυτής ανοσολογικής απόκρισης έχει ως αποτέλεσμα αυτοάνοσο νόσημα, το οποίο ορίζεται ως μια κλινικο-παθολογική κατάσταση όπου ο οργανισμός αντιδρά βλαπτικά έναντι του «ιδίου». Η αιτιολογία αυτής της διαταραχής είναι πολυπαραγοντική και οδηγεί στην απώλεια της «ίδιο-ανοχής» σε ένα όργανο ή σε σύνολο οργάνων. Γενετικοί, περιβαλλοντικοί, ορμονικοί, ανοσολογικοί παράγοντες, πιθανά και άλλοι που δεν γνωρίζουμε ακόμα, θεωρείται ότι συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη αυτοάνοσου νοσήματος.

Ένα από τα χαρακτηριστικά ευρήματα της αυτοανοσίας είναι η παρουσία αυτοαντισωμάτων, η παραγωγή των οποίων είναι αντιγονικά καθορισμένη. Η παραγωγή των αντισωμάτων αντανακλά την παρουσία, τη φύση και την ένταση της ανοσιακής απάντησης, διαταραχή της οποίας, είναι δυνατόν να οδηγήσει στην εμφάνιση αυτοάνοσης νόσου. Έτσι η ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων προσφέρει πολλαπλές κλινικές πληροφορίες καθώς η παρουσία τους χρησιμοποιείται ως:

1. Δείκτης διάγνωσης και κατάταξης της νόσου : πολλά αυτοαντισώματα εμφανίζουν υψηλή ειδικότητα για τη νόσο και ως εκ τούτου η θετικότητά τους έχει διαγνωστική αξία (αντι-dsDNA και ΣΕΛ, αντι-GAD και Ινσουλινοεξαρτώμενος Διαβήτης τύπου Ι).
2. Δείκτης κλινικής έκφρασης της νόσου : πολλά αυτοαντισώματα συνοδεύουν την εμφάνιση συγκεκριμένων κλινικών συμπτωμάτων (αντι-Scl-70 και Διάχυτο Σκληρόδερμα, αντι- Jo-1 και Μυοσίτιδα με διάμεση πνευμονική ίνωση).
3. Δείκτης δραστηριότητας της νόσου : μερικά αυτοαντισώματα συσχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου (αντισώματα έναντι νουκλεοσώματος και νεφρίτιδα του ΣΕΛ, αντι-cANCA και κοκκιωμάτωση Wegener).
4. Δείκτης πρόγνωσης της νόσου : αρκετά αυτοαντισώματα είναι δυνατόν να προβλέψουν την εμφάνιση ή την βαρύτητα της νόσου (αντι-CCP και Ρευματοειδής Αρθρίτιδα, έναντι ενδομυΐου και Κοιλιοκάκη).

Ανάλογα με το είδος του αυτοαντιγόνου που προσανατολίζει τη χυμική ανοσιακή απόκριση, τα αυτοαντισώματα διακρίνονται σε οργανοειδικά και μη οργανοειδικά ή συστηματικά. Στην πρώτη περίπτωση τα αυτοαντισώματα στρέφονται κατά εξειδικευμένων ιστών και μόνο, οπότε παρουσιάζουν ειδικότητα όσον αφορά στη δράση τους, αλλά και στην ιστική βλάβη που πιθανά να προκαλέσουν. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί η παρουσία αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (αντι-TPO, αντι-Tg) στην αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα. Στην δεύτερη περίπτωση τα αυτοαντισώματα στρέφονται κατά αυτοαντιγόνων που υπάρχουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού και εκφράζουν την παθογενετική τους δράση μέσω ανοσοσυμπλεγμάτων. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα αντιπυρηνικά (ANA) αντισώματα που αποτελούν κριτήριο ταξινόμησης στη διαγνωστική προσέγγιση των συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων.

Αντιπυρηνικά Αντισώματα

Τα ANA αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων, τα οποία στρέφονται έναντι διαφόρων αντιγονικών συστατικών του πυρήνα, όπως το DNA, οι ιστόνες, μη ιστονικές πρωτεΐνες, συμπλέγματα RNA- πρωτεΐνης, πυρηνισκικά αντιγόνα, κ.α. Τα ANA αναγνωρίστηκαν στην προσπάθεια να προσδιοριστούν οι παράγοντες που ευθύνονται για το φαινόμενο των κυττάρων του λύκου (LE cells), τα οποία είχαν παρατηρηθεί από το 1948. Τα κύτταρα λύκου, αν και αποτέλεσαν μια τόσο σημαντική ανακάλυψη, ώστε να συμπεριληφθούν στα διαγνωστικά κριτήρια του ΣΕΛ του Αμερικανικού Κολεγίου Ρευματολογίας, αντικαταστάθηκαν βαθμιαία από πολύ πιο αξιόπιστες δοκιμασίες και σήμερα δεν υπάρχει πλέον κανένας λόγος να αναζητούνται. Από τα τέλη της δεκαετίας του '50

υπήρχαν διαθέσιμες δοκιμασίες προσδιορισμού των ANA με ανοσοφθορισμό (περιγράφηκε από τον Friou και συν., το 1958) σε υποστρώμα από ιστούς ζώων. Πρόκειται φυσικά, για ενιαία ανίχνευση των ANA στο σύνολό τους, ανεξάρτητα από το γεγονός ότι στη συνέχεια ορισμένες εικόνες φθορισμού αναγνωρίστηκαν ότι αντιστοιχούν σε αυτοαντισώματα έναντι συγκεκριμένων πυρηνικών αντιγόνων.

Η αρχική εξέταση ρουτίνας (screening test) για την ανίχνευση των ANA, ευρύτατα χρησιμοποιούμενη σήμερα, είναι η μέθοδος του **έμμεσου ανοσοφθορισμού** (IIF), σε υποστρώματα καλλιεργούμενων ανθρώπινων κυτταρικών σειρών (κυρίως Hep-2 επιθηλιακών κυττάρων από καρκίνο λάρυγγος ανθρώπου, KB επιθηλιακών κυττάρων από καρκίνο στοματοφάρυγγος ανθρώπου, HeLa κυττάρων ανθρώπου από καρκίνο τραχήλου μήτρας, ανθρώπινων αμνιακών κυττάρων κ.α). Τα υποστρώματα από ανθρώπινες κυτταροκαλλιέργειες έχουν αντικαταστήσει τις ιστικές τομές ήπατος και νεφρού αρουραίου ή ποντικού που χρησιμοποιούνταν παλιότερα, διότι περιέχουν μεγαλύτερη ποικιλία αντιγόνων, περιέχουν αντιγόνα που δεν εκφράζονται στις ιστικές τομές των τρωκτικών (αντικεντρομεριδιακά, αντι- PCNA/ proliferating cell nuclear antigen), έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση ορισμένων αντιγόνων σε σχέση με τις ιστικές τομές (Ro αντιγόνο), έχουν μεγάλους πυρήνες που διευκολύνουν την παρατήρηση των τύπων φθορισμού, καθώς και του φθορισμού των κυττάρων στη φάση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού που βρίσκονται. Με τα υποστρώματα αυτά δίνεται η δυνατότητα αναγνώρισης και επιπλέον τύπων, όπως του αντικεντρομεριδιακού, του κυτταροπλασματικού και των μικτών τύπων φθορισμού.

