



Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών  
Ιατρική Σχολή  
Κλινική & Εργαστήριο Παθολογικής Φυσιολογίας  
Διευθυντής: Καθηγητής Αθανάσιος Γ. Τζιούφας

**ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΤΟΥ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΝΕΥΡΙΚΟΥ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ.  
ΚΛΙΝΙΚΗ - ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ  
ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ - ΔΕΙΚΤΩΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗΣ**

**Ελένη Ι. Καμπυλαυκά  
Ιατρός  
Διδακτορική Διατριβή**

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

**Α. Γ. Τζιούφας (επιβλέπων)**

Π. Γ. Βλαχογιαννόπουλος

Γ. Καλτσάς

Αθήνα, 2013

## **Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής**

**Ημερομηνία Αιτήσεως:** 12 Νοεμβρίου 2008

**Ημερομηνία Ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 10 Απριλίου 2009

**Μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

- Αθανάσιος Γ. Τζιούφας, Καθηγητής (*επιβλέπων*)
- Παναγιώτης Γ. Βλαχογιαννόπουλος, Καθηγητής
- Γρηγόριος Καλτσάς, Αν. Καθηγητής

**Ημερομηνία Ορισμού Θέματος:** 10 Απριλίου 2009

**Ημερομηνία Καταθέσεως της Διδακτορικής Διατριβής:** 14 Ιανουαρίου 2014

**Πρόεδρος της Ιατρικής Σχολής:** καθ. Μελέτιος Αθανάσιος Δημόπουλος

**Μέλη της Επταμελούς Επιτροπής:**

- Χαράλαμπος Μ. Μουτσόπουλος, Ομότιμος Καθηγητής
- Μαρίνος Δαλάκας, Καθηγητής
- Μιχαήλ Βουλγαρέλης, Αν. Καθηγητής
- Ελευθέριος Σταμπουλής, Καθηγητής

## Ὅρκος του Ιπποκράτη

Ὅμνυμι Απόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιεύμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἶρξιν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιόρκουσι, τάναντία τουτέων.

## Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

### ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

**Επίθετο:** Καμπυλαυκά

**Όνομα:** Ελένη

**Πατρώνυμο:** Ιωάννης

**Ημερομηνία γέννησης:** 26 Οκτωβρίου 1984

**Τόπος γέννησης:** Αθήνα

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

**1999-2002:** 1<sup>ο</sup> Λύκειο Χολαργού, Βαθμός Απολυτηρίου: Άριστα (19,7)

**2002-2008:** Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Βαθμός Πτυχίου: Λίαν Καλώς (8,02)

**2009-Σήμερα:** Υποψήφια Διδάκτορας της Ιατρικής Σχολής του Ε.Κ.Π.Α.

**2011-2013:** Ειδικευόμενη Παθολογίας, Α' Παθολογική Κλινική, ΓΝΑ Σισμανογλείο.

### ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά (Cambridge Proficiency)

Γαλλικά (DALF)

Γερμανικά (B2)

### ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

**eACLS Provider** (Ισχύς: 05/12/10 έως 05/12/14)

**Παρακολούθηση Ιατρικών Συνεδρίων - Σεμιναρίων:** Συνολικά 244 Μόρια Συνεχιζόμενης Ιατρικής Εκπαίδευσης (CME-CPD).

### ΓΡΑΠΤΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Epitope Mapping of the Autoantigen Aquaporin-4 Reveals Linear Epitopes Located in the Intracellular Region of the Molecule, 10<sup>th</sup> ACR/ARHP Scientific Meeting, 7-11 November 2010, Atlanta, USA.
2. Short and Long Term Outcome of Patients with Dermatomyositis (DM) Treated with IVIG, EULAR 2010, 16-19 June 2010, Rome, Italy.

3. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes, EULAR 2011, 25-28 May 2011, London, United Kingdom.
4. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes and high similarity with the human HTLV-1 related protein TAX1BP1, 11<sup>th</sup> International Symposium on Sjogren's Syndrome, 29 September 2011, Athens.
5. Incidence and Prevalence of Major Central Nervous System (CNS) Involvement in Systemic Lupus Erythematosus (SLE): A 3 Year Prospective Evaluation and Clinical Correlations in 370 Patients, EULAR 2012, 6-9 June 2012, Berlin, Germany.
6. Peptide-Epitope mapping and reactivity of the autoantigen Aquaporin-4, 32<sup>th</sup> European Peptide Symposium, 2-7 September 2012, Athens.

#### **ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes and high similarity with the human HTLV-1 related protein TAX1BP1, 11<sup>th</sup> International Symposium on Sjogren's Syndrome, 29 September 2011, Athens.
2. Incidence and Prevalence of Major Central Nervous System (CNS) Involvement in Systemic Lupus Erythematosus (SLE): A 3 Year Prospective Evaluation and Clinical Correlations in 456 Patients, 64<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Academy of Neurology, 21-28 April, 2012, New Orleans, USA.

#### **ΓΡΑΠΤΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Η Χαρτογράφηση επιτόπων του αυτοαντιγόνου Υδατοπορίνη 4 (AQP4) αποκαλύπτει γραμμικούς επιτόπους στις ενδοκυττάρια περιοχές του μορίου, 25<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων, 2-5 Ιουνίου 2011, Αθήνα.
2. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes and high similarity with the human HTLV-1 related protein TAX1BP1, 3<sup>rd</sup> Summer School of Immunology, 27 June - 1 July 2011, Spetses.

