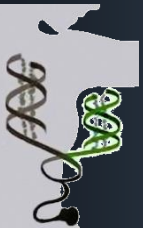




Εθνικό & Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αυτοαντισώματα

Ευσταθία Καψογεώργου



Παθολογική
Φυσιολογία
Ιατρική Σχολή

Αυτοαντισώματα

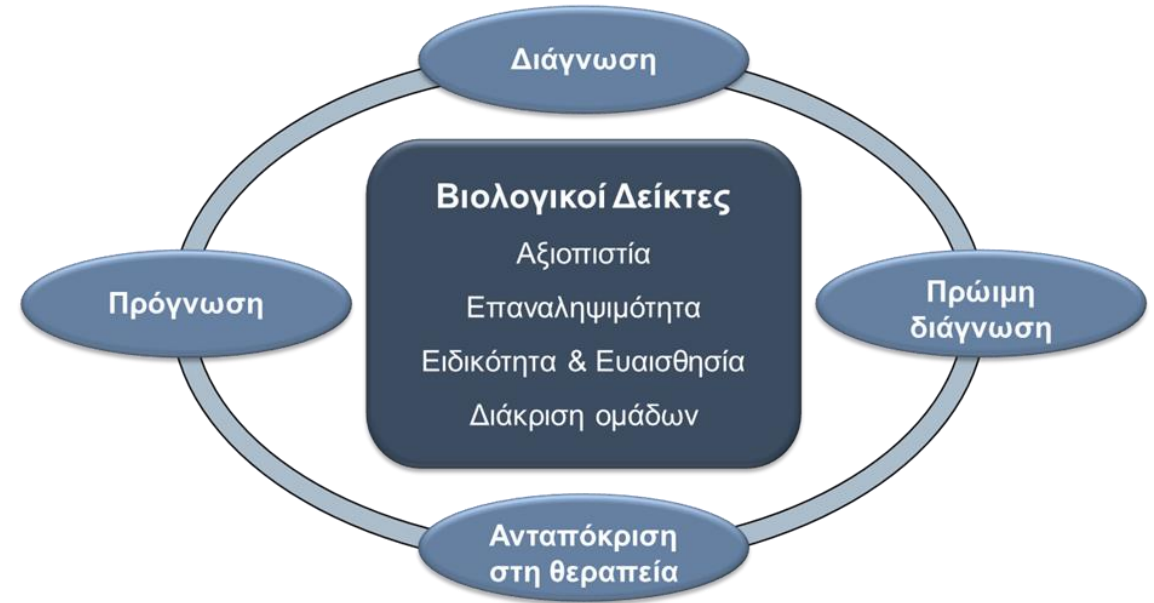
👉 Αντισώματα έναντι στοιχείων του «εαυτού»

Κυτταρική Εντόπιση	Ειδικότητα	
	Αντισώματα	Νόσος
Νουκλεόσωμα	dsDNA histones topoisomerase I	Συστημ. Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ) ΣΕΛ Συστηματικό σκληρόδερμα
Ματίσματοσωμα	Sm anti-U1snRNP	ΣΕΛ ΣΕΛ, Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού
Ριβονουκλεοπρωτεΐνες	Ro, La	ΣΕΛ, Σύνδρομο Sjögren
Κεντρομερίδιο	ACA	Περιορισμένο σκληρόδερμα
Ριβόσωμα/Συνθετάση των tRNA	Jo-1	Μυοσίτιδα
Μιτοχόνδρια	AMA	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση
Κυτταροσκελετό	Κερατίνη, Φιλαγκρίνη	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Μεμβράνη του κυττάρου	Καρδιολιπίνη, β2GPI, Υποδοχέας της ακετυλοχολίνης	Σ. αντι-φωσφολιπιδίων Βαρεία μυασθένεια

Αυτοαντισώματα

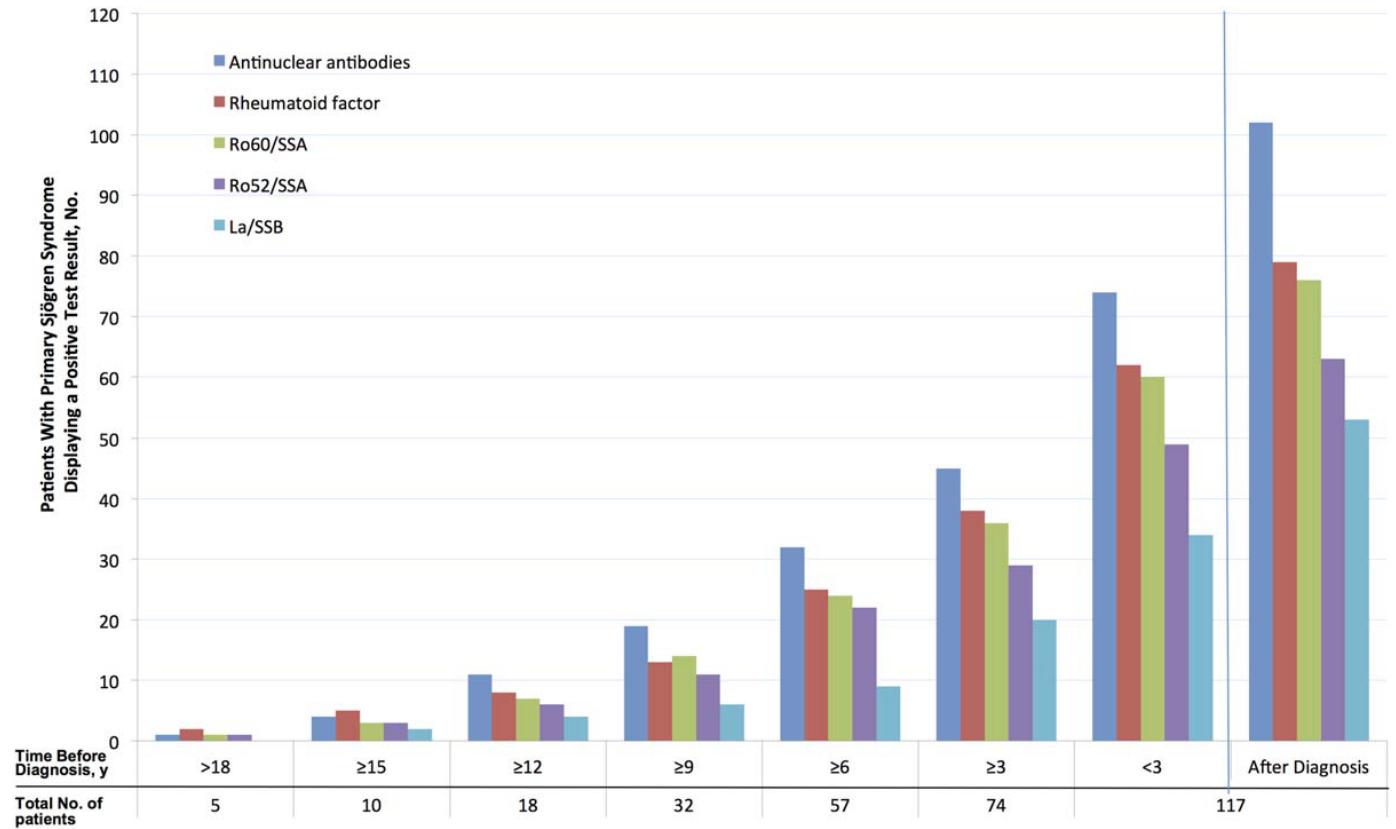
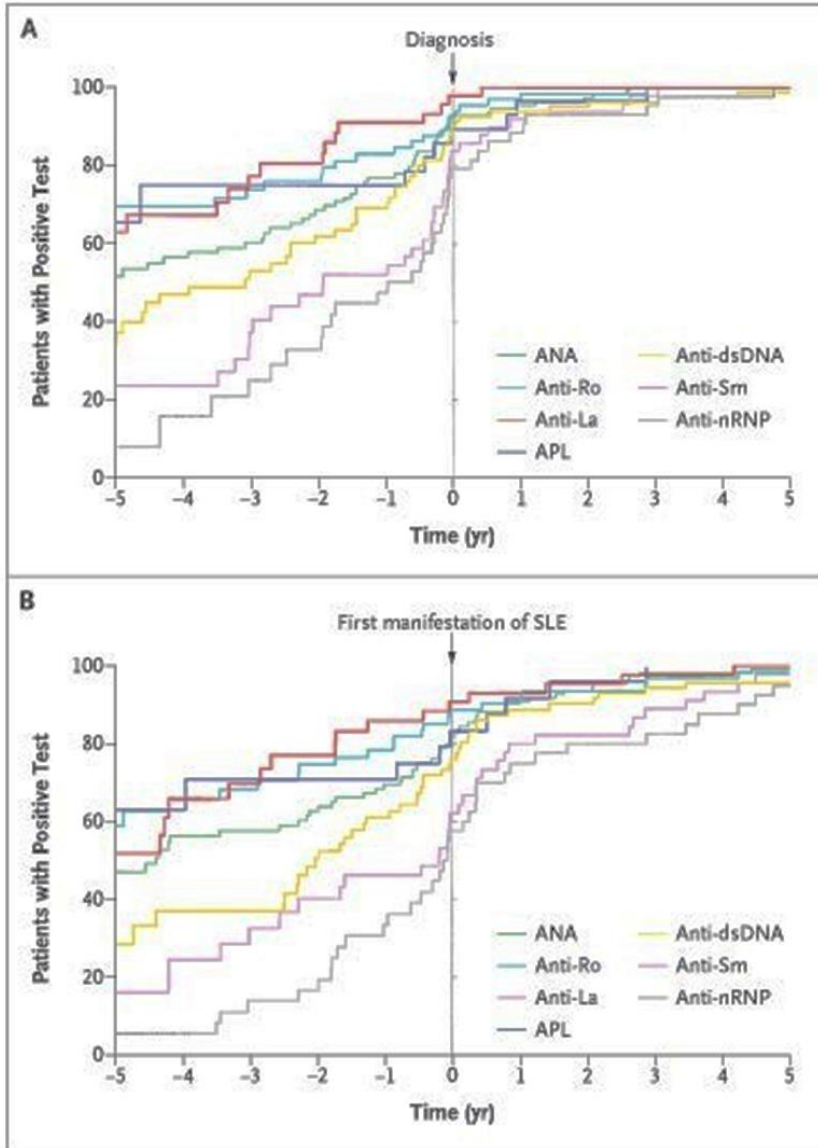
Κλινική σημασία

