

## Πρόβλεψη Εμφάνισης και Πρώιμη διάγνωση των Συστημικών Αυτοανόσων Νόσων

*Αθανάσιος Γ. Τζιούφας  
Παθολογική Φυσιολογία  
Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ*

Αθήνα , 29 Απριλίου, 2010

## ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

- 5-8% στο γενικό πληθυσμό
- 2<sup>η</sup> αιτία εισαγωγών σε παθολογικές κλινικές
- 3<sup>η</sup> αιτία νοσηρότητας/θνητότητας
- Οργανοειδικά
- Συστηματικά

## ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ

- Αυτοδραστικά Τ-λεμφοκύτταρα
- Αυτοδραστικά Β-λεμφοκύτταρα (autoantibodies)

= Αυτοάνοση απόκριση

+

Βλάβη ιστού

= Αυτοάνοση νόσος

## Φυσικά και παθογενετικά αυτοαντισώματα

- |  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Υγιείς</li><li>• Χαμηλός τίτλος</li><li>• IgM</li><li>• Μικρή συγγένεια στο αυτοαντιγόνο</li><li>• Πολυδραστικότητα</li><li>• Κωδικοποίηση από το σπερματικό DNA</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Υψηλός τίτλος</li><li>• IgG</li><li>• Μεγάλη συγγένεια στο αυτοαντιγόνο</li><li>• Παρόντα στη βλάβη ιστού</li><li>• Παραγωγή νόσου σε πειραματικά πρότυπα</li><li>• Ελάττωση τίτλου στην ύφεση της νόσου</li></ul> |
|--|--|

## Ορισμοί

- **Υποκλινική νόσος:** Παρουσία μόνον ορολογικών δεικτών χωρίς κλινική συμπτωματολογία.
- **Πρώιμη νόσος:** Νόσος που υπάρχει για λιγότερο από 1-2 χρόνια. Ιστική βλάβη συνήθως μικρή και αναστρέψιμη.
- **Εγκατεστημένη νόσος:** Νόσος που υπάρχει περισσότερο από 1-2 χρόνια. Ιστική βλάβη συνήθως μεγάλη και ίσως μη αναστρέψιμη.

## Πρώιμα σημεία νόσου (1)

- Κλινικά  
Μη ειδικά
- Εργαστηριακά  
Δείκτες φλεγμονής  
**Αυτοαντισώματα**
- Γενετικό υπόστρωμα  
Μελέτες πολυμορφισμών γονιδίων

### Πρώιμα σημεία νόσου (2)

- Κλινικά  
Πυρέτιο  
Αρθραλγίες-αρθρίτιδα  
Αδυναμία-κόπωση-καταβολή  
Εξανθήματα

### Πρώιμα σημεία νόσου (3)

- Ηλικία
- Φύλο
- Εκλυτικοί παράγοντες
- Φάρμακα
- Προηγούμενο ιστορικό
- Οικογενειακό ιστορικό

### Πρώιμα σημεία νόσου (4)

- Ευαισθητοποίηση γενικών ιατρών-ιατρών άλλων ειδικοτήτων
- Συμμετοχή των νόσων στη Διαφορική διάγνωση
- Συνεκτίμηση κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων
- Προσοχή στην υποκλινική έκφραση!
- Θεραπεία με βάση την κλινική εικόνα !

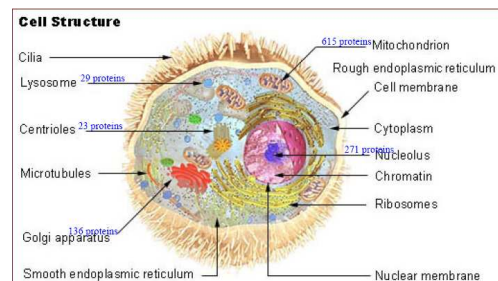
### Αυτοαντισώματα στην κλινική πράξη

- Σκοπός
- Ευαισθησία και ειδικότητα
- Χρησιμότητα
- Περιοδικότητα ελέγχου. Πότε? Ποιά?
- Κόστος

### Συστημικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα Αυτοαντισώματα

- ✓ Πρωτείνες ορού
  - \* Αντι-ανοσοσφαιρίνη (ρευματοειδής παράγων)
- ✓ Κυτταρικές μεμβράνες
  - \* Αντιγόνα ερυθρών αιμοσφαιρίων (Coombs)
  - \* Αντι-β<sub>2</sub>GPI (antiphospholipid syndrome)
- ✓ Πυρηνικά και κυτταροπλασματικά αντιγόνα
  - \* Αντιπυρηνικά αντισώματα