#### **ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. Παρακολούθηση των ασθενών με δερματομυοσίτιδα που θεραπεύτηκαν με ώσεις ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνης, 36<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 4-8 Μαΐου 2010, Αθήνα.
2. Αντιγονική χαρτογράφηση του αυτοαντιγόνου υδατοπορίνης-4 σε ασθενείς με οπτική νευρομυελίτιδα, 36<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, 4-8 Μαΐου 2010, Αθήνα.

3. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes and high similarity with the human HTLV-1 related protein TAX1BP1, 3<sup>rd</sup> Summer School of Immunology, 27 June – 1 July 2011, Spetses.

## ΒΡΑΒΕΙΑ

1<sup>ο</sup> Βραβείο Γραπτής Ανακοίνωσης, 25<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ελλήνων Νευρολόγων, 2-5 Ιουνίου 2011, Αθήνα.

## ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

1. Η έρευνα «Προσβολή Του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος Στα Αυτοάνοσα Νοσήματα. Κλινική – Απεικονιστική Προσέγγιση και Αναζήτηση Αυτοαντισωμάτων» έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.
2. Υποτροφία 2 ετών (2009-2010) από την Ελληνική Ρευματολογική Εταιρεία (ΕΡΕ) για την έρευνα «Προσβολή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος στα Αυτοάνοσα Νοσήματα. Κλινική – Απεικονιστική Προσέγγιση και Αναζήτηση Αυτοαντισωμάτων».

## ΟΜΙΛΙΕΣ

1. Θεραπευτική Δράση της IV Ανοσοσφαιρίνης: Μηχανισμοί και Κλινικές Ενδείξεις, 13<sup>η</sup> Επιστημονική Συνάντηση Ρευματολόγων Βορειοδυτικής Ελλάδος, 21-22 Ιανουαρίου 2011, Μέτσοβο.
2. Ρευματοειδής Αρθρίτιδα και Περιοδοντική Προσβολή, 14<sup>η</sup> Επιστημονική Συνάντηση Ρευματολόγων Βορειοδυτικής Ελλάδος, 20-21 Ιανουαρίου 2012, Μέτσοβο.

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes., **Kampylafka EI**, Routsias JG, Alexopoulos H, Dalakas MC, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG., J Autoimmun, May 2011, 36(3-4):221-7.
2. The effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) treatment on patients with dermatomyositis: a 4-year follow-up study., **Kampylafka EI**, Kosmidis ML, Panagiotakos DB, Dalakas M, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG., Clin Exp Rheumatol, May-June 2012, 30(3):397-401.

3. Incidence and prevalence of major central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a 3-year prospective study of 370 patients., **Kampylafka EI**, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Panagiotakos DB, Vlachoyiannopoulos PG, Dalakas MC, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG., PLoS One, Feb 2013, 8(2):e55843.
4. Reactivity to AQP4 epitopes in relapsing-remitting multiple sclerosis., Alexopoulos H, **Kampylafka EI**, Chatzi I, Travasarou M, Karageorgiou KE, Dalakas MC, Tzioufas AG., J Neuroimmunol, May 11, 2013, 15;260(1-2):117-20.

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επιβλέποντα Καθηγητή μου κ. Αθανάσιο Τζιούφα για την συνεχή υποστήριξη και καθοδήγησή του στα χρόνια της εκπόνησης της Διδακτορικής μου Διατριβής, αλλά και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, δίνοντας μου έτσι την ευκαιρία να καταπιαστώ με ποικίλες επιστημονικές δραστηριότητες και να πλουτίσω σε εμπειρία και γνώσεις.

Ακόμα, ευχαριστώ από καρδιάς τους κ. Καθηγητή Παναγιώτη Βλαχογιαννόπουλο και Αν. Καθηγητή Γρηγόριο Καλτσά, μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για την καθοριστική συμβολή τους και τις πολύτιμες παρατηρήσεις τους.

Βαθιά ευγνωμοσύνη τρέφω για τον Καθηγητή μου Χαράλαμπο Μ. Μουτσόπουλο, που μου έδωσε την ευκαιρία να μαθητεύσω κοντά του και να αποκτήσω πολύτιμες γνώσεις, ενώ ταυτόχρονα συνέβαλε με καθοριστικό τρόπο στην τελική διαμόρφωση της παρούσας έρευνας. Για εμένα, η γνωριμία μαζί του και η συμμετοχή στην ομάδα του ήταν μεγάλη τιμή.

Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Μαρίνο Δαλάκα για τη πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή του στα θέματα που αφορούσαν στη νευρολογική σημειολογία και την νευρολογική ανοσολογική απόκριση.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως τους δρ. Χαράλαμπο Αλεξόπουλο και Ιωάννη Ρούτσια, που με την καθημερινή και άοκνη καθοδήγηση και εργασία τους στο εργαστηριακό σκέλος της έρευνας, μου προσέφεραν πολύτιμες πληροφορίες και συνέβαλαν ουσιαστικά στα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής.

Ακόμα, ευχαριστώ θερμά την Συντ. Διευθύντρια Νευρολογίας κ. Κλημεντίνη Καραγεωργίου για την πολύτιμη προσφορά της σε ορούς ασθενών με Οπτική Νευρομυελίτιδα και Πολλαπλή Σκλήρυνση, αλλά και την κ. Ιωάννα Χατζή για την λεπτομερή συλλογή των κλινικών στοιχείων των ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Δημοσθένη Παναγιωτάκο για την καθοδήγησή του και την



καθοριστική συμμετοχή του στη στατιστική επεξεργασία των ερευνητικών αποτελεσμάτων.