Οι διαφορετικοί τύποι φθορισμού, έτσι όπως εμφανίζονται στον IIF και που αξιολογούνται ως προς την σημαντικότητα των ANA και την πιθανότητα συγκεκριμένης νόσου, μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής:

Πυρηνικός	Κυτταροπλασματικός	Μιτωτικός
Ομοιογενής	Στικτός (αδρός/λεπτός)	Μιτωτικής ατράκτου
Στικτός (αδρός/λεπτός)	Μιτοχονδριακός	Κεντροσωματίου
Περιφερικός/μεμβρανώδης	Ριβοσωματικός	NuMA (nuclear mitotic apparatus)
Πυρηνιδίου	Συσκευής Golgi	Κεντρομεριδιακός CENP
Κεντρομεριδιακός	Κυτταροσκελετού	
PCNA (proliferating cell nuclear antigen)		
Πυρηνικές «τελείες» - nuclear dots		

Έξι κύριοι τύποι φθορισμού παρατηρούνται συχνότερα σε υπόστρωμα Hep- 2 κυττάρων:

- ✓ **Διάχυτος ή ομοιογενής**, σχετίζεται κυρίως με αντιϊστονικά ή αντι-dsDNA αντισώματα.
- ✓ **Περιφερικός**, σχετίζεται με αυτοαντισώματα έναντι πρωτεϊνών που αποτελούν τμήμα της πυρηνικής μεμβράνης ή πρωτεϊνών του συμπλέγματος του πυρηνικού πόρου, όπως η gp210.
- ✓ **Στικτός**, σχετίζεται με αντισώματα έναντι μη ιστονικών αντιγόνων (αντι- Sm, αντι- U1-nRNP, αντι-SSA/Ro, αντι-SSB/ La). Η μορφολογία και το μέγεθος των κοκκίων ποικίλουν κατά περίπτωση.
- ✓ **Φθορισμός πυρηνιδίου**, που δίνουν τα αντισώματα έναντι DNA τοποϊσομεράσης I (Scl-70), U3- RNP, RNA πολυμεράσης I και διακρίνεται περαιτέρω σε ομοιογενή, στικτό ή στικτό με στίγματα καθ' ομάδες, ανάλογα με τα αντίστοιχα αντιγόνα-στόχους. Ο φθορισμός πυρηνιδίου παρατηρείται κατά κανόνα στη συστηματικό σκληρόδερμα ή σε σύνδρομα επικάλυψης και σπάνια σε άλλες νόσους.
- ✓ **Αντικεντρομεριδιακός**, από αντισώματα έναντι του κεντρομεριδίου / κινητοχώρου, που είναι ευκρινής στικτός με χαρακτηριστική εικόνα της χρωματίνης στη μετάφαση και είναι ειδικός για το συγκεκριμένο αντιγόνο στόχο (κεντρομερίδιο).
- ✓ **Κυτταροπλασματικός**, που δίνουν τα αντισώματα έναντι οργανιδίων του κυτταροπλάσματος, όπως μιτοχονδρίων, ριβοσωμάτων, συσκευής Golgi, κυτταροπλασματικών RNPs, (Jo- 1 αντιγόνο) και αντισωμάτων έναντι του κυτταροσκελετού (ακτίνη, μυοσίνη, βιμεντίνη).
- ✓ **Μικτός**, σε συνύπαρξη περισσότερων του ενός αντισωμάτων (πχ διάχυτο και στικτό, στικτό και πυρηνιδίου κλπ).

Για την ορθή όμως ερμηνεία των αποτελεσμάτων του IIF, στα πλαίσια αναζήτησης των ANA, θα πρέπει πάντα να συναξιολογούνται τα κλινικά ευρήματα του ασθενούς με τις εργαστηριακές παραμέτρους που αφορούν:

1. το είδος του υποστρώματος
2. τον τύπο καθώς και
3. τον τίτλο φθορισμού

Ο τίτλος του φθορισμού είναι ευθέως ανάλογος προς τη συγκέντρωση αντισώματος και η αξιολόγησή του είναι σημαντική, καθώς ένας χαμηλός τίτλος έχει μικρή διαγνωστική αξία και μπορεί να ανευρίσκεται συχνά ακόμη και σε υγιή άτομα. Έτσι αποτελέσματα αρνητικά για ANA απομακρύνουν σε μεγάλο βαθμό την πιθανότητα ύπαρξης νόσου του συνδετικού ιστού. Πολλές μετααναλυτικές κυρίως μελέτες έχουν προσπαθήσει να καθορίσουν τη βέλτιστη

αρχική αραίωση διαλογής των δειγμάτων για τη δοκιμασία των ANA. Ένας τίτλος 1:160 θεωρείται σήμερα αξιολογήσιμος, στη διαγνωστική προσπέλαση των Νοσημάτων του Συνδετικού ιστού (ΝΣΙ) στην πλειονότητα των εργαστηρίων.

Επίσης, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι τύποι φθορισμού δεν είναι ούτε ειδικοί (πλην του αντικεντρομεριδιακού), ούτε διαγνωστικοί για συγκεκριμένο αυτοαντίσωμα ή νόσο. Είναι ενδεικτικοί για την παρουσία του αυτοαντισώματος που σχετίζεται με τον συγκεκριμένο τύπο, η ειδικότητα του οποίου θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με πιο ειδικές μεθόδους, όπως διπλή ανοσοδιάχυση, αντίθετη ανοσοηλεκτροφόρηση, ανοσοενζυμική (ELISA), μέθοδος ανοσοαποτύπωσης (immunoblotting), ραδιοανοσολογικές μέθοδοι (RIA) και μέθοδος ανοσοκαθίζησης (immunoprecipitation).

Κλινική συσχέτιση

Τα ANA ανιχνεύονται σε ένα πλήθος ανομοιογενών καταστάσεων, χωρίς όμως να συμβάλλουν εξίσου στη διάγνωση όλων αυτών, αλλά και σε ένα σημαντικό ποσοστό φυσιολογικών ατόμων. Η επίπτωση των ANA στα φυσιολογικά άτομα εξαρτάται από το φύλο και την ηλικία. Τα μεγαλύτερης ηλικίας άτομα και κυρίως οι άνω των 60 ετών γυναίκες είναι πιθανότερο να έχουν ANA(+). Η ανίχνευση των ANA σε υγιή άτομα μπορεί να οφείλεται σε διασταυρούμενες αντιδράσεις με ιστικά στοιχεία διαφορετικά από τα πραγματικά αντιγόνα, μπορεί να αντιπροσωπεύουν παροδικό φαινόμενο συνήθως κατά τη διάρκεια λοιμώξεων, να αντιδρούν με πραγματικά αυτοαντιγόνα που υπάρχουν σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. πιθανόν όμως να είναι αποτέλεσμα μια πραγματικής αυτοάνοσης αντίδρασης.