### Δομή του κυττάρου



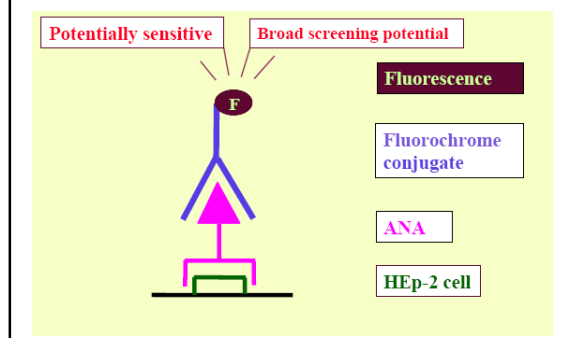
Συστημικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα  
Αυτοαντισώματα

- ✓ Διαγνωστικά
  - × Νόσος
  - × Υποκατηγορίες νόσου
- ✓ Πρόβλεψη ανάπτυξης νόσου ή έξαρσης

## ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

- Αρχική μέθοδος
- Πρότυπο χρώσης κυττάρου (Τύπος)
- Τίτλος

## Έμμεσος ανοσοφθορισμός

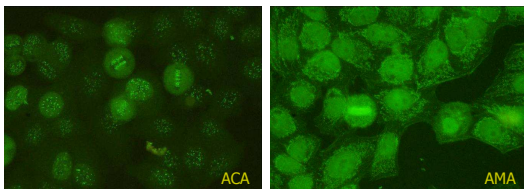


## ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

### Ειδικοί τύποι

- Κεντρομερίδιο
- Δακτυλιοειδής
- Μιτοχονδριακός
- Ριβοσωμικός

### Ειδικοί τύποι

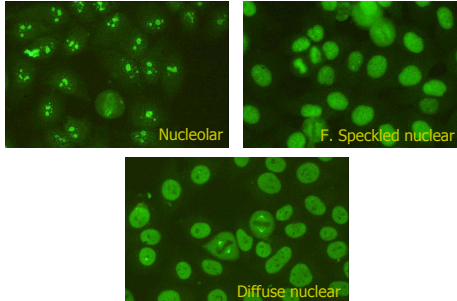


## ΑΝΟΣΟΦΘΟΡΙΣΜΟΣ

### Μη-Ειδικοί τύποι

- Διάχυτος
- Στικτός
- Πυρηνισκικός

### Μη-ειδικοί τύποι



### ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΠΥΡΗΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΣΩΜΑΤΩΝ

- Αραίωση 1:160 (ευαισθησία-ειδικότητα περίπου 90%)
- Μικρότερες αραιώσεις: απώλεια της ειδικότητας
- Υποκλινικές μορφές νόσων
- Υγιείς υπερήλικες, ιογενείς λοιμώξεις, κά

### Συστημικά αυτοάνοσα νοσήματα:

Τα ενδοκυττάρια αυτοαντιγόνα είναι σημαντικά μόρια για την κυτταρική λειτουργία

#### Κυτταρική εντόπιση

Νουκλεόσωμα

Ματίσωμα

Ριβονουκλεοπρωτεΐνες

Σύνθεση πρωτεϊνών/μετάφραση

#### Αυτοαντιγόνο

dsDNA.

Histones,

topoisomerase I

Sm, U1RNP

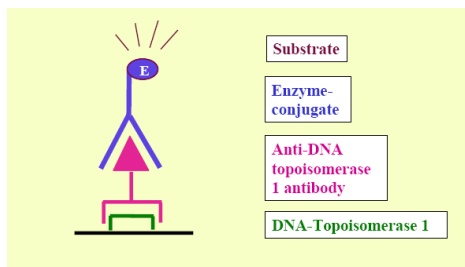
Ro/SSA, LaSSB

Ribosomal P, t-RNA synthetases

### Μέθοδοι ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων

- Μέθοδοι ανοσοκαθίξεσης
- Ανοσοενzymικές μέθοδοι
- Ραδιοανοσομέθοδοι
- Ανοσοποτύπωση