Τέλος, ευχαριστώ βαθιά όλους τους συνεργάτες του Εργαστηρίου Παθολογικής Φυσιολογίας, που με στήριξαν, ο καθένας με τον τρόπο του, την τετραετία αυτή. Πάνω από όλα, όμως, ευχαριστώ την οικογένειά μου, γιατί χωρίς τη συμπαράστασή τους τίποτα από αυτά δεν θα είχε συμβεί.

## Υποτροφίες



Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

Επιπλέον, η παρούσα έρευνα χρηματοδοτήθηκε για διάστημα 2 ετών από την Ελληνική Ρευματολογική Εταιρεία (ΕΡΕ) (2009-2010).

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>1. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>14</b>
<b>2. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ - ABSTRACT</b>	<b>17</b>
<b>3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>19</b>
<b>3.1. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ</b>	<b>20</b>
3.1.1. Κλινικές Παρατηρήσεις	20
3.1.2. Παθοφυσιολογία	23
3.1.3. Ειδικά Αυτοαντισώματα	25
<b>3.2. ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ     ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟΣ ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΗΣ ΛΥΚΟΣ</b>	<b>26</b>
3.2.1. Ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος ως Πολυσυστηματικό Αυτοάνοσο Νόσημα	26
3.2.2. Η Νευρολογική Προσβολή στον ΣΕΛ: Επισκόπηση και Κλινικές Εκδηλώσεις	28
3.2.3. Επιδημιολογία	31
3.2.4. Απεικόνιση και Εργαστηριακές Εξετάσεις	32
3.2.5. Παράγοντες Κινδύνου - Νοσηρότητα - Θνητότητα	38
3.2.6. Παθοφυσιολογία	39
3.2.7. Ζωικά Μοντέλα	43
3.2.8. Θεραπεία	46
3.2.9. Διακριτές Νευρολογικές Εκδηλώσεις	47
3.2.9.1. Επιληπτικές Κρίσεις	47

3.2.9.2.	Μυελοπάθεια	49
3.2.9.3.	Αγγειακά Εγκεφαλικά Συμβάματα	51
3.2.9.4.	Ψύχωση	52
3.2.9.5.	Χορεία	53
3.2.9.6.	Κεφαλαλγίες	53
3.2.9.7.	Γνωσιακή Δυσλειτουργία	54
3.2.9.8.	Λοιπές Εκδηλώσεις από το ΚΝΣ	56
3.2.9.9.	Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ)	57
<b>3.3.</b>	<b>ΟΡΓΑΝΟΕΙΔΙΚΗ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ: ΟΠΤΙΚΗ</b>	
	<b>ΝΕΥΡΟΜΥΕΛΙΤΙΔΑ</b>	<b>58</b>
3.3.1.	Ορισμός – Ιστορική Αναδρομή	58
3.3.2.	Κλινική Εικόνα	59
3.3.3.	Απεικονιστικά – Εργαστηριακά Ευρήματα	59
3.3.4.	Διαφορές και Ομοιότητες Οπτικής Νευρομυελίτιδας και Πολλαπλής Σκλήρυνσης	61
3.3.5.	NMO-IgG Αντίσωμα	66
3.3.6.	Ακουαπορίνη-4 (AQP4)	67
3.3.7.	Παθογένεια	69
3.3.8.	Πιθανοί Επίτοποι της AQP4	71
3.3.9.	Σύνδρομα του Φάσματος της Οπτικής Νευρομυελίτιδας	72
3.3.10.	Πρόγνωση – Θεραπεία	73
<b>4.</b>	<b>ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ</b>	<b>74</b>
<b>5.</b>	<b>ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b>	<b>75</b>

<b>5.1. ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>76</b>
5.1.1. Δείγμα της Μελέτης	76
5.1.2. Ορισμός της Οργανικής Προσβολής του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ)	76
5.1.3. Κλινική και Εργαστηριακή Διερεύνηση	78
5.1.4. Στατιστική Ανάλυση	79
<b>5.2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>80</b>
5.2.1. Ασθενείς και Οροί	80
5.2.2. Σύνθεση των Πεπτιδίων	81
5.2.3. Ανοσοενζυμική Μέθοδος ELISA	83
5.2.4. Δοκιμασίες Ομόλογης Αναστολής	84
5.2.5. Αναζήτηση για Ομόλογες Αλληλουχίες	85
5.2.6. Δοκιμασίες ELISA για Έλεγχο Πιθανής Διασταυρούμενης Αντίδρασης Μεταξύ των 15-μερών Πεπτιδίων AQP4 και TAX1BP1 και Δοκιμασίες Ετερόλογης Αναστολής	86
5.2.7. Πειράματα ELISA για τον Εντοπισμό anti-MOG Αντισωμάτων	86
5.2.8. Στατιστική Ανάλυση	87
<b>6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	<b>88</b>
<b>6.1.ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>89</b>
6.1.1. Επιπολασμός και Επίπτωση	89
6.1.2. Νοσηλείες των Ασθενών	93
6.1.3. Κλινικές Συσχετίσεις	95
<b>6.2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	<b>99</b>

6.2.1. Εντοπισμός Αντιγονικών Επιτόπων - Δοκιμασίες Αναστολής	99
6.2.2. Ομόλογες Αλληλουχίες των Επικρατούντων Επιτόπων με Άλλες Πρωτεΐνες	104
6.2.3. Δραστικότητα των Ορών Έναντι των 15-μερών Πεπτιδίων της AQP4 και της TAX1BP1 και Δοκιμασίες Αναστολής	104
6.2.4. Δραστικότητα των Ορών των Ασθενών με MS κατά των Πεπτιδίων και Δοκιμασίες Ομόλογης Αναστολής	106
6.2.5. Έλεγχος των Ασθενών με MS για Ύπαρξη anti-MOG Αντισωμάτων	108
6.2.6. Κλινικοεργαστηριακές Συσχετίσεις των Ασθενών με MS	109
<b>7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	<b>111</b>
7.1.ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	112
7.2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ	118
<b>8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>126</b>

## 1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Η επίπτωση και ο επιπολασμός της προσβολής του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) στον Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) παραμένουν ασαφείς, λόγω αντικρουόμενων αποτελεσμάτων των διαφόρων μελετών. Στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η εκτίμηση του επιπολασμού και της επίπτωσης των μείζονων συμβαμάτων από το ΚΝΣ σε ασθενείς με ΣΕΛ, τα οποία να αποδίδονται με σαφήνεια στη νόσο.