Τα ANA ανιχνεύονται περίπου στο 95% των ασθενών με ΣΕΛ και αποτελούν ένα από τα 11 διαγνωστικά κριτήρια της νόσου. Ως εκ τούτου, ο προσδιορισμός τους έχει μεγαλύτερη ευαισθησία για την διάγνωση του ΣΕΛ, αλλά και τη προσέγγιση όλων σχεδόν των συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων καθώς και μερικών οργανοειδικών.

Αρνητικά ANA- Επανάληψη. Εκτός από τις περιπτώσεις όπου υπάρχει υπόνοια εργαστηριακού σφάλματος, η άμεση επανάληψη της εξέτασης με αρνητικά ANA δεν είναι απαραίτητη. Επειδή όμως τα ΝΣΙ εξελίσσονται συνήθως σε απώτερο χρόνο, οι κλινικές ενδείξεις είναι πιθανό να επιβάλλουν την επανάληψη σε σύντομο χρόνο. Επιπλέον, σε ένα ANA αρνητικό δείγμα δεν συντρέχει λόγος παραπέρα προσδιορισμού της ειδικότητας των αντισωμάτων έναντι των πυρηνικών αντιγόνων.

Θετικά ANA- Περαιτέρω έλεγχος. Ο ΣΕΛ συνοδεύεται συνήθως από μια ετερογενή πολυκλωνική αντισωματική απάντηση. Σε έναν τυπικό ασθενή με ΣΕΛ ανιχνεύονται συνήθως ταυτόχρονα κατά μέσο όρο τρία διαφορετικά αυτοαντισώματα. Σε αυτούς τους ασθενείς,

αλλά και σε άτομα με κλινική υποψία ΝΣΙ και θετικά ANA, η αναζήτηση της ειδικότητας των αυτοαντισωμάτων επιβάλλεται και καθοδηγείται από τις κλινικές ενδείξεις και τις διαφοροδιαγνωστικές υπόνοιες των σχετικών νοσημάτων.

Σταθμό στην προσπάθεια ταυτοποίησης των αντιγόνων, έναντι των οποίων στρέφονται τα ANA, αποτέλεσε η απομόνωση των πυρήνων των κυττάρων και η εκχύλιση των αντιγόνων τους. Έτσι η απομόνωση του DNA και των εχυλιζόμενων αντιγόνων του πυρήνα, ENA, (extractable nuclear antigens) έδωσε τη δυνατότητα προσδιορισμού αντισωμάτων έναντι dsDNA και ENA, που αποτελούν δείκτες ή/και διαγνωστικά κριτήρια αυτοάνοσων νοσημάτων.

ευαισθησία, ειδικότητα και κλινική σημασία των ANA			
αυτοαντισώματα	αυτοάνοσα νοσήματα	ευαισθησία% ειδικότητα%	
	Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	93	57
	Σύνδρομο Sjogren	48	52
ANA	Συστηματικό Σκληρόδερμα	85	54
	Πολυμυοσίτιδα/Δερματομυοσίτιδα	61	63
	Φαινόμενο Raynaud	64	41
	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	50	44
ειδικότητα ANA			
αντι- dsDNA	Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	57	97
αντι- Sm	Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	25	99
αντι- U1RNP	Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού	12	96
αντι- SSA/Ro	Σ. Sjogren, υποξύς δερματικός και νεογνικός λύκος	8-70	87
αντι- SSB/La	Σ. Sjogren, υποξύς δερματικός και νεογνικός λύκος	16-40	94
αντι- Scl70	Συστηματικό Σκληρόδερμα	20	100
αντι- Jo1	Πολυμυοσίτιδα/Δερματομυοσίτιδα	30	100

Αντισώματα κατά του δεοξυριβονουκλεϊνικού οξέος (DNA)

Πριν από 40 περίπου χρόνια ανακαλύφθηκαν, για πρώτη φορά, στον ορό ασθενών με ΣΕΛ και άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, αντισώματα τα οποία αντιδρούσαν με πυρηνικά αντιγόνα, DNA, ιστονικές και μη ιστονικές πρωτεΐνες, συμπλέγματα πρωτεϊνών και πυρηνικών οξέων. Έκτοτε, ένας μεγάλος αριθμός ερευνητικών προσπαθειών είχε ως αποτέλεσμα την καταγραφή ποικιλίας αντισωμάτων, τον καθορισμό της χημικής σύστασης των αντιγόνων κατά των οποίων στρέφονται αυτά τα αντισώματα, τον προσδιορισμό της διαγνωστικής και προγνωστικής αξίας τους, καθώς και τον πιθανό ρόλο τους στην παθογένεια της νόσου.

Τα αντι- DNA αντισώματα είναι μια ετερογενής ομάδα αυτοαντισωμάτων, που μπορούν να αντιδρούν με φυσικό DNA (DNA διπλής έλικας) ή μετουσιωμένο DNA (DNA μονής έλικας) ή

και με τα δύο μαζί. Οι διάφορες ιδιότητες των αντι-DNA αντισωμάτων, η ειδικότητα, η χημική συγγένεια, η ικανότητα να συνδέουν το συμπλήρωμα, η τάξη της ανοσοσφαιρίνης, έχουν συσχετισθεί με διάφορες κλινικές εκδηλώσεις του ΣΕΛ. Επιπλέον, κλινικές παρατηρήσεις κατέδειξαν τη σπουδαιότητα των αντι-dsDNA αντισωμάτων στη διάγνωση, πρόγνωση και παθογένεια του ΣΕΛ.

Από τις μεθόδους που κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό των αντι-dsDNA αντισωμάτων, τρεις παραμένουν σε ευρεία χρήση: ο **έμμεσος ανοσοφθορισμός** σε υπόστρωμα *Crithidia luciliae*, η **ELISA** με τη χρήση dsDNA ζωικής ή μικροβιακής προέλευσης και πολύ λιγότερο η **RIA**. Τα αποτελέσματα αυτών των τριών μεθόδων είναι, γενικώς συγκρίσιμα. Εντούτοις, η RIA και ο IIF προσδιορίζουν υψηλής συγγένειας αντισώματα και, ως εκ τούτου είναι πολύ πιο ειδικές από την ELISA, αναφορικά με τη διάγνωση του ΣΕΛ. Αντίθετα, η ELISA προσδιορίζει τόσο υψηλής όσο και χαμηλής συγγένειας αντισώματα και μπορεί να δώσει ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Τα αντι-dsDNA αντισώματα αποτελούν μια από τις τρεις ανοσολογικές διαταραχές, η παρουσία των οποίων είναι διαγνωστικό κριτήριο του ΣΕΛ. Η ειδικότητά τους για τη νόσο προσεγγίζει το 100%, αφού σπανίως ανιχνεύονται σε άλλα νοσήματα ή σε υγιή άτομα είναι δε, τόσο μεγαλύτερη όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωσή τους. Τα αντι-dsDNA αντισώματα σχετίζονται επίσης με την πρόγνωση του ΣΕΛ και ιδιαίτερα με την ενεργότητα της νεφρίτιδας του λύκου.