- 🧪 Πρόβλεψη ανάπτυξης / πρόγνωση νόσου
- 🧪 Διάγνωση / πρώιμη διάγνωση
 - ∞ διαγνωστικός δείκτης / κλινικές υποκατηγορίες
- 🧪 Θεραπευτική παρακολούθηση της νόσου



Συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα

Τα αυτοαντισώματα προϋπάρχουν της έναρξης της νόσου



Arbuckle et al., *N Engl J Med* 2003
Theander et al., *Arthritis Rheum* 2016

Συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα

Τα αυτοαντισώματα προϋπάρχουν της έναρξης της νόσου

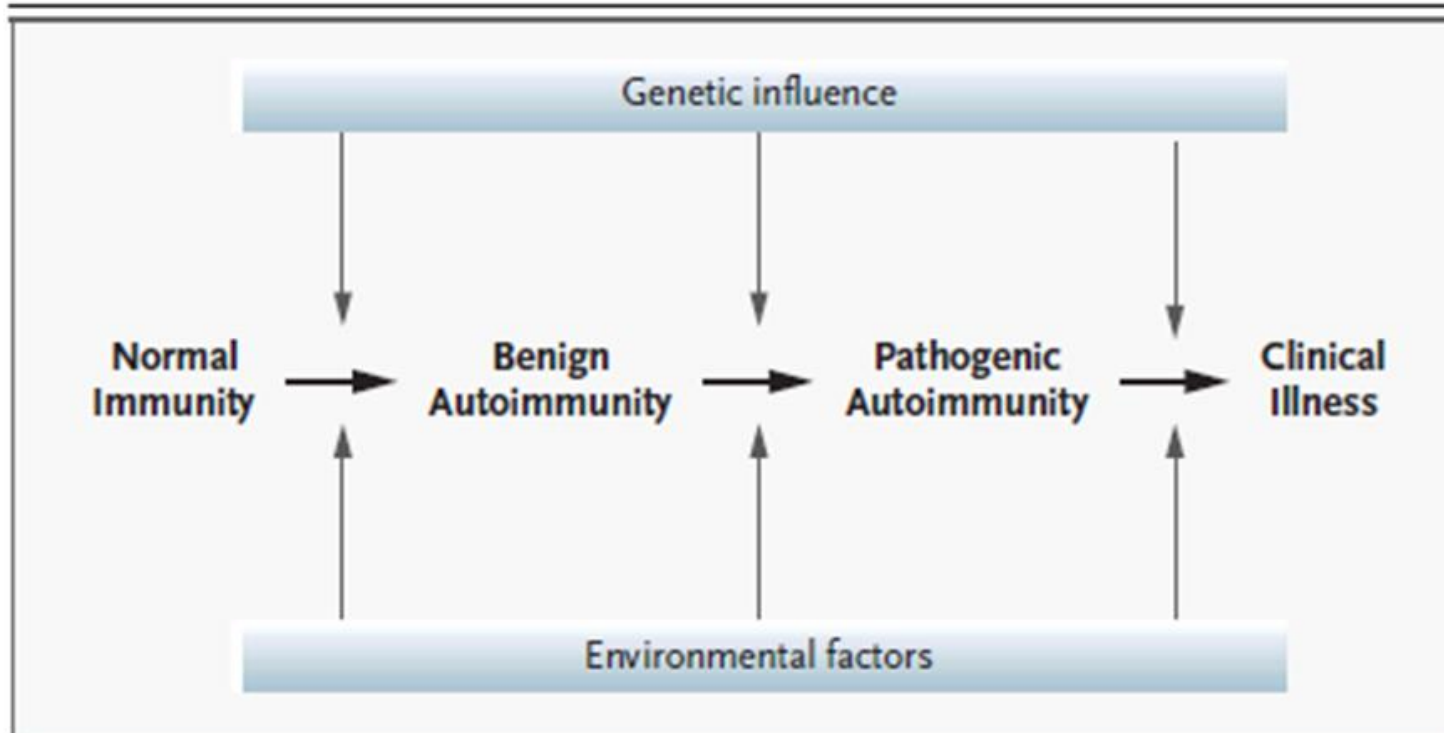


Figure 3. Phases in the Development of Pathogenic Autoimmunity.

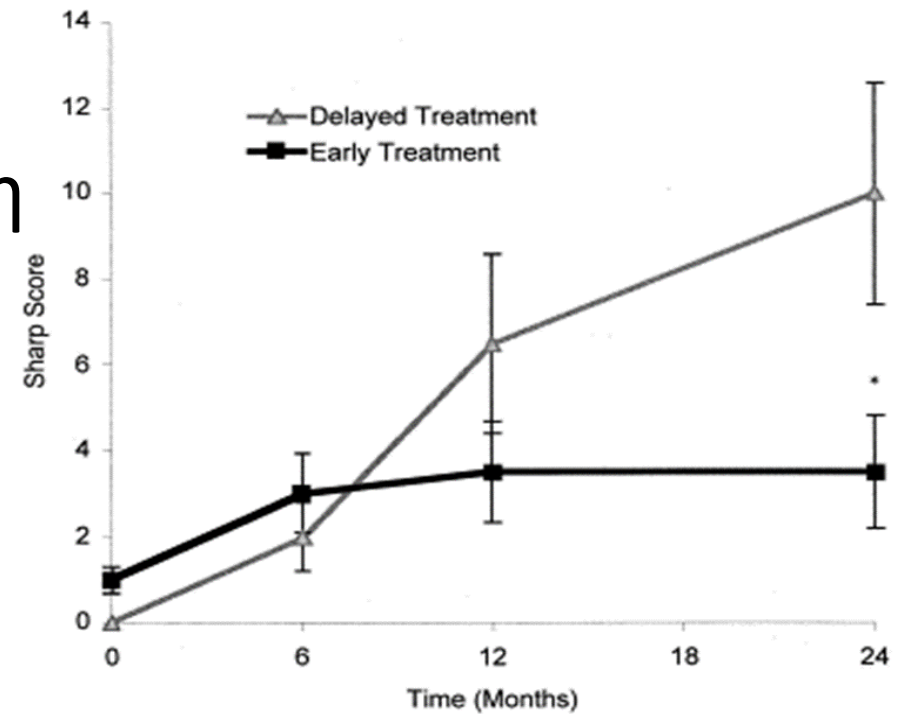
Normal immunity progresses to benign autoimmunity through the influence of genetic composition and environment. Later, benign autoimmunity progresses to pathogenic autoimmunity. Symptoms of clinical illness appear soon after pathogenic autoimmunity develops.

Αυτοαντισώματα

Κλινική σημασία στη πρόγνωση / διάγνωση

👉 Δείκτες πρώιμης διάγνωσης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας

∞ Ρευματοειδής παράγων + αυτοαντισώματα έναντι κυκλικών κιτρουλινοποιημένων πεπτιδίων (CCP)



Lard et al., Am J Med. 2001

	Specificity%
CCP ELISA	96
IgM-RF ELISA	91
CCP & RF	98

Kroot et al., Arthritis Rheum, 2000

Schellekens et al., Arthritis Rheum, 2000

Rantapaa-Dahlqvist et al., Arthritis Rheum, 2003

Saraux et al., J Rheumatol, 2003

Gender		reRA vs. non-reRA			Time to First Treatment
		REM/LDA (≤ 10)	MDA (>10, ≤22)	HDA (>22)	
Female	>2 years	10.6 (2.8; 44.3)	36.6 (18.4; 59.7)	51.8 (29.9; 72.9)	>2 years
	>1; ≤2 years	3.4 (0.8; 25.3)	15.2 (6.1; 33.3)	25.1 (11.2; 47.0)	>1; ≤2 years
	≤1 year	2.1 (0.5; 20.3)	10.8 (4.6; 23.3)	18.6 (9.0; 34.6)	≤1 year
Male	>2 years	3.1 (0.5; 33.0)	13.2 (3.5; 45.9)	22.1 (6.6; 60.6)	>2 years
	>1; ≤2 years	0.9 (0.1; 25.3)	4.6 (1.0; 24.9)	8.3 (2.0; 36.0)	>1; ≤2 years
	≤1 year	0.6 (0.1; 19.9)	3.0 (0.7; 18.4)	5.8 (1.5; 26.8)	≤1 year
		REM/LDA (≤ 10)	MDA (>10, ≤22)	HDA (>22)	
		Disease Activity (CDAI)			

Bécède et al., Seminars Arthritis Rheum, 2019

*Colour scheme: blue: 0–5%; green: 5.1–15%; orange: 15.1–25%; red: >25% predicted probability of reRA; results are estimated for patient presenting in the year 2010. REM, remission; LDA, low disease activity; MDA, moderate disease activity; HAD, high disease activity.