370 ασθενείς με ΣΕΛ, χωρίς ιστορικό προηγούμενης προσβολής του ΚΝΣ, παρακολουθήθηκαν προοπτικά για 3 έτη. Οι μείζονες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ καθορίστηκαν βάσει των ορισμών του American College of Rheumatology (ACR), και περιελάμβαναν τη χορεία, την άσηπτη μηνιγγίτιδα, την ψύχωση, τις επιληπτικές κρίσεις, τη μυελοπάθεια, το απομυελινωτικό σύνδρομο, την οξεία συγχυτική κατάσταση και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ). Τα ελάσσονα νευρολογικά συμβάματα αποκλείστηκαν. Οι δείκτες ECLAM και SLEDAI (Τροποποίηση SELENA) χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου, ενώ το SLICC/ACR Damage Index χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της αθροιστικής βλάβης από τη νόσο.

Δεκαέξι από τους 370 ασθενείς (4.3%) εμφάνισαν συνολικά 23 μείζονα συμβάματα από το ΚΝΣ. Αυτά περιελάμβαναν επιληπτικές κρίσεις (35%), ΑΕΕ (26%), μυελοπάθεια (22%), οπτική νευρίτιδα (8.7%), άσηπτη μηνιγγίτιδα (4.3%) και οξεία ψύχωση (4.3%). Η επίπτωση ήταν 7.8 περιπτώσεις/ 100 ανθρωποέτη. Μεταξύ των νοσηλειών των ασθενών με ΣΕΛ, το 13% οφειλόταν σε εκδηλώσεις του ΚΝΣ. Οι επιληπτικές κρίσεις συσχετίστηκαν με υψηλή ενεργότητα νόσου, ενώ η μυελοπάθεια με χαμηλότερη ενεργότητα και με τα NMO-IgG αντισώματα ( $P \leq 0.05$ ). Η εμφάνιση ΑΕΕ σχετίστηκε με συνύπαρξη Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου ( $P = 0.06$ ). Συνολικά, η προσβολή του ΚΝΣ συσχετίστηκε με υψηλούς δείκτες ενεργότητας ECLAM και SLEDAI ( $P < 0.001$ ).

Συμπερασματικά, η βαριά κλινική προσβολή του ΚΝΣ είναι σχετικά σπάνια στους ασθενείς με ΣΕΛ, με επίπτωση περί τις 7.8 περιπτώσεις ανά 100 ανθρωποέτη. Επιπλέον, η προσβολή του ΚΝΣ σχετίζεται με υψηλή ενεργότητα νόσου και ειδικά κλινικοεργαστηριακά ευρήματα που χαρακτηρίζουν τα επιμέρους νευρολογικά σύνδρομα.

Στο δεύτερο τμήμα της διδακτορικής διατριβής αξιολογήθηκε η ειδικότητα των αντισωμάτων έναντι της ακουαπορίνης-4 (AQP4), διαγνωστικού δείκτη και παθογενετικού παράγοντα της Οπτικής Νευρομυελίτιδας (NMO, Σύνδρομο Devic's). Στόχος της μελέτης ήταν ο εντοπισμός των γραμμικών B κυτταρικών επιτόπων του μορίου της AQP4, καθώς και ο έλεγχος για ύπαρξη ομολογιών με άλλα μόρια. Τέλος, ελέγχθηκε και η παρουσία αντισωμάτων έναντι της AQP4 σε ασθενείς με Πολλαπλή Σκλήρυνση (MS).

Χρησιμοποιήθηκαν οροί από 21 ασθενείς θετικούς για anti-AQP4 αντισώματα, 23 ασθενείς με ΣΕΛ και 23 με Σύνδρομο Sjögren's χωρίς νευρολογική προσβολή, καθώς και οροί από 28 υγιή άτομα (υγιείς μάρτυρες). Τέλος, ελέγχθηκαν 45 ασθενείς με Πολλαπλή Σκλήρυνση με Υφέσεις και Εξάρσεις (RRMS) και 13 με Πρωτοπαθή Προϊούσα MS (PMS). Συντέθηκαν 11 πεπτίδια, τα οποία κάλυπταν όλες τις ενδοκυττάρειες και εξωκυττάρειες δομές του μορίου της AQP4, και όλοι οι οροί ελέγχθηκαν για αντισώματα έναντι των πεπτιδίων με τη μέθοδο ELISA. Η ειδικότητα των αντιδράσεων αξιολογήθηκε με δοκιμασίες ομόλογης αναστολής.