Αντισώματα έναντι μη ιστονικών πυρηνικών και κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών (ENA)

Στρέφονται έναντι μικρών πυρηνικών και κυτταροπλασματικών ριβονουκλεοπρωτεϊνών. Πολλά από τα αντιγόνα αυτά είναι διαλυτά και επειδή λαμβάνονται με εκχύλιση των πυρήνων ονομάζονται εκχυλιζόμενα πυρηνικά αντιγόνα (Extractable Nuclear Antigens- ENA).

Αντισώματα κατά ριβονουκλεοπρωτεϊνών U1RNP και Sm

Τα αντιγόνα-στόχοι των αντισωμάτων αυτών είναι συνήθως μεγάλα κυτταρικά σύμπλοκα που περιέχουν πρωτεΐνη και συστατικά των πυρηνικών οξέων, DNA και RNA. Τα αντιγόνα αυτά επιτελούν ουσιώδεις κυτταρικές λειτουργίες και εμφανίζουν ευρεία διατήρηση στα διάφορα είδη. Ορισμένα από τα αντισώματα που στρέφονται κατά αυτών των αντιγόνων έχουν χαρακτηριστεί ως δείκτες συγκεκριμένων παθήσεων ή ως δείκτες ενεργότητας της νόσου.

Για πρώτη φορά το 1966 οι Tan και Kunkel αναγνωρίζουν και περιγράφουν ένα πυρηνικό αντιγόνο εκτός του ήδη γνωστού DNA. Το αντιγόνο βρισκόταν σε εκχυλίσματα πυρήνων και ονομάστηκε Sm από το όνομα του ασθενούς (Smith) με ΣΕΛ, του οποίου ο ορός το

αναγνώρισε. Διαπιστώθηκε ότι το αντιγόνο ήταν διαφορετικό από το DNA, καθώς δεν αναγνωριζόταν από ορούς με αντι-DNA δραστηριότητα, ήταν σχετικά ανθεκτικό στη θρυψίνη ώστε ξεχώριζε από της ιστόνες, ήταν ανθεκτικό στη ριβονουκλεάση και ανθεκτικό σε θερμοκρασία 56° C για μία ώρα. Τα αντι-Sm αντισώματα στρέφονται κυρίως κατά των D και κατά του ζεύγους Β/Β' πρωτεϊνών, καταγράφονται όμως και αντισώματα κατά των E, F ή G πρωτεϊνών.

Το 1971, οι Mattioli και Reichlin ανακοινώνουν την ύπαρξη σε ορούς ασθενών με ΣΕΛ, αντισωμάτων έναντι της διαλυτού πυρηνικού αντιγόνου, που το ονόμασαν «αντιγόνο RNA-πρωτεΐνη», διότι ήταν ευαίσθητη στη ριβονουκλεάση και τη θρυψίνη καθώς και στην επίδραση θερμότητας και επομένως το θεώρησαν σύμπλοκο πυρηνικού RNA και πρωτεΐνης. Το αντιγόνο RNA-πρωτεΐνη ονομάστηκε γρήγορα nRNP, όρος που περιέγραφε καλύτερα το βιοχημικό του χαρακτήρα και την πυρηνική του προέλευση. Στα μικρά πυρηνικά RNA ανήκουν και τα URNA ή RNA της U σειράς από τη μεγάλη περιεκτικότητα σε ουρυδικό οξύ. Τα αντι-U1RNP έχουν ως κύριο στόχο της ειδικές πρωτεΐνες U1-70K και U1-A και σε μικρότερη συχνότητα την U1-C.

Κλινική σημασία των Sm και αντι- U1RNPs αντισωμάτων

Το U1RNP σύμπλοκο λαμβάνει μέρος στο πρώτο στάδιο της διαδικασίας του ανασυνδυασμού του RNA. Τα αντισώματα συσχετίστηκαν αεχικά με την Μικτή Νόσο του Συνδετικού Ιστού και θεωρούνται ένα από τα μείζονα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου. Επίσης, ανιχνεύονται στο 30- 40% των ασθενών με ΣΕΛ όπου σχετίζονται με λιγότερο βαριά νόσο, μικρότερη συχνότητα νεφρικής προσβολής, φαινόμενο Raynaud, κ.α. Τα αντι-Sm αντισώματα θεωρούνται ειδικά για τον ΣΕΛ, ανιχνεύονται στο 20- 30% των ασθενών και συμπεριλαμβάνονται στα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου.

Αντισώματα κατά των ριβονουκλεοπρωτεϊνών Ro/ SSA, La/ SSB

Το 1958 ο Jones απομόνωσε έναν παράγοντα, στον ορό ασθενούς με σύνδρομο Sjogren , ο οποίος είχε την ιδιότητα να καθιζάνει έναντι εκχυλισμάτων σιελογόνων και δακρυϊκών αδένων. Το 1961, οι Anderson και συν. ταυτοποίησαν δύο διακριτά συστήματα αντισωμάτων στον ορό των ασθενών με σύνδρομο Sjogren, τα SjT και SjD. Αργότερα ανακαλύφθηκαν δύο επιπλέον συστήματα καθίζησης χρησιμοποιώντας δείγματα ορών από ασθενείς με ΣΕΛ, στα οποία δόθηκε η ονομασία Ro και La αντίστοιχα. Παρόλο που δεν είχε πραγματοποιηθεί άμεση σύγκριση, τα φυσικά και ορολογικά χαρακτηριστικά υποδηλώνουν ότι το SjD αντιστοιχεί στο Ro και το SjT στο La αντιγόνο. Δύο νέες δραστηριότητες αντισωμάτων στον ορό από ασθενείς με σ.Sjogren (SSA, SSB) αναφέρθηκαν το 1975 από της Alspargh και Tan.

Τα αντιγόνα Ro και La αποτελούνται το καθένα από σύμπλεγμα πρωτεΐνης με μόρια RNA. Αποκλειστικός φορέας της αντιγονικότητας είναι το πρωτεϊνικό τμήμα της. Οι πρωτεΐνες Ro και La παρουσιάζονται σαν αντιγονικά πολυπεπτίδια μοριακού βάρους 60 KD και 50 KD, αντίστοιχα ενώ έχει αναφερθεί ότι αντι-Ro αντισώματα αναγνωρίζουν σε ανθρώπινους ιστούς και ένα δεύτερο πολυπεπτίδιο με διαφορετικές αντιγονικές ιδιότητες από το πρώτο και με μικρότερο μοριακό βάρος (52KD).