Fig. 1. Matrix risk model for the probability of reRA including all selected baseline risk factors.*

Αυτοαντισώματα-Κλινική σημασία

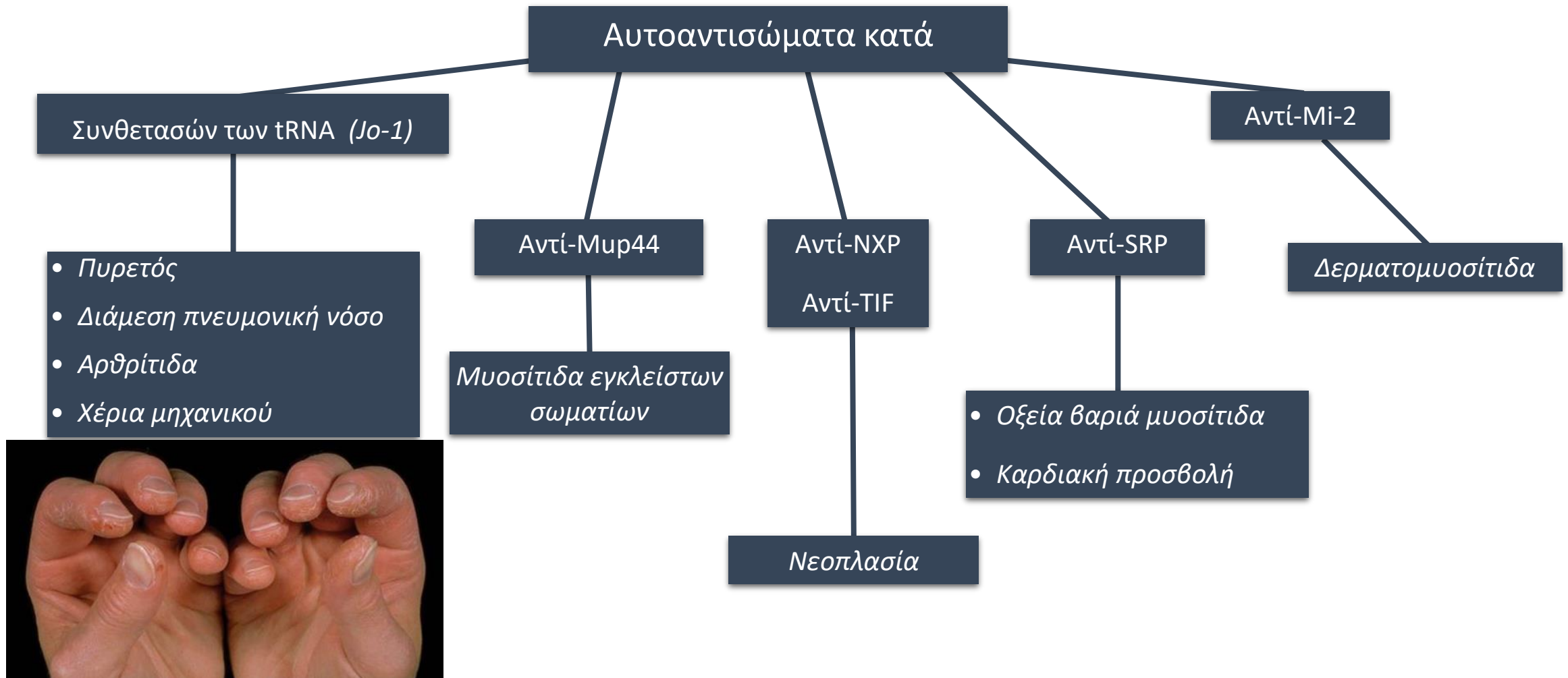
Διάκριση ασθενών

Table 21.1 Prevalence of autoantibodies in SS patients and associations with disease features

Autoantibodies against	Prevalence (%)	Clinical associations
Ro/SSA	33–74	Younger age at diagnosis
		Exocrine gland hypofunction
		Severe infiltration of salivary glands
La/SSB	23–52	Parotid gland enlargement
		Systemic extraglandular manifestations
		Hypergammaglobulinemia/cryoglobulinemia
		Neonatal lupus congenital heart block
Antinuclear antibodies (ANA)	59–85	Parotid gland enlargement
		Systemic extraglandular manifestations
		Hypergammaglobulinemia
Rheumatoid factor	36–74	Younger age at diagnosis
		Positive salivary gland biopsy
		Parotid gland enlargement
		Systemic extraglandular manifestations
		Articular involvement
Cryoglobulins	9–15	Lymphomagenesis
		Younger age at diagnosis
		Parotid gland enlargement
		Systemic extraglandular manifestations
		↓ C3/C4, monoclonal gammopathy
Centromere (ACA)	4–27	Overlap with systemic sclerosis
		Milder disease, with higher risk for lymphoma
Cyclic citrullinated peptides (anti-CCP)	3–10	Articular involvement
Mitochondria (AMA)	1.7–27	Primary biliary cirrhosis
Muscarinic 3 receptor	11	Sicca symptoms
Carbonic anhydrases	12.5–20.8	Renal tubular acidosis
Smooth muscle	30–62	Autoimmune hepatitis

Αυτοαντισώματα

Διάκριση κλινικών συνδρόμων



Αυτοαντισώματα

Κλινική σημασία

Table 1: Sensitivity and specificity of ANA and its clinically important subtypes [18,19]

Autoantibodies	Associated CTD	Sensitivity	Specificity
ANA	SLE	93	57
	Sjogren's syndrome	48	52
	SS	85	54
	PM/dermatomyositis	61	63
	Raynaud phenomena	64	41
<hr/>			
Specific ANA			
Anti-dsDNA	SLE	57	97
Anti-Sm	SLE	25–30	High*
Anti-SSA/Ro	Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome	8–70	87
Anti-SSB/La	Sjogren's syndrome, subacute cutaneous SLE, Neonatal lupus syndrome	16–40	94
Anti-U3-RNP	SS	12	96
Anticentromere	Limited cutaneous SS	65	99.9
Scl-70	SS	20	100
Jo-1	PM	30	95

* Precise data not available.

Αυτοαντισώματα

Κλινική σημασία

Αυτοαντίσωμα	Κλινική υποψία	Διάγνωση	Πρόγνωση σοβαρότητας	Παρακο- λούθηση
ANA		+	-	-
dsDNA	ΣΕΛ	+	+	+
Sm		+	+	-
PCNA		+	+	-
Καρδιολιπίνη, β2GPI		Σ. αντι-φωσφολιπιδίων	+	-
U1nRNP	Μικτή Νόσος Συνδ. Ιστού	+	+	-
tRNA συνθετάσες	Μυοσίτιδα	+	+	-
Τορο I (Scl-70)	Διάχυτο Σκληρόδερμα	+	+	-
Κεντρομερίδιο (ACA)	Περιορ. Σκληρόδερμα	+	+	-
Ro(SSA), La(SSB)	Σύνδρομο Sjögren	+	-	-
Ρευματ. Παράγων, CCP	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	+	+	-
Μιτοχονδριακά (AMA)	Πρωτοπ. χολ. κίρρωση	+	-	-

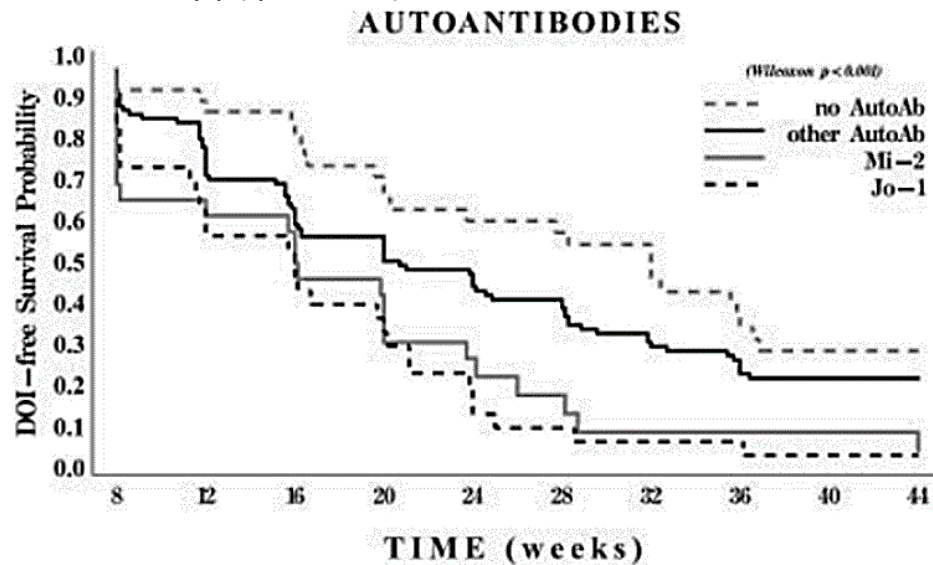
Αυτοαντισώματα

Σημασία στη θεραπευτική αντιμετώπιση

👉 Δερματομυοσίτιδα & πολυμυοσίτιδα

∞ Εξάλειψη των Β-κυττάρων

- Αυτοαντισώματα: Jo-1 (HR 3.6), Mi-2 (HR 2.5)
 - Σημαντική βελτίωση ($p=0.002$)
- Άλλα ή καθόλου αυτοαντισώματα
 - Πιο αργή βελτίωση



Aggarwal et al., Arthritis Rheum 2014

👉 ANCA(+) αγγειίτιδες

∞ Εξάλειψη των Β-κυττάρων συγκριτικά με την κυκλοφωσφαμίδη

- Παρόμοια ως θεραπεία εισαγωγής / καλύτερη σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα ασθένεια
- PR-3+, αλλά όχι MPO+, ασθενείς:
 - ↓ υποτροπές σε σχέση με κυκλοφωσφαμίδη/ αζαθειοπρίνη
- Αύξηση του τίτλου των PR-3-ANCA συσχετίζεται με επικείμενη υποτροπή

Miloslavsky et al., Arthritis Rheum 2013

Fussner et al., Arthritis Rheum 2020

ΠΡΟΣΟΧΗ!