### Ανοσοπροσροφητική ενζυμική μέθοδος στερεάς φάσης(ELISA)

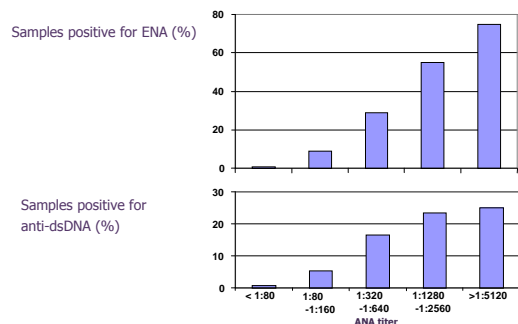


### Η «ιδανική» μέθοδος

- ✓ Υψηλή ειδικότητα/ευαισθησία
- ✓ Επαναληψιμότητα (CV <5%)
- ✓ Εύκολη εφαρμογή στην κλινική πράξη
- ✓ Φθηνή

## Πότε ζητάμε ειδικά αυτοαντισώματα κατά ενδοκυττάριων αυτοαντιγόνων ?

FANA test: screening test for the detection of ENA & anti-dsDNA



### Αυτοαντισώματα, ανεξάρτητες παράμετροι σε διαγνωστικά κριτήρια αυτοανόσων νοσημάτων

Systemic Lupus Erythematosus	ANA, Sm, dsDNA, Coombs
Sjögren's Syndrome	Ro/SSA, La/SSB
Rheumatoid arthritis	RF
Antiphospholipid Syndrome	aCL
Wegener's Granulomatosis	c-ANCA, PR3
Microscopic vasculitis	p-ANCA, MPO
Antisynthetase syndrome	Jo-1

### Αυτοαντισώματα:Ειδικότητα σύμφωνα με τη μέθοδο

Disease specificity >75%

ds DNA	SLE	ELISA, Farr Assay
Sm	SLE	CIE, DD, Immunoblot
Ro/SSA	SCLE, Neonatal lupus	CIE, DD
La/SSB	Sjogren's syndrome	CIE, DD, Immunoblot
Topoisomerase I	Systemic sclerosis	Immunoblot
tRNA synthetase	Polymyositis	CIE, Immunoblot
Centromere	Limited scleroderma	IIF
PDH	Primary Biliary Cirrhosis	IIF
C-ANCA	Wegener's	IIF

### Ειδικά αυτοαντισώματα-δείκτες νόσου

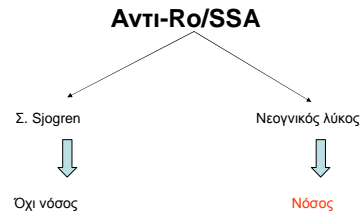
- Υψηλής διαγνωστικής αξίας  
Anti-dsDNA, - B2 GPI, - La, -πρωτεΐνωση 3, - τοποισομεράσης, - tRNA συνθετασών, Sm κλπ
- Χαμηλής διαγνωστικής αξίας  
Ρευματοειδής παράγων, Anti-Ro, - μυελουπεροξειδάση, κλπ

**ΕΝΑΙ ΠΑΝΤΑ ΑΥΤΟΣ Ο ΚΑΝΟΝΑΣ ;**

## Η ετερογένεια των αντι - Ro/SSA

Νόσος	Ποσοστό (%)	Σχόλια
Sjögren's syndrome	60	•Διαγνωστικό κριτήριο
SLE	30	•Άτυπα ευρήματα στο ΚΝΣ •20-30% ασθενών με D-pan •Πνευμονική υπέρταση?
SCLE	90-100	•Παθογενετικό
NLS	100	•Παθογενετικό
RA	3-14	•Παρενέργειες στη D-pan
Scleroderma	2	
Vasculitis	5	
APS	3	
Healthy	1-2	

## ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ Συσχέτιση με νόσο



## Neonatal Lupus Syndrome clinical manifestations

- Cutaneous rash (50%)
- Congenital heart block (CHB) and/or cardiomyopathy (50%)
- CHB and cutaneous rash (10%)
- Hematologic - Hepatic disorders (10%)
- CHB is the most serious manifestation



*Beh et al, Clin Derm 2004  
Rheumatology, Mosby 3rd edition*

## Congenital heart block (CHB): Incidence

Autoantibody-positive Mothers	Incidence
anti-Ro (+)	2%
anti-Ro/La (+)	3-5%
After the birth of child with neonatal lupus	20%