Κλινική συσχέτιση των αντι- SSA/ Ro και αντι- SSB/ La αντισωμάτων

Τα αντι-Ro αντισώματα ανευρίσκονται κυρίως σε ασθενείς με ΣΕΛ (35- 50%) και σύνδρομο Sjogren (60%), αλλά και σε άλλα ΝΣΙ με μικρότερη συχνότητα. Η παρουσία τους στον ΣΕΛ συνδέεται με τον υποξύ δερματικό λύκο, τον νεογνικό λύκο και τον λεγόμενο οροαρνητικό λύκο (ασθενείς με ΣΕΛ και αρνητικά αντιπυρηνικά στον έμμεσο ανοσοφθορισμό που όμως οφείλονται στη χρησιμοποίηση ως υπόστρωμα ιστικών τομών τρωκτικών που δεν περιέχουν το Ro αντιγόνο). Ιδιαίτερη αξία αποτελεί η αναζήτηση των αντισωμάτων έναντι των αντιγονικών επιτόπων (Ro52/Ro60) στην πρόγνωση του κολποκοιλιακού αποκλεισμού ή του εμβρυϊκού θανάτου στα πλαίσια του νεογνικού λύκου.

Τα αντι- La αντισώματα έχουν περιγραφεί στο σύνδρομο Sjogren (40- 60%) και στον ΣΕΛ (συχνότητα 10- 15%). Συνήθως ανευρίσκονται στον ορό μαζί με τα αντι-Ro αντισώματα.

Αντισώματα κατά Jo-1

Η πολυμυοσίτιδα (ΠΜ) είναι μία χρόνια νόσος αγνώστου αιτιολογίας που χαρακτηρίζεται από διάμεσες και περιαγγειακές φλεγμονώδεις διηθήσεις των σκελετικών και άλλων μυών που οδηγούν σε μυϊκή βλάβη και αδυναμία. Ο όρος δερματομυοσίτιδα (ΔΜ) αποδίδεται στην πολυμυοσίτιδα που συνοδεύεται από χαρακτηριστικά δερματικά εξανθήματα. Το 1980 οι Nishikai και Reichlin χρησιμοποιώντας εκχυλίσματα θύμου μοσχαριού παρατήρησαν υψηλή συχνότητα ιζηματοαντιδράσεων (διπλή ανοσοδιάχυση) σε δείγματα ορού ασθενών με ΠΜ και ΔΜ. Έτσι διέκριναν εννέα διαφορετικούς τύπους αντισωμάτων, πλήρως διακριτούς από τα προηγούμενα γνωστά αντισώματα. Από αυτά, τα αντισώματα κατά αντιγόνου Jo-1 ήταν αυτά που ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερη συχνότητα στο 30,8% των ασθενών με ΠΜ, σπανιότερα στη ΔΜ (4,6%), ενώ ήταν απόντα σε ασθενείς με άλλα ΝΣΙ.

Μελέτες κυτταρικής κλασματοποίησης του αντιγόνου Jo-1 καθώς και IIF, χρησιμοποιώντας αντι-Jo-1 αντισώματα έδειξαν ότι πρόκειται για πρωτεΐνη που εντοπίζεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Η πρωτεΐνη αυτή έχει μοριακό βάρος 52- 64 KD περίπου και προέρχεται από ένα αρχικό διμερές μόριο μοριακού βάρους 120- 150 περίπου KD, η αντιγονική δε πρωτεΐνη Jo-1 είναι ταυτόσημη με τη συνθετάση του ιστιδυλικού t- RNA.

Αντισώματα κατά Scl-70 (τοποϊσομεράση I)

Το σκληρόδερμα (συστηματική σκλήρυνση) είναι μία χρόνια συστηματική νόσος αγνώστου αιτιολογίας η οποία χαρακτηρίζεται από ίνωση και εκφυλιστικές αλλοιώσεις του δέρματος, των αγγείων και των ορογόνων υμένων καθώς και από ποικίλες λειτουργικές διαταραχές στην πλειονότητα των οργάνων οι οποίες ουσιαστικά καθορίζουν τη νοσηρότητα και θνησιμότητα της νόσου.

Το 1975, οι Tan και Rodnan μελετώντας τη φύση των αυτοαντισωμάτων του ορού ασθενών με σκληρόδερμα παρατήρησαν ένα νέο σύστημα αντισώματος/αντιγόνου, το οποίο τότε ονόμασαν Scleroderma-1 (Scl-1). Τα αντισώματα αυτά, που ανιχνεύονταν στο 20% περίπου των ασθενών με σκληρόδερμα, παρουσίαζαν ιζηματικές γραμμές στη διπλή ανοσοδιάχυση αντιδρώντας με αντιγόνο από εκχυλίσματα θύμου κουνελιού. Το αντιγόνο-στόχος των αντισωμάτων αυτών είναι μια βασική χρωμοσωμική αλλά μη ιστονική πρωτεΐνη. Επιπλέον, με ηλεκτροφόρηση SDS PAGE προσδιόρισαν το μοριακό βάρος της στα 70 KD, γεγονός για το οποίο της προσέδωσαν την τρέχουσα ονομασία Scleroderma-70 (Scl-70). Μελέτες των Shero και συν. έδειξαν ότι ουσιαστικά το αρχικό πρωτεϊνικό μόριο του Scl-70 μοιάζει με DNA-τοποϊσομεράση I, ένα πυρηνικό ένζυμο που συμμετέχει στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA, ανευρίσκεται στα κύτταρα ως πρωτεΐνη μοριακού βάρους 100 KD, αλλά απομονώνεται και ως πολυπεπτίδιο 67KD, προφανώς κατόπιν πρωτεολυτικής διάσπασης του αρχικού στους μορίου. Έτσι αποδείχθηκε ότι το Scl-70 και η τοποϊσομεράση I είναι ταυτόσημα μόρια.

Κλινική σημασία των αντι- Scl-70

Χαρακτηρίζουν την διάχυτη σκληροδερμία, παρατηρούνται στο 70- 75% των ασθενών και θεωρείται ορολογικός δείκτης στους νόσου. Η παρουσία του στο περιορισμένο σκληρόδερμα (σύνδρομο CREST) παρατηρείται σε 4- 18% των ασθενών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρουσία στους σε 5% περίπου των ασθενών με Raynaud καθώς πιθανώς να έχει προγνωστική σημασία για την εξέλιξη στους σε σκληροδερμία. Η παρουσία των αντισωμάτων αυτών στους ασθενείς με διάχυτη σκληροδερμία σχετίζεται με υψηλότερη συχνότητα πνευμονικής ίνωσης, νεφρικής και καρδιακή συμμετοχής.

Αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL) αποτελούν μια μεγάλη ετερογενή ομάδα αυτοαντισωμάτων, τα οποία, παρά το όνομά τους, δεν συνδέονται στα φωσφολιπίδια, αλλά κατευθύνονται προς αντιγόνα-πρωτεΐνες του πλάσματος, συνδεδεμένες ή και όχι με φωσφοδιαστέρες (γλυκερίνη), οι οποίοι προσδένονται σε αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες με μεγάλη περιεκτικότητα σε φωσφολιπίδια. Μερικοί από τους αντιγονικούς στόχους των

αντισωμάτων είναι η β2-γλυκοπρωτεΐνη I (β2-GPI), η προθρομβίνη, η αννεξίνη V, η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C, η πρωτεΐνη S, η φωσφατιδυλοσερίνη (PS), η θρομβομοντουλίνη (TM), η φωσφατατιδυλαιθανολαμίνη (PE), η φωσφατατιδυλοχολίνη (PC), ο παράγοντας πήξεως XII, ο ιστικός ενεργοποιητής του πλασμινογόνου, οι οξειδωμένες χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (oxLDL), η φωσφατατιδυλινοσιτόλη (PI).

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα που ευρέως αναζητούνται και προσδιορίζονται εργαστηριακά είναι: το αντιπηκτικό του λύκου (LA), τα αντικαρδιολιπινικά aCL (IgG και IgM) και τα αντι-β2GPI (IgG και IgM). Από τη δεκαετία του '80 έγινε δυνατή η ανάπτυξη δοκιμασιών για την ανίχνευση τόσο του LA όσο και των αντικαρδιολιπινικών αντισωμάτων (aCL). Τα aCL προσδιορίζονται με σύνδεση των αντισωμάτων σε καρδιολιπίνες στερεάς φάσης, με τη τεχνική ELISA όπου προσδιορίζονται ποσοτικά οι τάξεις IgG, IgM αλλά και IgA, ανοσοσφαιρίνες, που εξαρτώνται από τη β2-γλυκοπρωτεΐνη I, η οποία είναι ένας απαραίτητος συμπαράγοντας της αναστολής της πήξης. Τα αντισώματα αυτά δεν αναγνωρίζουν ως αντιγόνο μόνο το φωσφολιπίδιο καρδιολιπίνη, αλλά αναγνωρίζουν το σύμπλεγμα καρδιολιπίνης- β2GPI. Συνεπώς τα aCL αντισώματα που σχετίζονται με το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (ΑΦΣ) είναι β2GPI εξαρτώμενα και είναι θρομβογόνα. Αντιθέτως, τα αντιφωσφολιπιδικά που συνδέονται με καρδιολιπίνη ή άλλα φωσφολιπίδια, ανεξαρτήτως της παρουσίας β2GPI, συνοδεύουν λοιμώξεις και άλλες μη αυτοάνοσες καταστάσεις. Τα αντισώματα αξιολογούνται όταν εμφανίζουν μέτριους ή/και υψηλούς τίτλους σε δύο συνεχόμενες μετρήσεις με διαφορά 12 εβδομάδων.

Η β2GPI (απολιποπρωτεΐνη-II) είναι ένας πρωτεϊνικός αντιπηκτικός συμπαράγοντας, ο οποίος παρουσιάζει αντιγονικό επίτοπο μετά από τη στερεοσκοπική αναδιαμόρφωση που υφίσταται με την ιοντική σύνδεσή του με αρνητικά φωτισμένα φωσφολιπίδια (κυρίως φωσφατατιδυλαιθανολαμίνη) της μεμβράνης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα αντι-β2GPI αντισώματα συνδέονται με ένα οκταπεπτίδιο στο πρώτο (I) πεδίο της β2GPI in vitro, ενώ in vivo συνδέονται με το σύμπλεγμα β2GPI και φωσφατιδυλοσερίνης της μεμβράνης των ενεργοποιημένων ή των αποπτωτικών ενδοθηλιακών κυττάρων. Αντισώματα κατά της β2GPI (IgG, IgM και IgA) ανιχνεύονται με ELISA, όπου το πλακίδιο πολυστυρενίου δεν έχει επιστρωθεί με καρδιολιπίνη, αλλά με κεκαθαρμένη β2GPI, συνεπώς τα αντί-β2GPI αντισώματα συνδέονται με το αντιγόνο τους ανεξαρτήτως της παρουσίας φωσφολιπιδίου.

Για να γίνει ισχυρή αυτή η σύνδεση πρέπει να υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση, αλλά και αλλαγή στη διαμόρφωση του μορίου του αντιγόνου γεγονός που επιτυγχάνεται με ακτινοβολία του πλακιδίου με γ ακτινοβολία. Αν και τα αντί-β2GPI παρουσιάζουν

διασταυρούμενες αντιδράσεις με τα αCL αντισώματα θεωρούνται ιδιαίτερη κατηγορία, πρόσφατες δε μελέτες έδειξαν ότι η παρουσία τους αποτελεί ισχυρότερο δείκτη θρομβώσεων από τα αCL αντισώματα. Έτσι λόγω της μεγαλύτερης ειδικότητάς τους η αναζήτησή τους συνιστάται σε περιπτώσεις άτυπων κλινικών εκδηλώσεων ΑΦΣ ή οριακά θετικών αCL αντισωμάτων ή/και αντιπηκτικού του λύκου (LA), καθώς και σε περιπτώσεις με ισχυρές κλινικές ενδείξεις και αCL και LA αρνητικά.

Το αντιπηκτικό του λύκου, είναι ένας παράγοντας του πλάσματος που εμποδίζει, σε *in vitro* δοκιμασίες πήξεως (οι οποίες εξαρτώνται από φωσφολιπίδια), τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης (αPTT). Η εργαστηριακή διερεύνηση του LA ακολουθεί τρία βασικά στάδια: 1. παρατεταμένος χρόνος της αPTT ή της δοκιμασίας αναστολής της αραιάς θρομβοπλαστίνης (dTTI) ή της πήξεως με καολίνη (KCT), 2. παρατεταμένη δοκιμασία πήξεως (κατά προτίμηση της ίδιας που χρησιμοποιήθηκε στο προηγούμενο στάδιο) μετά από ανάμιξη του παθολογικού με φυσιολογικό πλάσμα, σε αναλογία 1:1, 3. διόρθωση του παρατεταμένου χρόνου μετά από εμπλουτισμό με φωσφολιπίδια.