Οι NMO θετικοί οροί εμφάνισαν δραστικότητα έναντι 3 διαφορετικών πεπτιδίων, τα οποία αντιστοιχούσαν στις αλληλουχίες aa1-22 (AQPper1) (42.9% των ασθενών), aa88-113 (AQPper4) (33%) και aa252-275 (AQPper8) (23.8%). Όλοι οι επίτοποι ήταν ενδοκυττάριοι. Τα επίπεδα ομόλογης αναστολής κυμαίνονταν από 71.1% έως 84.3%. Ακόμα, παρατηρήθηκε ομολογία της τάξης του 73% μεταξύ τμήματος του AQPper8 (aa257-271) και της αλληλουχίας aa219-233 της πρωτεΐνης TAX1BP1 (Tax1-HTLV-1 binding protein), μιας ανθρώπινης πρωτεΐνης, εμπλεκόμενης στον αναδιπλασιασμό του ιού HTLV-1. Αντισώματα έναντι των 15-μερών πεπτιδίων της AQP4 και της TAX1BP1 ανιχνεύθηκαν στο 26.3% (N=5) και στο 31.6% (N=6) των NMO θετικών ορών, αντίστοιχα ( $r_s=0.81$ ,  $P<0.0001$ ). Οι υγιείς μάρτυρες δεν εμφάνισαν δραστικότητα έναντι των πεπτιδίων, ενώ οι δοκιμασίες ομόλογης και ετερόλογης αναστολής επιβεβαίωσαν την ειδικότητα της αντίδρασης. Τέλος, οι οροί ασθενών με RRMS, αν και αρνητικοί για anti-AQP4 αντισώματα με την κυτταροεξαρτώμενη μέθοδο (Cell Based Assay), εμφάνισαν στο 13% του συνόλου τους δραστικότητα για το πεπτίδιο AQPper8. Οι οροί των ασθενών με PMS δεν εμφάνισαν ειδικότητα κατά των πεπτιδίων.

Αυτή η πρώτη χαρτογράφηση της AQP4 αποκάλυψε ένα σημαντικό ποσοστό ορών με anti-AQP4 αντισώματα ειδικά για γραμμικούς επιτόπους, οι οποίοι εντοπίζονται στις ενδοκυττάρειες δομές της πρωτεΐνης. Ένας εκ των επιτόπων εμφανίζει ομολογία, και ενδεχομένως μοριακή μίμηση, με ένα τμήμα της πρωτεΐνης TAX1BP1. Τέλος, μια υποομάδα ασθενών με RRMS αναγνωρίζει έναν εκ των γραμμικών επιτόπων της NMO, και πιο συγκεκριμένα τον AQPper8, υποδηλώνοντας έναν κοινό ή συγκλίνοντα αιτιοπαθογενετικό μηχανισμό για την απομυελίνωση στα 2 νοσήματα. Οι ανωτέρω παρατηρήσεις βρίσκονται επίσης σε συμφωνία με το πρόσφατο εύρημα ενδοκυττάρων T κυτταρικών επιτόπων στην NMO. Δεν είναι ωστόσο σαφές εάν τα αντισώματα αυτά έχουν παθογενετικό ρόλο στην MS και την Οπτική Νευρομυελίτιδα, ή αν αποτελούν επιφαινόμενο της αστροκυτταρικής βλάβης.



## 2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΑΓΓΛΙΚΗ – ABSTRACT

The incidence and prevalence of Central Nervous System (CNS) involvement in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) remains unclear owing to conflicting results in the published studies. The aim of the study was to evaluate the incidence and prevalence of major definite CNS events in SLE patients.

370 SLE patients with no previous history of CNS involvement were prospectively evaluated for 3 years. Major CNS manifestations were codified according to the American College of Rheumatology (ACR) definitions, including chorea, aseptic meningitis, psychosis, seizures, myelopathy, demyelinating syndrome, acute confusional state and strokes. Minor CNS events were excluded. ECLAM and SLEDAI-SELENA Modification scores were used to evaluate disease activity and SLICC/ACR Damage Index was used to assess accumulated damage.

Sixteen out of 370 (4.3%) patients presented with a total of 23 major CNS events. These included seizures (35%), strokes (26%), myelopathy (22%), optic neuritis (8.7%), aseptic meningitis (4.3%) and acute psychosis (4.3%). Incidence was 7.8 cases/ 100 person years. Among hospitalizations for SLE, 13% were due to CNS manifestations. Epileptic seizures were associated with high disease activity, while myelopathy correlated with lower disease activity and NMO-IgG antibodies ( $P \leq 0.05$ ). Stroke incidence correlated with APS coexistence ( $P = 0.06$ ). Overall, CNS involvement correlated with high ECLAM and SLEDAI scores ( $P < 0.001$ ).

Clinically severe CNS involvement is rare in SLE patients, accounting for 7.8 cases / 100 person years. CNS involvement correlates with high disease activity and coexistence of specific features that define the respective CNS syndromes.

The second part of the study evaluated the specificity of the autoantibodies against aquaporin-4 (AQP4), a marker and a pathogenetic factor in Neuromyelitis Optica (NMO, Devic's syndrome). The aim of the study was to identify B-cell antigenic linear epitopes of the AQP4 protein and investigate similarities with other molecules. Finally, the study also aimed to evaluate whether any Multiple Sclerosis (MS) patients also harbor antibodies against AQP4.

Sera from 21 patients positive for anti-AQP4 antibodies, 23 SLE and 23 pSS patients without neurologic involvement (disease controls) and from 28 healthy individuals (normal controls)

were used. Finally, sera from 45 patients with relapsing-remitting MS (RRMS) and 13 patients with primary progressive MS (PMS) were also evaluated. Eleven peptides, spanning the entire intracellular and extracellular domains of the AQP4 molecule, were synthesized, and all sera were screened for anti-peptide antibodies by ELISA. Specificity was evaluated by homologous inhibition assays.