*Gordon et al, J.Rheum 2004*

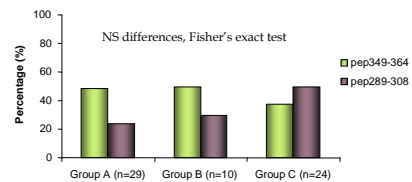
## NLS & Idiotypic/anti-idiotypic responses to La/SSB

Mothers with autoimmune disease	Patients Number (Total 63)
Group A NLS pregnancy	29
Group B healthy pregnancy/ (+) NLS history	10
Group C healthy pregnancy	24

- All samples were provided by Research Registry for Neonatal Lupus, NY  
– Jill Buyon and Robert Clancy, Hospital for Joint Diseases, New York University School of Medicine

*Stein et al., Arthritis Rheum, 54:2228, 2006*

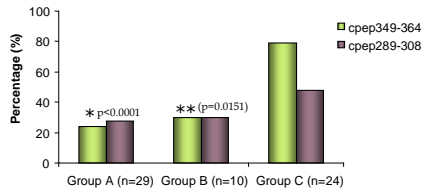
## Idiotypic responses to La/SSB



NS differences, Fisher's exact test  
A: NLS pregnancy, B: healthy pregnancy, history of NLS C: healthy pregnancies

*Stein et al., Arthritis Rheum, 54:2228, 2006*

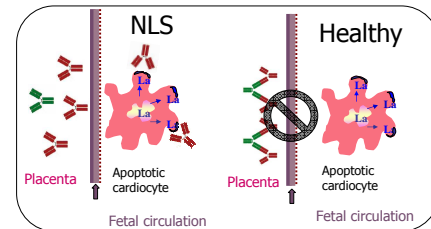
### Anti-Idiotypic responses to La/SSB (attested with complementary peptides)



A: NLS pregnancy, B: healthy pregnancy, history of NLS C: healthy pregnancies

Stea et al., Arthritis Rheum, 54:2228, 2006

Hypothesis → The presence of anti-Id Abs directed against anti-La/SSB autoantibodies seems to protect the fetus by blocking pathogenic maternal autoantibodies.



Tzioufas and Moutsopoulos. Rheumatology, 2007;46:1221.

### Αυτοαντισώματα – δείκτες έξαρσης νόσου

- Εξατομίκευση ανα ασθενή
- Αντι-dsDNA, -πρωτεϊνάση 3 ????
- κρυσφαιρίνες
- Θεραπεία με βάση την κλινική εικόνα

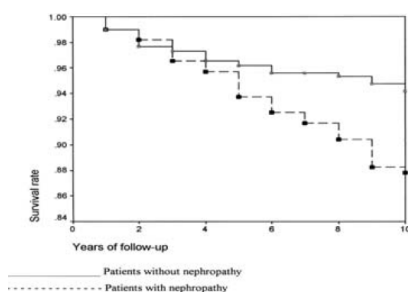
### Περιοδικός έλεγχος αυτοαντισωμάτων

- ✓ Ετήσιο κόστος > 5.000.000 Ευρώ
- ✓ Στην πλειονότητα η εικόνα των ειδικών αυτοαντισωμάτων δεν αλλάζει.
- ✓ Στην πλειονότητα ο τίτλος δεν έχει κλινική σημασία

#### ΕΞΑΙΡΕΣΕΙΣ

- ✓ Υποκατηγορία ασθενών με ΣΕΛ και νεφρίτιδα (αντι-DNA)
- ✓ Αλλαγή κλινικής εικόνας (πχ νέο εξάνθημα σε ασθενή με ΣΕΛ)

### ΣΕΛ- νεφρική προσβολή



Cervera R, Medicine, 2003

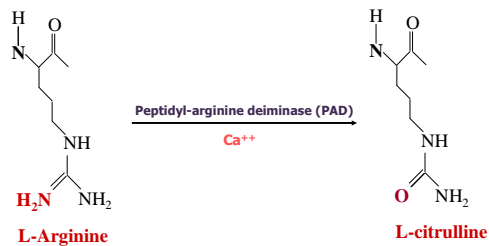
### Αντι-DNA

- ✓ **Anti ss-DNA:**  
Μη ειδικά
- ✓ **Anti-ds DNA:** ειδικά για τον ΣΕΛ

#### Κλινική σημασία:

- Διάγνωση
- Συσχέτιση με νεφρίτιδα (+ χαμηλό C3)
- Πρόβλεψη έξαρσης (αυξανόμενοι τίτλοι+ χαμηλό C3)