Τα aPL αντισώματα είναι πολυκλωνικά και πολυειδικά και οι όροι αCL και LA δεν αποτελούν συνώνυμα, αλλά αλληλοεπικαλύπτονται μερικώς, όπως συμβαίνει και με τα αντί-β2GPI και τα αντι-παράγοντα II (έναντι προθρομβίνης), αντισώματα. Περίπου το 80% των ασθενών με LA έχουν και αCL, ενώ μόνο το 20% με θετικά αCL έχουν θετικό LA. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι το LA είναι λιγότερο ευαίσθητο, αλλά περισσότερο ειδικό από τα αCL για το ΑΦΣ. Τα αCL ανιχνεύονται σε 1-5% του φυσιολογικού πληθυσμού, ενώ το LA είναι θετικό σε μικρότερο ποσοστό, κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας με χρόνια νοσήματα, επηρεάζεται δε από φάρμακα (χλωροπρομαζίνη) και χρόνιες λοιμώξεις (HIV και λέπρα). Η αναζήτηση των αντι-β2GPI δεν απομονώνει επιπρόσθετους ασθενείς με ΑΦΣ μεταξύ αυτών με συχνές αποβολές ή εμβρυϊκούς θανάτους, που είναι αρνητικοί για αCL. Επιπλέον, τα αντί-β2GPI είναι αρνητικά σε λοιμώξεις, ενώ μπορεί σε ορισμένες λοιμώδεις καταστάσεις (νόσο Lyme, AIDS, σύφιλη και άλλες σπειροχαιτώσεις, διάφορες ιώσεις κ.λπ.) να προσδιορίζονται θετικά αCL, κυρίως IgM, σε χαμηλούς έως μέτριους τίτλους, συνήθως παροδικά (περίπου για 6 εβδομάδες), λόγω διασταυρούμενης αντίδρασης των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης των βακτηρίων, των παρασίτων, των ιών με την καρδιολιπίνη. Με την αποδρομή όμως της νόσου τα αντισώματα αυτά εξαφανίζονται.

Το ΑΦΣ (πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές) θεωρείται το πρώτο αυτοάνοσο θρομβοφιλικό σύνδρομο για το οποίο θεσπίστηκαν προκαταρκτικά διαγνωστικά κριτήρια (Sapporo, 1999) και

περιλαμβάνουν την παρουσία τουλάχιστον ενός κλινικού (θρόμβωση, εμβρυικός θάνατος > 10 εβδομάδα κύησης, πρόωρος τοκετός, τρεις ή περισσότερες επαναλαμβανόμενες αποβολές <10 εβδομάδα κύησης) και ενός εργαστηριακού (2 θετικές μετρήσεις σε διάστημα 12 εβδομάδων για LA ή/και aCL ή/και β2GPI) κριτηρίου.

Συμπεράσματα

Η αξία διενέργειας των ορολογικών εξετάσεων για την ανίχνευση των συστηματικών αυτοαντισωμάτων, είναι αναμφίβολα σημαντική στην καθημερινή κλινική πράξη σε επίπεδο αρχικής διάγνωσης νοσημάτων του συνδετικού ιστού, συστηματικής παρακολούθησης και ανταπόκρισης αυτών σε διάφορα θεραπευτικά σχήματα.

Η ραγδαία εξέλιξη της τεχνολογίας, η εφαρμογή νέας μεθοδολογίας στα Ανοσολογικά Εργαστήρια αλλά και η διαθεσιμότητα διαφόρων τεχνικών για την ανίχνευση του ίδιου δείκτη, έχει ως αποτέλεσμα μια συνεχόμενη αύξηση των παραγγελιών για προσδιορισμό τους, που μοιραία οδηγεί σε υπερβολική δαπάνη, η οποία εκτιμάται σε εκατοντάδες εκατομμύρια δολάρια σε όλο τον κόσμο. Αυτό οδήγησε λοιπόν στην ανάγκη εφαρμογής κατευθυντήριων οδηγιών, για τη διάγνωση και την παρακολούθηση των αυτοάνοσων νοσημάτων, από την EASI, μια ευρωπαϊκή πρωτοβουλία επιστημόνων για την κατάρτιση διαγνωστικού προτύπου στην προσέγγιση της αυτοανοσίας. Βέβαια, οι προτάσεις αυτές δεν αποτελούν τα μοναδικά πρωτόκολλα και δεν αποσκοπούν στην κατάργηση ή τον περιορισμό της κρίσης και της απόφασης του κλινικού ιατρού στην παρακολούθηση και στην θεραπευτική αντιμετώπιση του ασθενή, αλλά συστήνουν ένα κοινό τρόπο προσέγγισης αυτών των νοσημάτων.

Δεδομένου του κόστους διενέργειας του προσδιορισμού των εργαστηριακών αυτών εξετάσεων, ο οποίος πρέπει να συνυπολογίζεται με το κόστος νοσηλείας αλλά και την καθυστέρηση έναρξης κατάλληλης θεραπείας, οι εν λόγω εξετάσεις δεν θα πρέπει να παραγγέλλονται αλόγιστα και άσκοπα. Απαιτείται λοιπόν αφενός μεν να υπάρχει ένδειξη, όπως αυτή προκύπτει από την κλινική εικόνα και το ιστορικό του ασθενούς, αφετέρου επιβάλλεται και η στενή συνεργασία κλινικών και εργαστηριακών ιατρών, τόσο για την σωστή αξιολόγηση των εργαστηριακών ευρημάτων όσο και για τον τυχόν περαιτέρω διευκρινιστικό εργαστηριακό έλεγχο.

Ενδεικτική βιβλιογραφία

1. **Βλαχογιαννόπουλος Π**, Γουλές Δ, Μουτσόπουλος Χ, Συστηματικά Αυτοάνοσα Ρευματικά Νοσήματα, σε Παθολογία Σ.Α. Ράπτης, 2008: 1263-71
2. **Tan EM**. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 1989;44:93-151
3. **Kumar Y**, Bhatia A and Minz RW, Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited, *Diagnostic Pathology* 2009, 4:1
4. **Hamann D**, Smeenk R, Autoantibodies Shoenfeld Y, Gerschwin ME, Meroni PL 2nd Edition Elsevier 2007: 159-167
5. **Neuenkirchen N**, Chari A, Fischer U. Deciphering the assembly pathway of Sm-class U snRNPs. *FEBS Lett* 2008;582: 1997-2003
6. **Phan TG**, Ng WW, Bird D, Smithers K, Wong V, Gallagher K, et al. High-quality, cost-effective strategy for detection of autoantibodies to extractable nuclear antigens. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:471-4
7. **Tzioufas AG**, Kapsogeorgou EK, Haralampos M, Moutsopoulos HM Pathogenesis of Sjögren's syndrome: What we know and what we should learn *Journal of Autoimmunity* Vol39, 1–2, 2012: 4–8
8. **Targoff IN**, Myositis autoantibodies: Aminoacyl-tRNA synthetase, signal recognition particle, Mi-2, and PM-Scl autoantibodies in *Autoantibodies (Second Edition)* 2007, Pages 577–589
9. **Reveille JD**, Solomon DH, American College of Rheumatology, Ad Hoc Committee on Immunological Testing Guidelines Evidence-based guidelines for the use of immunologic laboratory tests: anti-centromere, Scl-70 and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum (AC&R) Arthritis Care & Research* 2003, 49; 3: 399–412
10. **Shoenfeld Y**, R. Cervera, M. Haass, et al, EASI The European Autoimmunity Standardisation Initiative: a new initiative that can contribute to agreed diagnostic models of diagnosing autoimmune disorders throughout Europe. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007, 1109 : 138–144
11. **Τσιρογιάννη Α**, Η σημασία και η αξιολόγηση της ανεύρεσης αυτοαντισωμάτων σε ασυμπτωματικά (υγιή) άτομα και συγγενείς πασχόντων. *Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής* 2007, 24(1):320-327
12. **P. G. de Groot**, J. C. M. Meijers, R. T. Urbanus. Recent developments in our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2012, 34, 223–231
13. **Allan S. Wiik**, Nicola Bizzaro. Missing links in high quality diagnostics of inflammatory systemic rheumatic diseases. It is all about the patient! *Autoimmun Highlights* 2012;3:35–49