NMO-positive sera exhibited reactivity against 3 different peptides spanning the sequences aa1-22 (AQPpep1) (42.9% of patients), aa88-113 (AQPpep4) (33%) and aa252-275 (AQPpep8) (23.8%). All epitopes were localized in the intracellular domains of AQP4. Homologous inhibition rates were ranging from 71.1% to 84.3%. A 73% sequence homology was observed between AQPpep8 aa257-271 and the aa219-233 domain of the Tax1-HTLV-1 binding protein (TAX1BP1), a host protein associated with replication of the HTLV-1 virus. Antibodies against the AQP4 and the TAX1BP1 15-mer peptides were detected in 26.3% (N=5) and 31.6% (N=6) of NMO-positive sera, respectively ( $r_s=0.81$ ,  $P<0.0001$ ). Healthy controls did not react with these peptides, while homologous and cross-inhibition assays confirmed binding specificity. When the RRMS sera were evaluated, they all tested negative for anti-AQP4 antibodies using Cell Based Assays (CBA), but surprisingly 13% of them reacted with the peptide AQPpep8 (aa252-275). PMS sera showed no specific reactivity.

This first epitope mapping for AQP4 revealed that a significant proportion of anti-AQP4 antibodies target linear epitopes localized in the intracellular domains of the channel. One of the epitopes displays molecular mimicry with a portion of TAX1BP1 protein. Finally, a subset of RRMS patients recognizes one of the linear AQP4 epitopes found in NMO (AQPpep8), suggesting a common or convergent pathogenetic mechanism for demyelination. This observation is also in agreement with the recent finding of intracellular AQP4 T-cell epitopes in NMO patients. It is not clear whether these antibodies in both MS and NMO have a pathogenetic potential or are simply markers of astrocytic damage.

# **3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **3.1 ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ**

#### **3.1.1 Κλινικές Παρατηρήσεις**

Η νευρολογική προσβολή είναι μία συνήθης εκδήλωση των αυτοανόσων νοσημάτων, η οποία συνοδεύεται από υψηλή νοσηρότητα και θνητότητα [1]. Ως γνωστόν, το φάσμα των αυτοανόσων νοσημάτων εκτείνεται από την οργανοειδική αυτοανοσία (Πολλαπλή Σκλήρυνση, θυρεοειδίτιδα Hashimoto, κ.α.) έως τα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα (Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, συστηματικές αγγειίτιδες, κ.α.), τα οποία μπορούν να προσβάλλουν ένα μεγάλο αριθμό συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού. Η νευρολογική προσβολή μπορεί να αποτελέσει τμήμα τόσο της οργανοειδικής αυτοανοσίας, με νοσήματα όπως η Πολλαπλή Σκλήρυνση (Multiple Sclerosis, MS) [2], η Οπτική Νευρομυελίτιδα (Neuromyelitis Optica, NMO) [3], το Σύνδρομο Guillain-Barré [4], αλλά και πιο σπάνια, όπως η αγγειίτιδα του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ) [5] και το Stiff-Person Syndrome [6], όσο και της συστηματικής, στα πλαίσια νοσημάτων όπως ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ), το Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (Antiphospholipid Syndrome, APS), το Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren's (pSS) και οι συστηματικές αγγειίτιδες [1,7]. Τέλος, ένα μεγάλο κομμάτι της ανοσολογικής προσβολής του νευρικού συστήματος αφορά στα λεγόμενα παρανεοπλασματικά σύνδρομα, όπου η ενεργοποίηση του ανοσολογικού συστήματος από συμπαγείς όγκους, όπως ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα, ο καρκίνος του μαστού, κ.α., οδηγεί σε εκδηλώσεις από το νευρικό σύστημα, όπως είναι το σύνδρομο Lambert-Eaton, η παρεγκεφαλιδική αταξία και η μεταιχμιακή εγκεφαλίτιδα (limbic encephalitis) [8].

Ειδικότερα όσον αφορά στα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, η νευρολογική βλάβη παρουσιάζει μεγάλες διακυμάνσεις, τόσο στη συχνότητά της, όσο και στην ποικιλία των

εκδηλώσεων και τους υποκείμενους αιτιοπαθογενετικούς μηχανισμούς. Οι πιθανές νευρολογικές εκδηλώσεις των διαφόρων συστηματικών αυτοανόσων νοσημάτων παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 1.

**Πίνακας 1: Νευρολογικές Εκδηλώσεις των Συστηματικών Αυτοανόσων Νοσημάτων**

Νόσημα	Νευρολογικές Εκδηλώσεις
Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος	Άσηπτη Μηνιγγίτιδα, ΑΕΕ, Απομυελινωτικό Σύνδρομο, Κεφαλαλγία, Χορεία, Μυελοπάθεια, Επιληπτικές Κρίσεις, Αγχώδεις Διαταραχές, Ψύχωση, Σύνδρομο Guillain-Barré, Περιφερική Νευροπάθεια, Μυασθένεια Gravis, Διαταραχές του Αυτονόμου.
Αντιφωσfolιπιδικό Σύνδρομο	ΑΕΕ, Κεφαλαλγία, Χορεία, Απομυελίνωση, Εγκάρσια Μυελίτιδα.
Νόσος Αδαμαντιάδη- Behcet	Προσβολή Εγκεφαλικού Στελέχους, ΑΕΕ, Επιληπτικές Κρίσεις, Παράλυση Εγκεφαλικών Συζυγιών, Πολυεστιακή Εγκεφαλική Βλάβη, Μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, Κεφαλαλγία, Θρόμβωση Φλεβώδους Κόλπου.
Συστηματικές Αγγειίτιδες	Περιφερική Νευροπάθεια, Πολλαπλή Μονονευρίτιδα, ΑΕΕ.
Κροταφική Αρτηρίτιδα	Κεφαλαλγία, Απώλεια Όρασης, ΑΕΕ.
Αρτηρίτιδα Takayasu	ΑΕΕ, Παροδική Αμαύρωση, Απώλεια Όρασης, Κεφαλαλγία.