👉 Κριτική αξιολόγηση των θετικών αποτελεσμάτων

∞ Μέθοδος ανίχνευσης

∞ Πάνελ αυτοαντισωμάτων που έχουν συσχετισθεί με συγκεκριμένα νοσήματα

- Δεν είναι όλα διαγνωστικά
- Δεν ανευρίσκονται μόνο στα συγκεκριμένα νοσήματα

Ανίχνευση αυτοαντισωμάτων

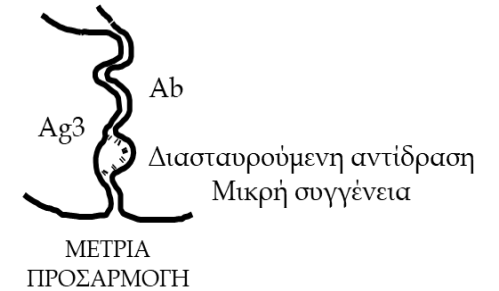
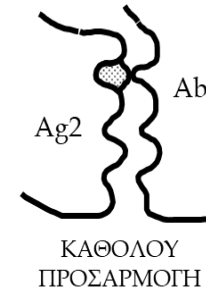
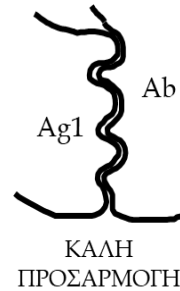
Ανοσολογικές τεχνικές

- ∞ Ανοσοδιάχυση
- ∞ Ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών
 - ανοσοκαθήλωση
 - ανοσοαποτύπωση
- ∞ Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός (ELISA)
- ∞ Ανοσοσυγκόλληση (agglutination)
- ∞ Ανοσοϊστοχημεία/ανοσοκυτταροχημεία
 - Χρωμογόνος αντίδραση
 - Φθορισμός (απλή ή συνεστιακή μικροσκοπία)
 - Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο
- ∞ Κυτταρομετρία ροής
- ∞ Λειτουργικές δοκιμασίες

Αλληλεπίδραση αντισωμάτων & αντιγόνων

∞ μη ομοιοπολικές δυνάμεις

- van der Waals, υδροφοβικές, υδρογόνου, ιονικές...



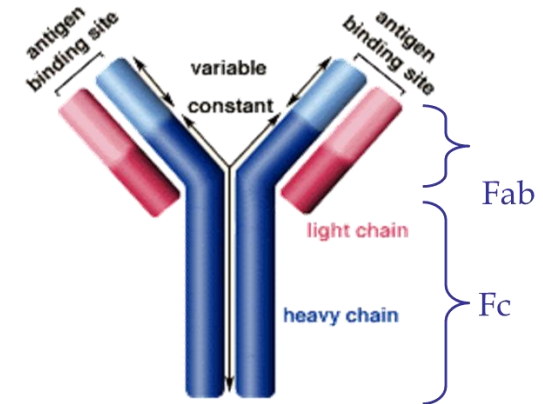
Αντισώματα

∞ Δομή

- ελαφριές & βαρείες αλυσίδες
- Fab & Fc τμήματα:
 - Fab: ειδικότητα / σύνδεση με αντιγόνο (Ag)
 - Fc: μη ειδικές λειτουργίες / σύνδεση με συμπλήρωμα, FcR

∞ Τάξεις:

- **IgM, IgG, IgD, IgA, IgE**

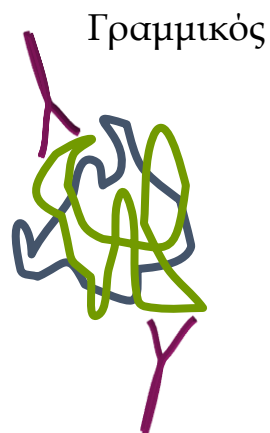


Παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη

🧪 Τα αντισώματα αναγνωρίζουν/συνδέονται σε

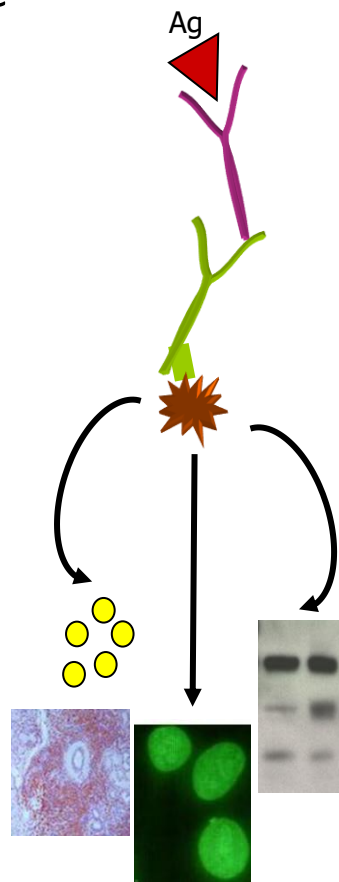
∞ Επίτοποι: ελάχιστη δομή στην οποία προσδένεται το αντίσωμα

- Διαμόρφωσης
- Γραμμικοί



🧪 Ετερογένεια αντισωμάτων και επιτόπων

∞ Κάθε αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο ένα επίτοπο



🧪 Χημική επεξεργασία

- ∞ Μονιμοποίηση κυττάρων/ιστών
- ∞ Αποδιάταξη πρωτεϊνών
- ∞ Δέσμευση αντιγόνου σε πλαστική επιφάνεια
 - Διαμόρφωσης
 - Γραμμικοί

🧪 Τύπος του αντιγόνου

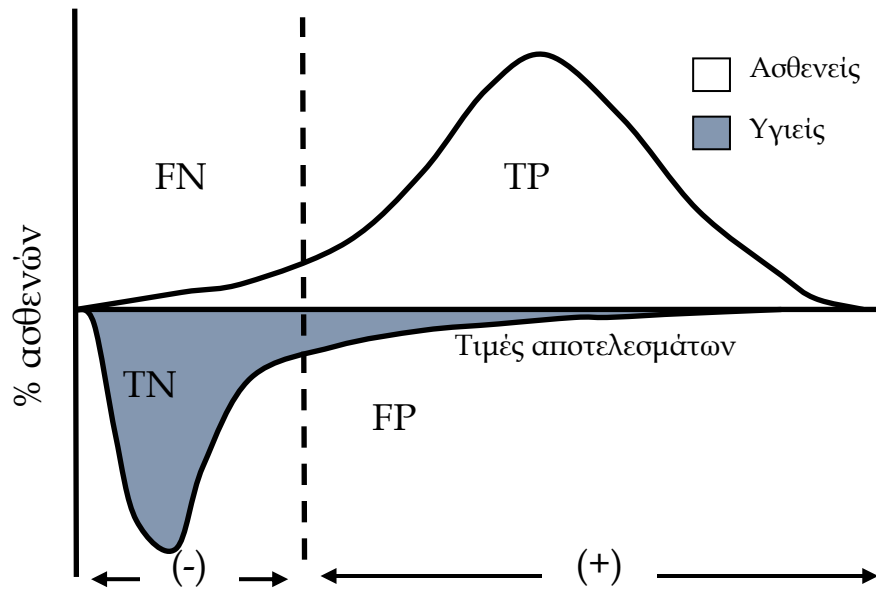
- ∞ αποδιατεταγμένη, ανασυνδυασμένη ή φυσική κεκαθαρμένη πρωτεΐνη
- ∞ πεπτίδια/άλλα μόρια
- ∞ φορτίο επιφανειών

🧪 Ευαισθησία της μεθόδου ανίχνευσης

- ∞ Χρωμογόνο, φθορισμός, χημειοφωταύγεια κλπ.

🧪 Κόστος

Επιλογή μεθόδου ανίχνευσης



👉 Ευαισθησία

∞ % **θετικών** ασθενών που ανευρίσκονται **θετικοί**

👉 Ειδικότητα

∞ % **αρνητικών** ασθενών που ανευρίσκονται **αρνητικοί**

👉 Αντίστροφη σχέση

∞ Ιδανική μέθοδος: ↑ ευαισθησία & ειδικότητα

- Ανεύρεση της βέλτιστης τιμής κατωφλίου (*cut-off value*)
- Σύγκριση με πρότυπη διαδικασία διάγνωσης (*Gold-Standard*)

Έμμεσος ανοσοφθορισμός

Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ANA)

🧪 Πλακίδια επιστρωμένα

∞ κύτταρα (HEp2 κύτταρα, ουδετερόφιλα)

∞ Ιστό

🧪 Ποσοτικοποίηση

∞ Ημι-ποσοτική μέθοδος

∞ Θετικό: $\geq 1/160$

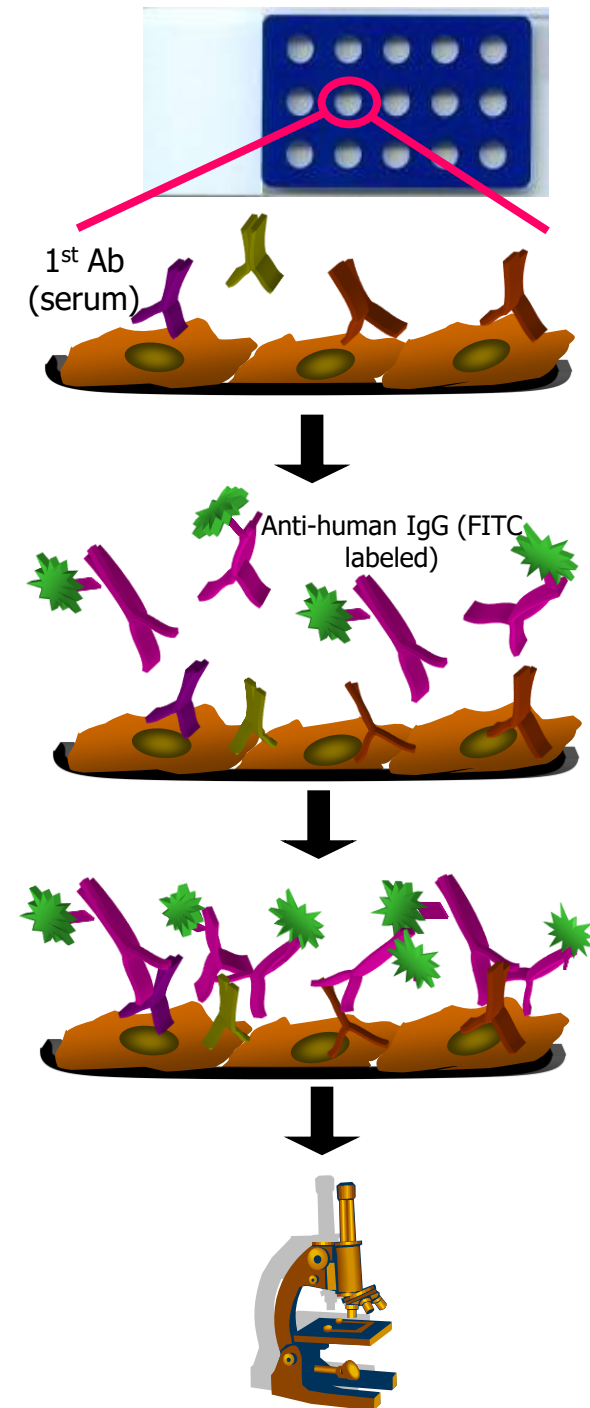
🧪 Χρησιμοποιείται ως:

∞ Δοκιμασία διαλογής (screening test)

🧪 Κύρια εφαρμογή

∞ Ανίχνευση αυτοαντισωμάτων

▪ ANA, ANCA



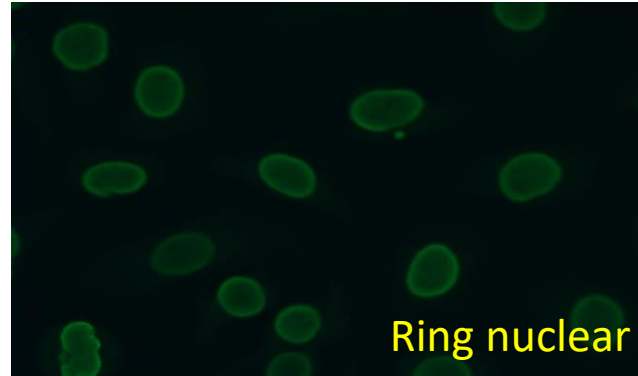
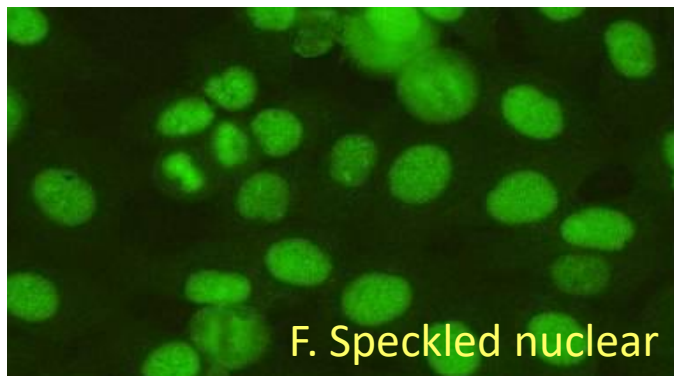
Έμμεσος ανοσοφθορισμός

Αντιπυρηνικά Αντισώματα (*Anti-nuclear antibodies, ANA*)

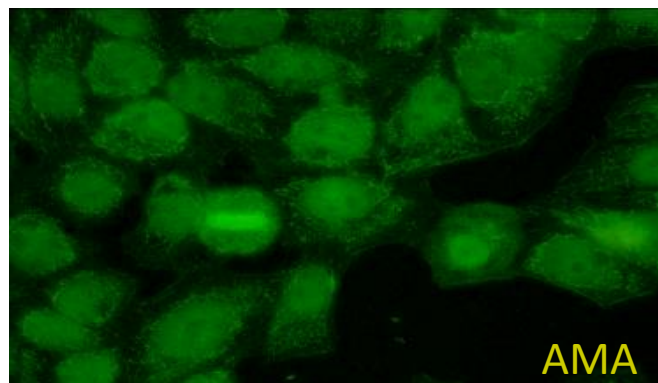
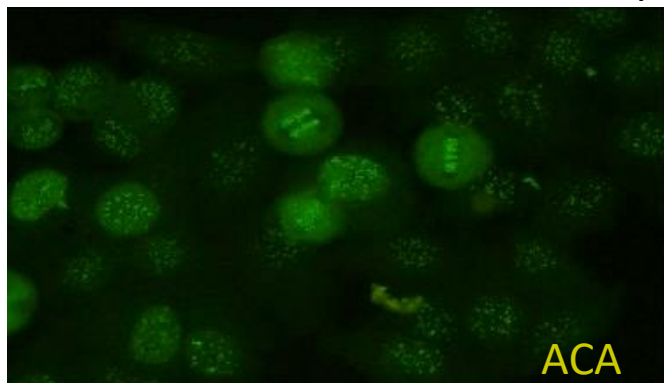
👉 International Consensus on Antinuclear Antibody (ANA) Patterns (ICAP, www.anapatterns.org)

∞ 15 πυρηνικά, 9 κυτταροπλασματικά, 5 μιτωτικά πρότυπα χρώσης

Non-Specific



Specific



Νόσημα	AMA	ACA
ΠΧΚ	+	-
Σκληρόδερμα	-	+
ΣΣ	+	+
ΡΑ	-	-

👉 Καθορισμός ειδικών αντιγόνων με άλλες μεθόδους

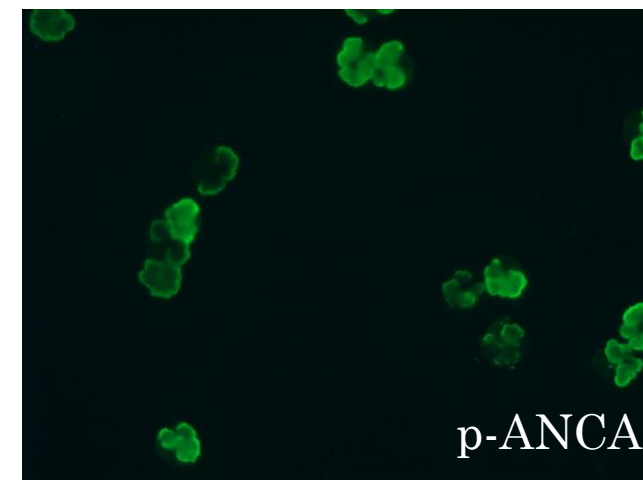
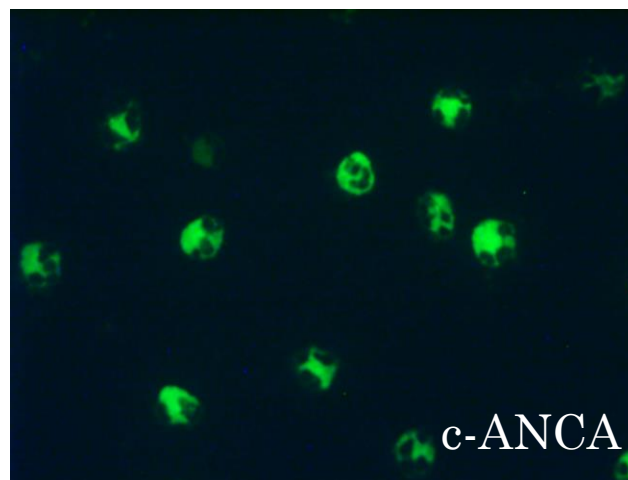
∞ Line blot, ELISA

Στόχοι αντιπυρηνικών αντισωμάτων (ANA)

Κυτταρική Εντόπιση	Ειδικότητα	
	Αντισώματα	Νόσος
Νουκλεόσωμα	dsDNA	Συστημ. Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)
	histones	ΣΕΛ
	topoisomerase I	Συστηματικό σκληρόδερμα
Ματισματόσωμα	Sm	ΣΕΛ
	anti-U1snRNP	ΣΕΛ, Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού
Ριβονουκλεοπρωτεΐνες	Ro, La	ΣΕΛ, Σύνδρομο Sjögren
Κεντρομερίδιο	ACA	Περιορισμένο σκληρόδερμα
Ριβόσωμα: Συνθετάση των tRNA	Jo-1	Μυοσίτιδα
Μιτοχόνδρια	AMA	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση

Αντισώματα έναντι κυτταροπλασματικών αντιγόνων ουδετεροφίλων (ANCA)

Τύπος	Αντιγόνο
c-ANCA:	Πρωτεΐνωση 3 (PR3)
p-ANCA:	Μυελοϋπεροξειδάση (MPO)
ANCA: (άτυπα ή p- ή c-)	Ελαστάση των λευκοκυττάρων Λακτοφερρίνη Καθεψίνη G BPI (<i>bactericidal/permeability increasing protein</i>)



ANCA+ αγγειίτιδες	Τύπος ANCA	Ποσοστό %
Κοκκιωμάτωση με πολυαγγειίτιδα	c-ANCA	90
Μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα	p-ANCA	70
Ηωσινοφιλική κοκκιωμάτωση με πολυαγγειίτιδα	c- ή p-ANCA	50

Άλλες αυτοάνοσες νόσους

- ∞ Ρευματοειδής αρθρίτιδα: 30%
 - Σύνδρομο Felty: 90%
- ∞ Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος: 10–20%
- ∞ Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου
 - Ελκώδης κολίτιδα: 50-70% / Νόσος του Crohn: 10–30%
- ∞ Αυτοάνοση ηπατίτιδα τύπου I: 90%

Λοιμώξεις/ Φάρμακα

Αυτοαντισώματα - ANCA

Ειδικότητα

👉 Ειδικό αντιγόνο → επιβεβαίωση με πιο ειδική μέθοδο (ELISA)

Autoimmune Diseases		Antigens Recognized by P-ANCA Positive Sera (No Positive)					
		MPO	Elastase	Cathepsin G	BPI	Lactoferrin	MPO/Lactoferrin
Vasculitides	MPA (<i>n</i> = 18)	11	0	0	0	0	0
	BD (<i>n</i> = 2)	1	0	0	0	0	0
	Aortitis (<i>n</i> = 1)	0	0	0	0	0	0
	HSP (<i>n</i> = 2)	0	0	0	0	0	0
	CV (<i>n</i> = 1)	0	0	0	0	1/1 (100)	0
SLE (<i>n</i> = 28)	1	0	0	0	1/28 (3.6)	1/28 (3.6)	
APS (<i>n</i> = 5)	1	0	0	0	0	0	
SS (<i>n</i> = 7)	0	1	0	0	0	0	
RA (<i>n</i> = 3)	1	0	0	0	0	0	
SSCL (<i>n</i> = 2)	1	0	0	0	0	0	
Sarcoidosis (<i>n</i> = 1)	0	0	0	0	0	0	
Hashimoto (<i>n</i> = 13)	0	0	0	0	0	0	

P-ANCA: perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, MPO: myeloperoxidase, BPI: bactericidal/permeability-increasing protein, MPA: microscopic polyangiitis, BD: Behçet's disease, HSP: Henoch-Schonlein purpura, CV: cryoglobulinemic vasculitis, SLE: systemic lupus erythematosus, APS: antiphospholipid syndrome, SS: Sjögren's syndrome, RA: rheumatoid arthritis, SSCL: systemic sclerosis. Positive values are highlighted by bold type letters.