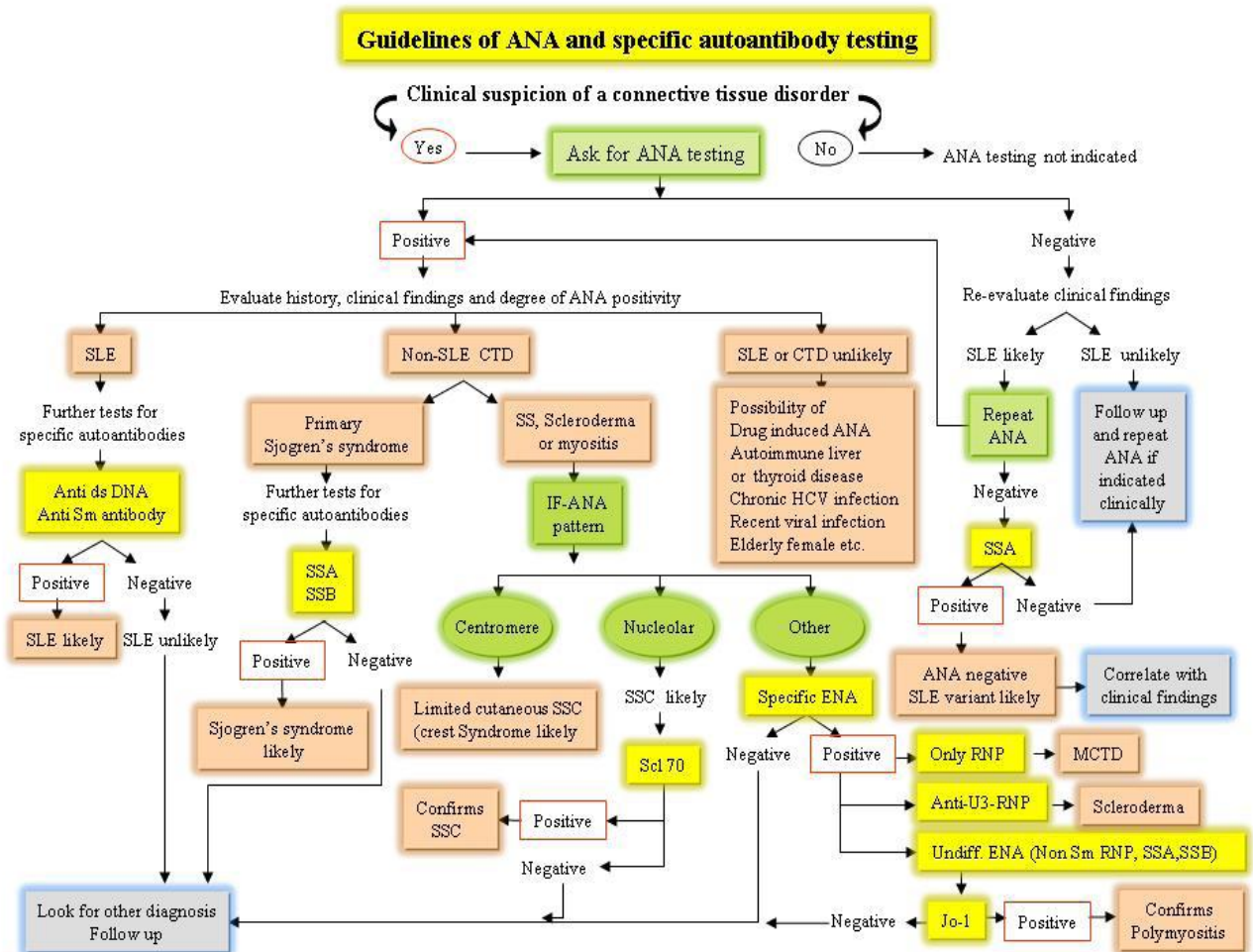
Αξιολόγηση κλασικών μεθόδων για την ανίχνευση των συστηματικών αυτοαντισωμάτων

τεχνική	πλεονεκτήματα	μειονεκτήματα	αποτέλεσμα
IIF Hep-2	φτηνή, εύκολη εφαρμογή, ευαισθησία & ειδικότητα	χρονοβόρα, υποκειμενική, εμπειρία	ημι-ποσοτική
διπλή ανοσοδιάχυση	φτηνή, ειδικότητα, άμεσος προσδιορισμός πολλών Abs	χαμηλή ευαισθησία, υποκειμενική, πρότυπο ορό	ποιοτική
αντίθετη ανοσοηλεκτροφόρηση	««-»»	««-»»	ποιοτική
παθητική αιμοσυγκόλληση	φτηνή, ειδικότητα	χρονοβόρα, ανιχνεύει μικρής συγγένειας Abs	ημι-ποσοτική
ανοσοαποτύπωση	ευαισθησία, υψηλή ειδικότητα, αυτοματοποίηση	ακριβή, ανίχνευση γραμμικών επιτόπων	ποιοτική
Farr Assay RIA	υψηλή ειδικότητα, ανίχνευση υψηλής συγγένειας Abs	ραδιενέργεια, δύσκολη, ακριβή, μη προσδιορισμός ιστύπων	ποσοτική
ELISA	αυτοματοποίηση, ευαισθησία, καθορισμός υποτάξεων Abs	ανίχνευση χαμηλής συγγένειας αντισωμάτων, ψευδώς θετικά	ποιοτική & ποσοτική

Αξιολόγηση νεότερων μεθόδων για την ανίχνευση των συστηματικών αυτοαντισωμάτων

τεχνική	πλεονεκτήματα	μειονεκτήματα
Luminex	ταυτόχρονη ανίχνευση Abs, αυτοματοποίηση	ακριβή, εμπειρία
κυτταρομετρία ροής	φτηνή, αυτοματοποίηση, υψηλή ευαισθησία	αδυναμία πολύπλεξης
μικροσυστοιχίες	υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, ταυτόχρονη ανίχνευση Abs, αυτοματοποίηση	όχι ευρεία χρήση, περιορισμένη εμπειρία

Αλγόριθμος εργαστηριακής προσέγγισης των συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων
 (Yashwant Kumar et al. *Diagnostic Pathology*, 2009; 4:1)



Αλγόριθμος στη διαγνωστική προσέγγιση του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου(ΑΦΣ)