Σύνδρομο Sjögren's	Περιφερική Νευροπάθεια, Μυελοπάθεια, Μη Ειδικές Εστίες της Λευκής Ουσίας του Εγκεφάλου.
Ρευματοειδής Αρθρίτιδα	Ατλαντοαξονικό Υπεξάρθρημα με τραυματισμό του Νωτιαίου Μυελού, Περιφερική Νευροπάθεια, Παχυμηνιγγίτιδα, Ρευματικά Οζίδια, Αγγειίτιδα, Μυοσίτιδα.
Αγκυλοποιητική Σπονδυλαρθρίτιδα	Στένωση Σπονδυλικών Τρημάτων και Νωτιαίου Σωλήνα.
Συστηματικό Σκληρόδερμα  Γραμμικό Σκληρόδερμα Τύπου «Coup de Sabre»	Εγγύς Μυοπάθεια, Προσβολή Βραγχιονίου Πλέγματος.  Επιληπτικές Κρίσεις, Κεφαλαλγία.
Σαρκοείδωση	Προσβολή Εγκεφαλικών Συζυγιών, Λευκοεγκεφαλοπάθεια, Άσηπτη Μηνιγγίτιδα, Περιφερική Νευροπάθεια, Μυοπάθεια, Μυελοπάθεια.
Δερματομυοσίτιδα- Πολυμυοσίτιδα	Εγγύς Μυοπάθεια
Μικτή Νόσος Συνδετικού Ιστού	Εγγύς Μυοπάθεια

*\*Προσαρμοσμένος από Sofat et al, QJM, 2006.*

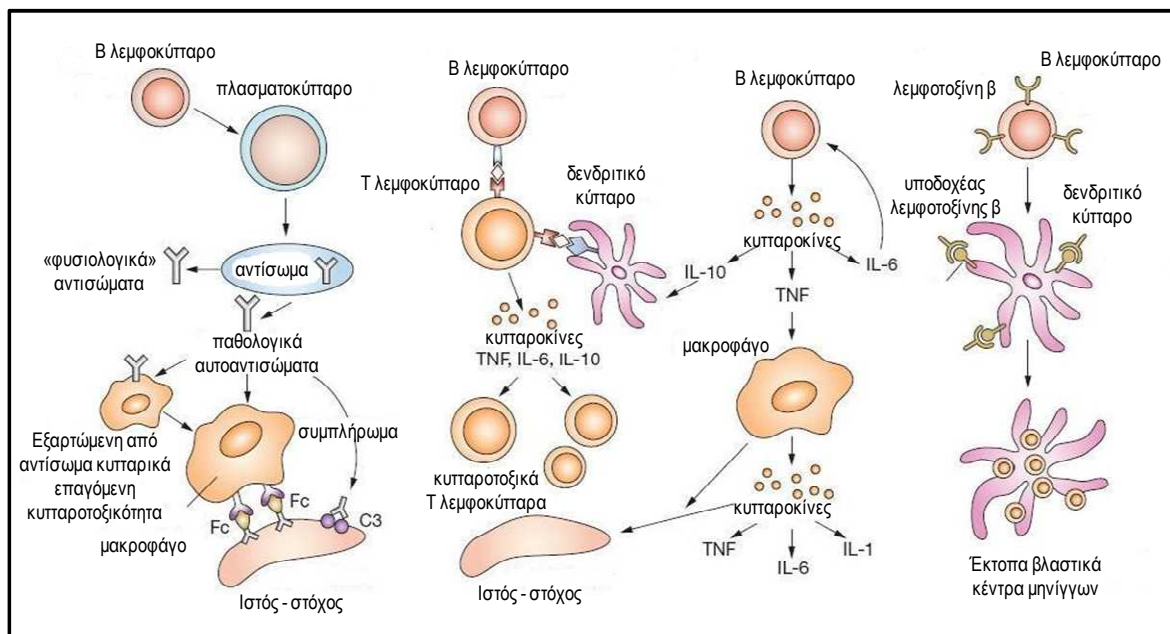
### 3.1.2. Παθοφυσιολογία

Οι αιτιοπαθογενετικοί μηχανισμοί που οδηγούν στην αυτοάνοση νευρολογική προσβολή είναι ιδιαίτερα περίπλοκοι, και τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται εντατική έρευνα, ιδίως στους τομείς των οργανοειδικών νευρολογικών συνδρόμων, αλλά και στη συστηματική αυτοανοσία, κυρίως δε στον Συστηματικό Ερυθματώδη Λύκο (ΣΕΛ). Αρχικά επικράτησε η άποψη ότι ο κυρίαρχος ρόλος ανήκει στα Τ λεμφοκύτταρα με τις κυτταροτοξικές και ανοσορρυθμιστικές τους δράσεις. Βασικό ρόλο σε αυτό έπαιξε η παρατήρηση ότι στις εστίες νευρολογικής βλάβης δύο εκ των σημαντικότερων νοσημάτων του ΚΝΣ, δηλαδή της Πολλαπλής Σκλήρυνσης και του Συνδρόμου Guillain-Barré, επικρατούν οι Τ λεμφοκυτταρικές διηθήσεις. Επιπλέον, ειδικά Τ κύτταρα έναντι πρωτεϊνών της μυελίνης είναι υπεύθυνα για τη μεταφορά της νόσου σε ποικίλα ζωικά μοντέλα [9,10], ενώ μόρια όπως η ιντερφερόνη  $\gamma$  που παράγεται από τα TH1 κύτταρα, καθώς και η οστεοποντίνη, μέλος οικογένειας μικρών πρωτεϊνών που συνδέονται με ιντεγκρίνες, και η οποία ρυθμίζει τη λειτουργία των TH1 και TH17 κυττάρων, φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο στην φλεγμονή του νευρικού συστήματος [11,12].