Patient Groups		P-ANCA Serum Titers (No Positive)					
		≥1:640	1:320	1:160	1:80	1:40	1:20
Vasculitides	MPA (<i>n</i> = 18)	9	5	1	1	1	1
	BD (<i>n</i> = 2)	1	1	0	0	0	0
	Aortitis (<i>n</i> = 1)	1	0	0	0	0	0
	HSP (<i>n</i> = 2)	0	0	1	1	0	0
	CV (<i>n</i> = 1)	0	1	0	0	0	0
SLE (<i>n</i> = 28)	9	6	3	7	23	0	
APS (<i>n</i> = 5)	1	1	1	1	0	1	
SS (<i>n</i> = 7)	5	0	0	0	0	2	
RA (<i>n</i> = 3)	2	0	0	1	0	0	
SSCL (<i>n</i> = 1)	0	1	0	0	0	0	
Sarcoidosis (<i>n</i> = 1)	0	0	1	0	0	0	
Hashimoto (<i>n</i> = 13)	2	1	4	2	1	3	

P-ANCA: perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, MPA: microscopic polyangiitis, BD: Behçet's disease, HSP: Henoch-Schonlein purpura, CV: cryoglobulinemic vasculitis, SLE: systemic lupus erythematosus, APS: antiphospholipid syndrome, SS: Sjögren's syndrome, RA: rheumatoid arthritis, SSCL: systemic sclerosis.

Ανοσοαποτύπωση (Line blot)

Εκχυλιζόμενα πυρηνικά αντισώματα (*Extractable Nuclear Antigens; ENAs*)

Αυτοαντίσωμα	Κλινική υποψία
Ro(SSA), La(SSB)	Σύνδρομο Sjögren, ΣΕΛ
Sm	ΣΕΛ
U1nRNP	Μικτή Νόσος Συνδ. Ιστού
tRNA συνθετάσες (Jo-1)	Μυοσίτιδα
Topo I (Scl-70)	Διάχυτο Σκληρόδερμα



🧪 Πλεονεκτήματα

∞ Εμπορικά διαθέσιμες μεμβράνες (Line blots)

- **Κεκαθαρμένες** ή ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες
- Μείωση του χρόνου - επαναληψιμότητα
- Ευρεία χρήση σε διαγνωστικά εργαστήρια
 - HIV, HCV, αυτοαντισώματα

🧪 Μέθοδος εκλογής: αντισώματα έναντι εκχυλιζόμενων πυρηνικών αντιγόνων (ENAs)

∞ Ro, La, Sm, U1nRNP, Scl70, Jo1,...

∞ πλειάδα αντισωμάτων που χαρακτηρίζουν κλινικές οντότητες

- σκληρόδερμα, μυοσίτιδες, αυτοάνοση ηπατίτιδα κλπ

Ανοσοαποτύπωση (Line blot)

Εκχυλιζόμενα πυρηνικά αντισώματα (*Extractable Nuclear Antigens; ENAs*)

👉 Πολλαπλά αντιγόνα ANA

∞ **nucleosomes, dsDNA**, histones, SSA, Ro52, SSB, RNP, Sm, Mi-2α, Mi-2β, Ku, CENP A, CENP B, Sp100, PML, Scl70, PM-Scl100, PM-Scl75, RP11, RP155, gp210, PCNA, DFS70

👉 Αυτοαντιγόνα φλεγμονωδών μυοπαθειών/ μυοσίτιδων

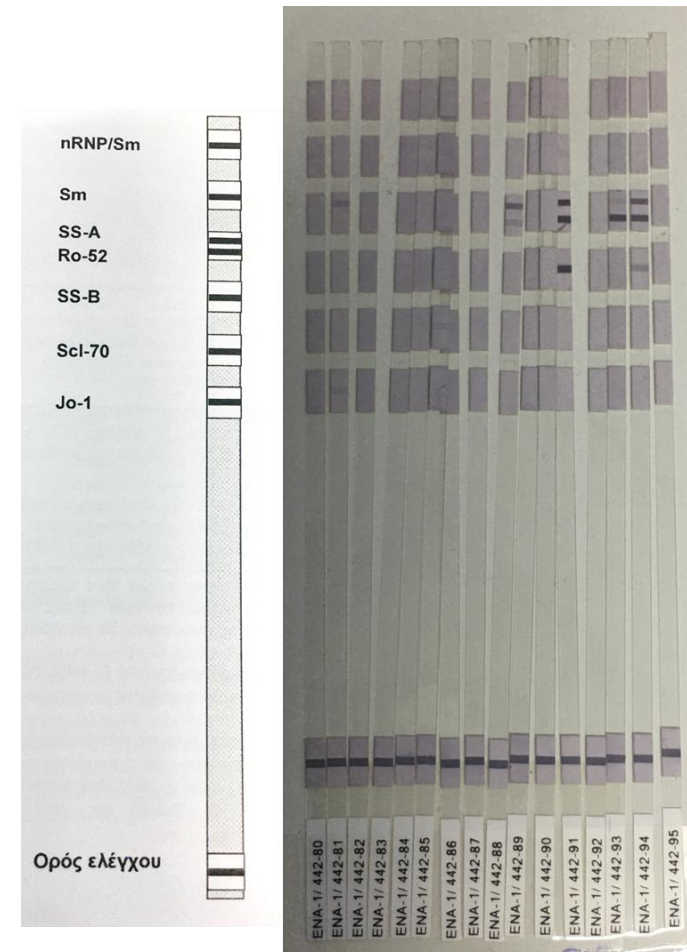
∞ Mi-2α, Mi-2β, TIF1g, MDA5, NXP2, SAE1, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ, Ro52

👉 Αυτοαντιγόνα του συστηματικού σκληροδέρματος

∞ Scl70, CENP A, CENP B, RP11, RP155, fibrillarin, NOR90, Th/To, PM-Scl100, PM-Scl75, Ku, PDGFR, Ro52

👉 Αυτοαντιγόνα των αυτοάνοσων ηπατικών νόσων

∞ AMA-M2, M2-3E, Sp100, PML, gp210, LKM-1, LC-1, SLA/LP, SSA, Ro52, Scl70, CENP A, CENP B, PGDH



Εκχυλιζόμενα πυρηνικά αντισώματα (ENAs)

Σύγκριση μεθόδων ανίχνευσης

🧪 dsDNA: ELISA, ENAs: Line blot

Table 1 Cohen's kappa-test comparison among four methods for ANAs detection

Autoantibody*	Observed agreements (%)	Kappa value†	95% CI	Level of agreement‡
Comparison of ELISA versus ANA-LIA Maxx				
dsDNA	68.57	0.427	0.285 to 0.568	Weak
Ro	91.11	0.833	0.730 to 0.937	Strong
La	93.15	0.688	0.448 to 0.928	Moderate
Sm	81.43	0.476	0.238 to 0.713	Weak
RNP	69.57	0.379	0.193 to 0.565	Minimal
Comparison of ELISA versus ANA-Profile 23				
dsDNA	57.78	0.150	-0.040 to 0.340	None
Ro	86.67	0.740	0.606 to 0.873	Moderate
La	88.89	0.621	0.420 to 0.821	Moderate
Sm	92.22	0.500	0.189 to 0.811	Weak
RNP	82.02	0.489	0.294 to 0.684	Weak
Comparison of ELISA versus ImmcoStripe ANA Advanced LIA				
dsDNA	56.67	0.196	0.019 to 0.372	None
Ro	70.00	0.412	0.230 to 0.593	Weak
La	78.89	0.495	0.310 to 0.679	Weak
Sm	88.89	0.589	0.368 to 0.810	Weak
RNP	51.11	0.153	-0.001 to 0.307	None

Comparison of ANA-LIA Maxx versus ANA-Profile 23

dsDNA	61.11	0.222	0.042 to 0.402	Minimal
Ro	83.33	0.696	0.567 to 0.827	Moderate
La	83.33	0.508	0.313 to 0.703	Weak
Sm	82.22	0.279	0.050 to 0.508	Minimal
RNP	78.89	0.323	0.098 to 0.548	Minimal
Nucleosome	77.78	0.138	-0.092 to 0.368	None
Histone	84.44	0.197	-0.051 to 0.445	None
Mi-2	83.33	0.051	-0.166 to 0.2.68	None
Comparison of ANA-LIA Maxx versus ImmcoStripe ANA Advanced LIA				
dsDNA	60.00	0.280	0.121 to 0.439	Minimal
Ro	66.67	0.377	0.207 to 0.546	Minimal
La	74.44	0.431	0.254 to 0.607	Weak
Sm	81.11	0.441	0.225 to 0.695	Weak
RNP	50.00	0.177	0.054 to 0.30	None
Nucleosome	33.33	0.060	-0.002 to 0.122	None
Histone	68.89	0.275	0.122 to 0.427	Minimal
Mi-2	70.00	0.140	-0.021 to 0.30	None
Comparison of Ana-Profile23 versus ImmcoStripe ANA Advanced LIA				
dsDNA	53.33	0.160	-0.012 to 0.33	None
Ro	70.00	0.430	0.260 to 0.601	Weak
La	76.67	0.403	0.224 to 0.583	Weak
Sm	83.33	0.296	0.058 to 0.534	Minimal
RNP	38.99	0.000	-0.089 to 0.089	None
Nucleosome	33.33	0.025	-0.057 to 0.107	None
Histone	63.33	0.097	-0.031 to 0.225	None
Mi-2	63.33	0.030	-0.150 to 0.089	None

Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός (*Enzyme Linked Immunoabsorbance Assay, ELISA*)