## Αντισώματα κατά κίτρουλινοποιημένων πεπτιδίων(CCP)



## Αντι-CCP. Συσχέτιση με ΡΑ

### Anti-CCP2 diagnostic data

Patient group	n	CCP2+	%
RA total	7769	5465	70
Early	2936	1752	60
Established	4833	3713	77
Controls	10,833	446	4
Non-RA	7978	420	5
Healthy	2855	26	1

These are the combined data of 66 independent reports published in 2002–2005 dealing with the sensitivity and specificity of the CCP2 test. The selection for early RA was adopted from the original reports.

VanVenrooij et al, 2006

## Meta-analysis:

### Diagnostic Accuracy of Anti-CCP Antibody and RF for Rheumatoid Arthritis

*Ann Intern Med.* 2007;146:797-808.

- × 37 studies of anti-CCP antibody and 50 studies of RF
- × pooled sensitivity, specificity, and (+) and (-) LR's

	Anti-CCP	RF
Sens.	67%	69%
Spec.	95%	85%
(+) LR	12.46	4.86
(-) LR	0.36	0.38

## Αντι-CCP: Συνεισφορά στη διάγνωση της πρώιμης ΡΑ σε ασθενείς με αδιαφοροποιητή αρθρίτιδα

Table 4 Predictive value of anti-CCP in early undifferentiated arthritis

Test	References	EA (n)	Follow up (months)	RA (n) diagnosis after follow-up	DD at baseline (months)	CCP at baseline (%)	CCP at diagnosis of RA (%)	Odds ratio* (95% CI)
Anti-CCP1	21, 53, 59, 62	1327	15 (5) 12 (12-24)	603	<16 (12)	23 (6) 22 (16-32)	46 (6) 44.5 (41-53)	20 (14 to 31)
Anti-CCP2	12, 20, 21, 24, 25, 29, 44, 48	2017	18 (7) 12 (12-36)	1026	<5 (3)	23 (5) 21.5 (16-33)	51 (8) 53 (39-62)	25 (18 to 35)

CI, confidence interval; EA, early arthritis; RA, rheumatoid arthritis; DD, disease duration. \*Odds ratios were calculated by dividing the odds of the RA group by the odds of the non-RA group; results shown as mean (SD) and median (range); results shown as mean (SD).

Avouac et al, 2006

## Αυτοαντισώματα και διαβρώσεις στη ΡΑ

	Radiographic progressors (n=49)	Radiographic non-progressors (n=55)	Significance (p-value)	OR (95% CI)
Anti-CCP+	32 (65)	12 (22)	<0.001	6.7 (2.8 to 16.1)
IgM RF+	29 (59)	21 (38)	0.05	2.4 (1.1 to 5.7)
IgA RF+	30 (61)	17 (30)	0.003	3.5 (1.6 to 7.9)
IgG RF+	27 (55)	11 (20)	<0.001	4.9 (2.1 to 11.7)
APF+	25 (51)	13 (24)	0.005	3.4 (1.5 to 7.8)
AKA+	29 (59)	10 (18)	<0.001	6.5 (2.7 to 15.9)
Anti-CCP+ and IgM RF+	23 (47)	7 (13)	0.002	4.8 (1.8 to 12.8)
Anti-CCP+ and/or IgM RF+	39 (80)	25 (45)	<0.001	4.7 (2.0 to 11.2)
Anti-CCP (units), mean (SD)	217.2 (248)	72.7 (141)	<0.001	-
IgM RF (index), mean (SD)	3.7 (3.1)	2.2 (2.1)	0.002	-
IgA RF (index), mean (SD)	3.2 (2.7)	2.0 (2.5)	<0.001	-
IgG RF (index), mean (SD)	3.5 (3.0)	1.9 (2.5)	<0.001	-

## Συστημικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα Αυτοαντισώματα

### ✓ Διαγνωστικά

- × Νόσος
- × Υποκατηγορίες νόσου

### ✓ Πρόβλεψη ανάπτυξης νόσου ή έξαρσης

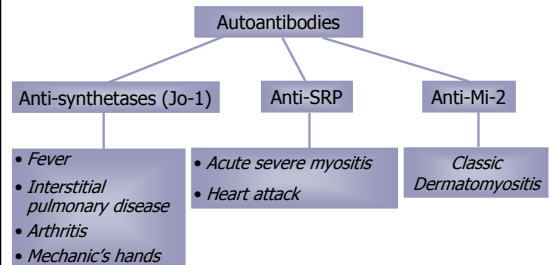


### Αυτοαντισώματα-υποκατηγορίες νόσου

- ✓ ΣΕΛ-Ψυχιατρικές εκδηλώσεις
- ✓ Περιορισμένο σκληρόδερμα
- ✓ Διάχυτο σκληρόδερμα
- ✓ Φλεγμονώδεις νόσοι των μυών

### Μυοσίτιδα

#### Ειδικά αυτοαντισώματα-κλινικά σύνδρομα



### Συστημικά αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα Αυτοαντισώματα

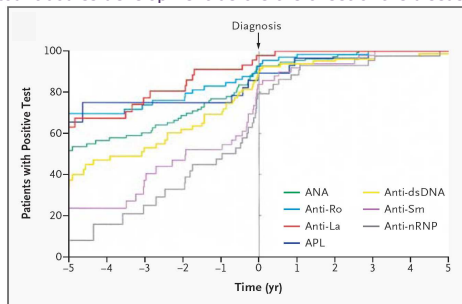
- ✓ Διαγνωστικά
  - \* Νόσος
  - \* Υποκατηγορίες νόσου
- ✓ Πρόβλεψη ανάπτυξης νόσου

### Πρόβλεψη ανάπτυξης νόσου-αυτοαντισώματα

- ✓ Διαβήτης τύπου 1. Πιθανότητα 10% με την παρουσία 1 αυτοαντισώματος, 45% με την παρουσία 2 αυτοαντισωμάτων και 90% με την παρουσία 3 αυτοαντισωμάτων (GAD, IA-2, ινσουλίνη).
- ✓ Θυρεοειδίτιδα μετά την κύηση (αντι-TPO)
- ✓ Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
- ✓ Ρευματοειδής αρθρίτιδα

### Systemic Lupus Erythematosus

#### Autoantibodies development before the onset of the disease



Arbuckle et al., N Engl J Med 2003;349:1526

### Αντι-CCP: Πρόβλεψη εμφάνισης ΡΑ σε υγιείς

Table 5 Predictive value of anti-CCP in healthy blood donors

Author (date)	Nature of the test	Sample/design	Follow up	Cohort	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Odds ratio (95% CI)
Rostropo-Dubhivir (2003) <sup>10</sup>	Anti-CCP2	Case-control study	Retrospective analysis of blood samples collected at onset	83 Blood donors (before RA)	4 (9 y before) 23 (-1.5 y before) 52 (<-1.5 y before)	98	28 (8 to 95)
Berglin (2004) <sup>11</sup>	Anti-CCP2	Same group as above	Some as above	59 Blood donors (before RA)	37 (<-2 y before)	98	15.9
Niiler (2004) <sup>12</sup>	Anti-CCP1	Case-control study	Retrospective analysis of blood samples collected at onset	79	29 (<-5 y before)	99.5	64.5 (8.5 to 489)

CI, confidence interval; RA, rheumatoid arthritis.  
\*Sensitivity was defined by the proportion of people with RA who had a positive anti-CCP test result before symptom onset; odds ratio was defined by the ratio of the probability of developing RA in the group of blood donors with positive anti-CCP to the probability of developing RA in the group of blood donors with negative anti-CCP antibodies.

Avouac et al, 2006

### Συμπερασματικά....

- ✓ Επιβεβλημένη η διάγνωση της πρώιμης νόσου για την καλύτερη θεραπευτική προσέγγιση.
- ✓ Το εργαστήριο είναι πολύτιμος σύμμαχος για την πρόβλεψη της νόσου, την πρώιμη διάγνωση και την παρακολούθηση.

### Συμπερασματικά....

- Δεν θεραπεύουμε το εργαστήριο αλλά τον ασθενή (υποκλινικές μορφές).
- Η επιλογή των εξετάσεων με βάση την κλινικά εικόνα και συγκεκριμένα ερωτήματα.
- Περιοδικός έλεγχος αυτοαντισωμάτων όταν χρειάζεται.