🧪 Πλεονεκτήματα

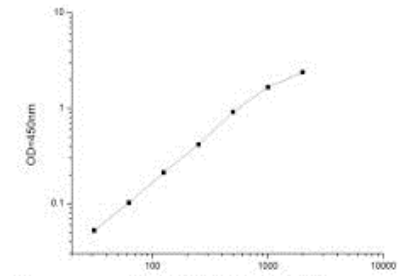
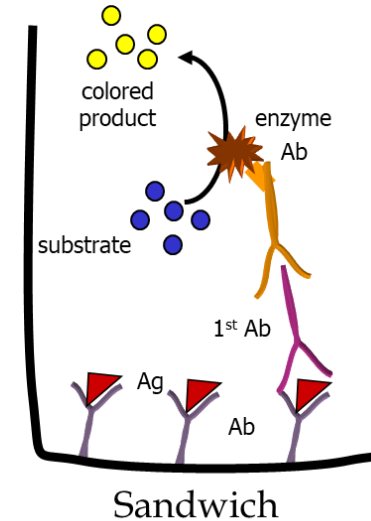
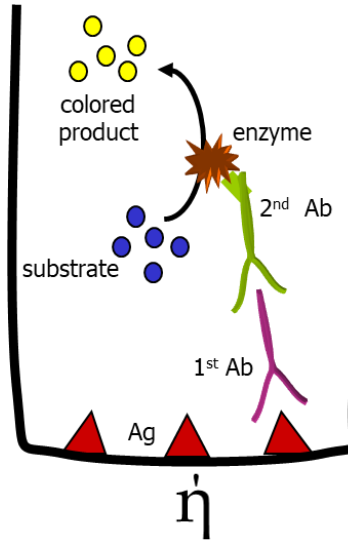
- ∞ Υψηλή ευαισθησία
- ∞ Ποσοτική
- ∞ Απλή / ταυτόχρονη εξέταση ↑ αριθμού δειγμάτων
- ∞ Χαμηλό κόστος

🧪 Μειονεκτήματα

- ∞ ↓ ειδικότητα

🧪 Μέθοδος εκλογής

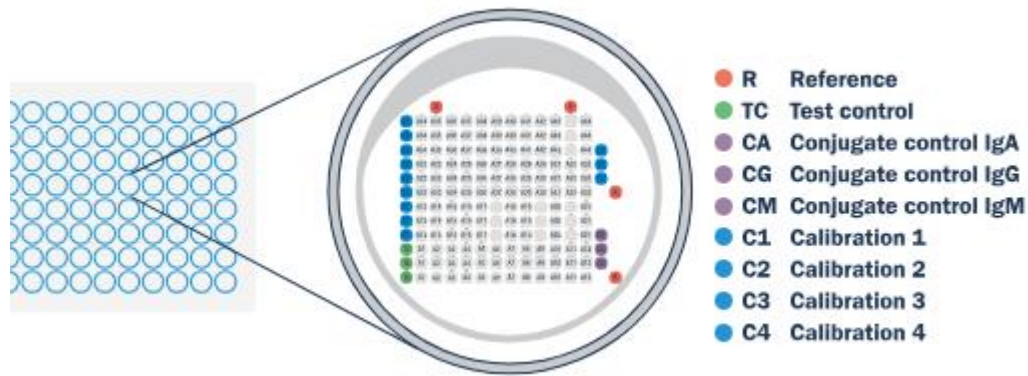
- ∞ dsDNA, φωσφολιπίδια (καρδιολιπίνη, β2GPI), CCP, ειδικότητα ANCA



Antigens
Jo-1
PL-7
PL-12
EJ
OJ
KS
YARS
ZoA
ZoB
HMGCR
SAE-1
SAE-2
SRP54
Mi-2
TIF1y
MDA5
NXP2
PMScI 100
PMScI 75
M2
DFS70
ScI70
CENP A
CENP B
POLR3A
NOR90
Th/To
PDGFR-β
Fibrillarin
Ro52
Ro60
La
PCNA
P0
SmB
SmD
Nucleolin
Nucleosome
Histone
RNP A
RNP 68
RNP C
Ku
dsDNA

Multiplex Arrays (Microblot Array ANA plus, 45 Ags)

Εκχυλιζόμενα πυρηνικά αντισώματα - ANA

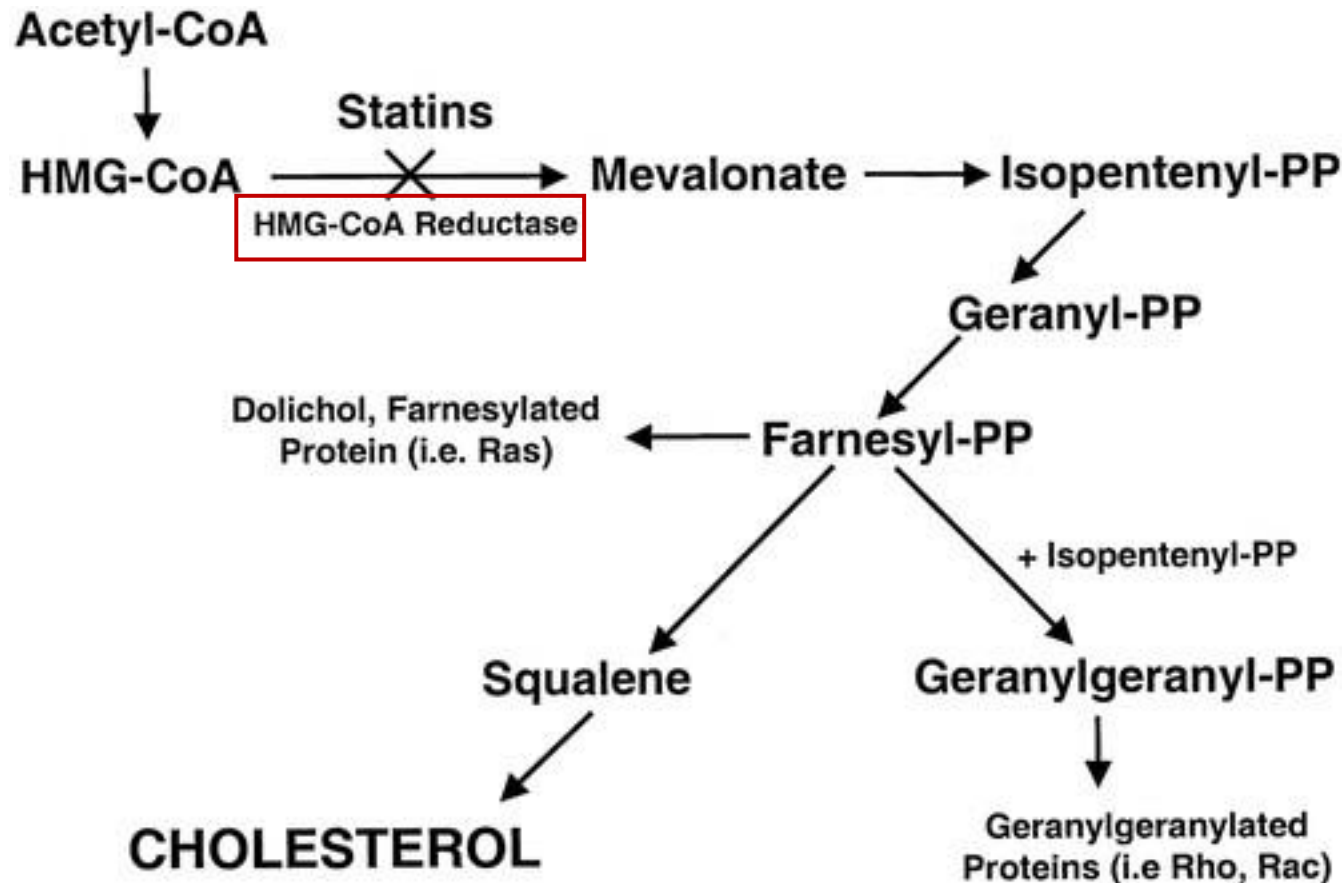


Sample	Comparison
1	Agreement
2	Agreement
3	No agreement
4	No agreement (none of IB,+RNP-A)
5	No agreement (La. RP155)
6	No agreement (histones)
7	No agreement
8	No agreement (Ro52-, Ku+ borderline, Histones+, Nucleosomes+ in IB)
9	No agreement (RNP-, Mi-2a+borderline in IB)
10	No agreement (La+ strong in IB)
11	No agreement (Mi-2a+borderline in IB)
12	No agreement
13	No agreement
14	No agreement (Sm/RNP+, PM100, Mi-2a+borderline in IB)
15	No agreement
16	No agreement
17	No agreement (Sm- in IB)
18	No agreement
19	No agreement
20	No agreement
21	No agreement w ELISA, Agreement w IB
22	No agreement
23	No agreement
24	Agreement
25	Agreement
26	Agreement
27	Agreement w IF pattern, not tested in IB
28	Agreement
29	Agreement
30	Agreement
31	Agreement

Αυτοαντισώματα σε ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις μυοσίτιδες

Αντί-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR)

- 🧪 Νεκρωτική μυοσίτιδα συσχετιζόμενη με στατίνες



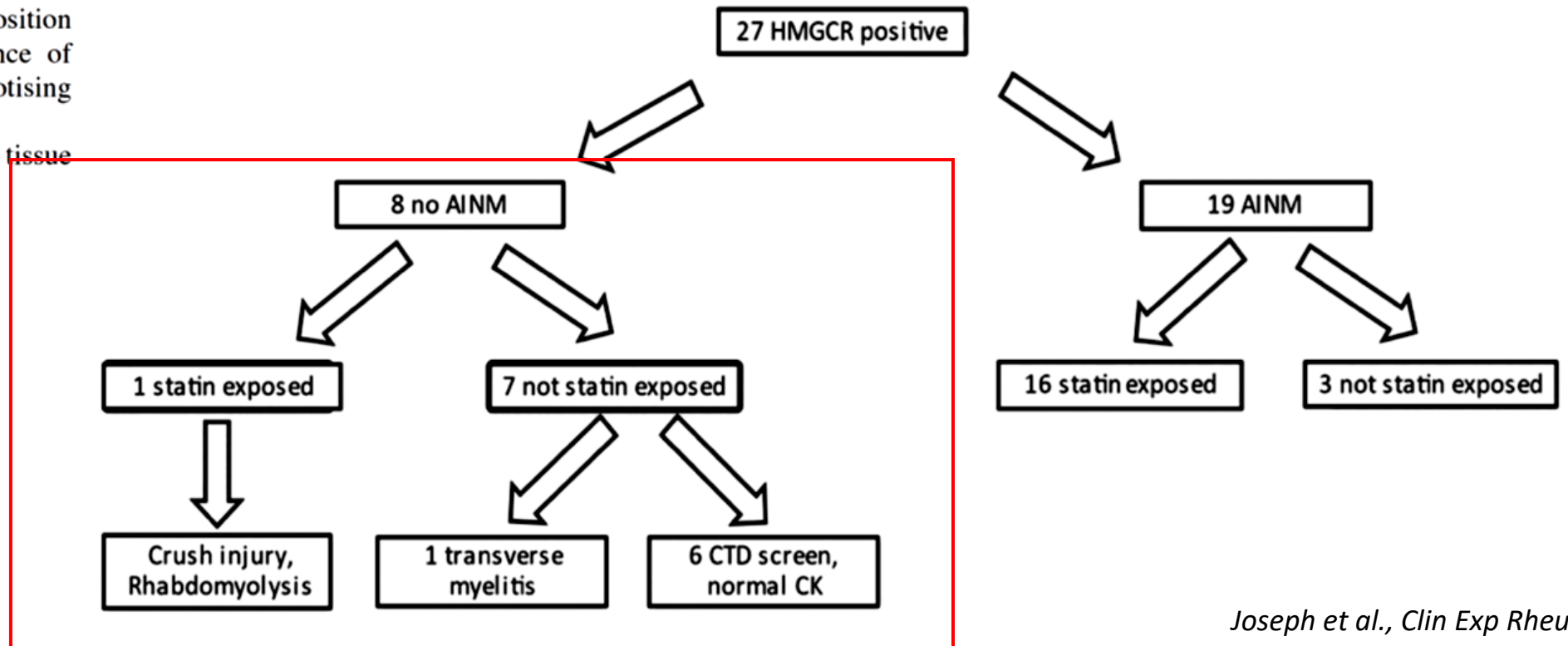
Αυτοαντισώματα σε ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις μυοσίτιδες

Αντί-3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR)

3 περιοχές του Λονδίνου (δείγματα από $5,5 \times 10^6$ πληθυσμό)-2019

∞ 27 θετικά

Fig. 1. Patient disposition according to presence of auto-immune necrotising myopathy (AINM).
CTD: connective tissue disease
CK: creatine kinase



Αυτοαντισώματα

Μέθοδος ανίχνευσης

Αυτοαντίσωμα	Κλινική υποψία	Μέθοδος ανίχνευσης
ANA	ΣΕΛ	IIF
dsDNA		ELISA
Sm		LB
PCNA		LB
Καρδιολιπίνη, β2GPI	Σ. αντι-φωσφολιπιδίων	ELISA
U1nRNP	Μικτή Νόσος Συνδ. Ιστού	LB
tRNA συνθετάσες	Μυοσίτιδα	LB
Topo I (Scl-70)	Διάχυτο Σκληρόδερμα	LB
Κεντρομερίδιο (ACA)	Περιορ. Σκληρόδερμα	IIF/LB
Ro(SSA), La(SSB)	Σύνδρομο Sjögren	LB
ANCA	Αγγειίτιδες	IIF/ELISA
Ρευματοειδής Παράγων	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	Agglutination
CCP	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	ELISA
Μιτοχονδριακά (AMA)	Πρωτοπ. χολ. κίρρωση	IIF, LB

Κρυοσφαιρίνες

🧊 Ανοσοσφαιρίνες που καθιζάνουν στο κρύο

- IgM, IgG, σπάνια IgA
- ∞ η θερμοκρασία καθίζησης εξαρτάται από τη συγκέντρωσή τους
- Συνήθως 0-10 °C
- ∞ η καθίζηση είναι αναστρέψιμη με την αύξηση της θερμοκρασίας

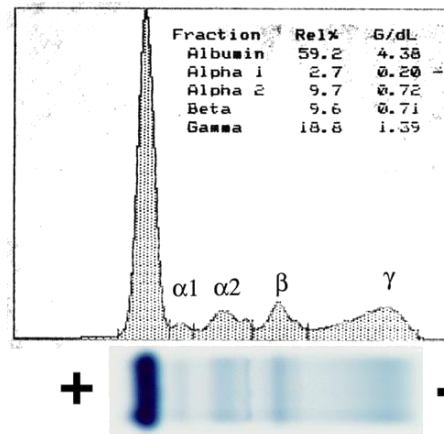
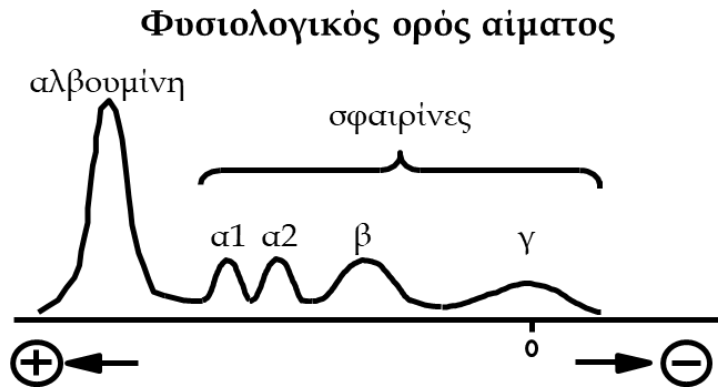
🧊 Απομόνωση - Ανάλυση

- ∞ Μεταφορά & διατήρηση του αίματος μέχρι την απομόνωση του ορού στους 37°C
- παλάμη ή ζεστό νερό
- ∞ Διατήρηση στους 4-10°C (ψυγείο) για 7 ημέρες
- ∞ Μακροσκοπική εξέταση καθίζησης ιζήματος
- ∞ Καθαρισμός του ιζήματος από πρωτεΐνες του ορού (4°C)
- ∞ Επαναδιάλυση του ιζήματος & ποσοτικοποίηση
- ∞ Ανάλυση του τύπου των ανοσοσφαιρινών με ηλεκτροφόρηση & ανοσοκαθήλωση



Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών Ορού Αίματος

Ηλεκτροφόρηση μίας διάστασης



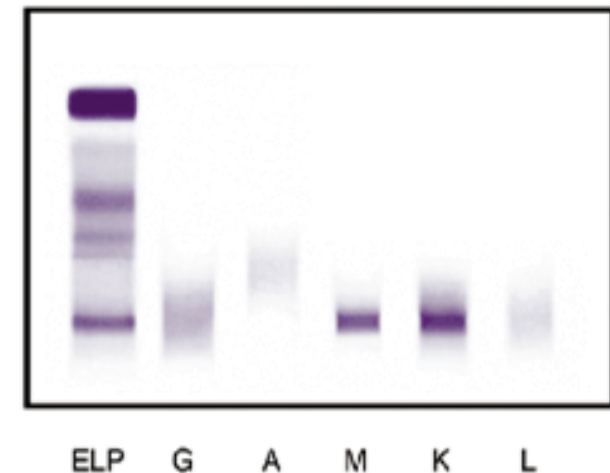
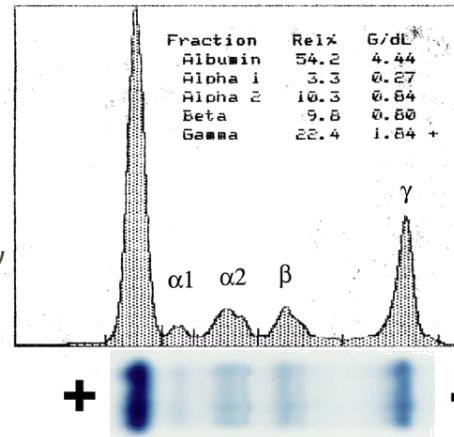
Ηλεκτροφόρηση /Ανοσοκαθήλωση

- Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών
- Ανοσοκαθήλωση με ειδικά αντισώματα έναντι των υποτύπων
- Ανίχνευση του τύπου της μονοκλωνικότητας

• Σφαιρίνες

∞ Διακρίνονται με βάση την ηλεκτροφορητική κινητικότητα

- γ-σφαιρίνες: ανοσοσφαιρίνες
 - ανοσοσφαιρίνες συναντώνται και στην περιοχή των α και β σφαιρινών



Κρυοσφαιρίνες

👉 Διακρίνονται σε 3 τύπους

I. Μονοκλωνική: IgM or IgG

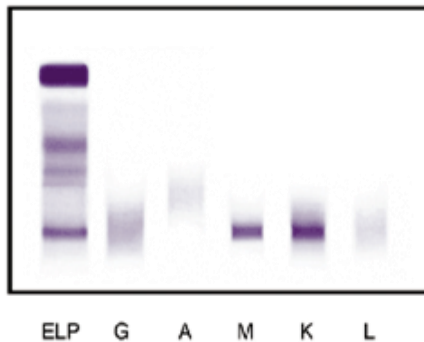
- μυέλωμα, μακροσφαιριναιμία, λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα

II. Μικτή μονοκλωνική: IgMκ

- σύνδρομο Sjögren, λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, HCV, HIV

III. Πολυκλωνική

- αυτοάνοσα νοσήματα, χρόνιες λοιμώξεις, λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα



👉 Κλινικές Εκδηλώσεις

∞ Πορφύρα	90-100%
∞ Αδυναμία	70-100%
∞ Αρθραλγίες	50-90%
∞ Φαινόμενο Raynaud	~30%
∞ Ηπατική προσβολή	60-70%
∞ Νεφρική προσβολή	10-55%
∞ Περιφερική νευροπάθεια	30-70%