Ο ρόλος των Β λεμφοκυττάρων άρχισε να γίνεται κατανοητός μετά την ανακάλυψη αυτοαντισωμάτων ειδικών για νευρολογικά νοσήματα, ορισμένα εκ των οποίων και με πιθανό παθογενετικό ρόλο [8]. Επιπλέον αποδείξεις για τη συμμετοχή των Β κυττάρων στη φλεγμονώδη διεργασία αποτελούν η κλινική έκπτυσή τους εντός του ΚΝΣ και η παραγωγή ανοσοσφαιρινών σε νοσήματα όπως η MS. Ακόμα, η παρουσία τους, μαζί με ειδικά αντισώματα έναντι της μυελίνης και παράγωγα του συμπληρώματος, εντός των εστιών ιστολογικής βλάβης της MS, αλλά και η βελτίωση των νευρολογικών νοσημάτων με τη χρήση θεραπειών που στρέφονται κατά των Β λεμφοκυττάρων και των αντισωμάτων τους (IVIg, anti-

CD20, κ.α.) [10], συνηγορούν υπέρ της συμμετοχής τους στην ανοσολογική βλάβη του ΚΝΣ. Τέλος, 2 μέλη της οικογένειας των TNF, οι BAFF (B-Cell Activating Factor) και APRIL (a Proliferation Inducing Agent), παράγονται από μακροφάγα και μονοκύτταρα, αλλά και από τα αστροκύτταρα, οδηγώντας σε κλωνική έκπτυξη και εγκατάσταση των B κυττάρων εντός του ΚΝΣ [13,14]. Παρόμοιο ρόλο παίζουν και άλλα μόρια, όπως οι χημειοκίνες CXCL13, 10 και 12, και τα μόρια προσκόλλησης VLA-4 και LFA-1 [10,15]. Πλέον είναι αποδεκτό ότι, τόσο τα T, όσο και τα B λεμφοκύτταρα, σε συνδυασμό με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και το παραγόμενο δίκτυο χημειοκινών και κυτταροκινών, παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ενορχήστρωση της φλεγμονώδους διεργασίας στο νευρικό σύστημα (Εικόνα 1).

**Εικόνα 1: Αλληλεπίδραση B, T και αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων στα πλαίσια της ενεργοποίησης του ανοσολογικού συστήματος στα νευρολογικά νοσήματα.**



\*Προσαρμοσμένη από Dalakas et al, Nat Clin Pract Neurol, 2008



Τέλος, στα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, και δη στο Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο, η αποσαφήνιση της αιτιοπαθογένειας της νευρολογικής προσβολής είναι ένα περισσότερο περίπλοκο ζήτημα, και έχουν κατά καιρούς προταθεί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τη δράση αυτοαντισωμάτων, την μικροαγγειοπάθεια και τη δράση διαφόρων κυτταροκινών [7]. Ωστόσο, βασικός μοχλός όλων των ανωτέρω διεργασιών παραμένει η αλληλεπίδραση των κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος και του ευρέος δικτύου προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, με τελικό αποτέλεσμα την κυτταρική βλάβη και φλεγμονή.

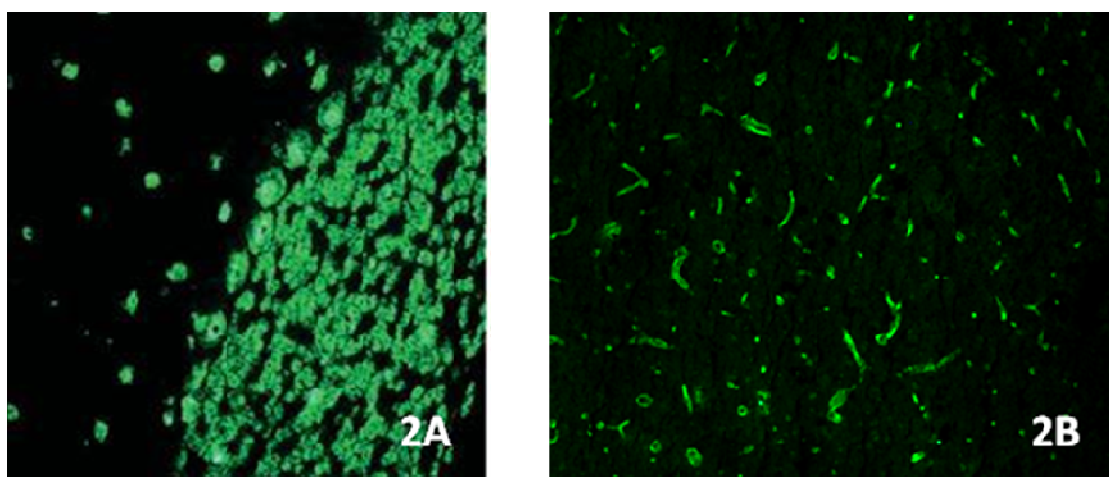
### **3.1.3. Ειδικά Αυτοαντισώματα**

Τα ειδικά για νευρολογικά νοσήματα αυτοαντισώματα μπορεί να είναι είτε έναντι κυτταροπλασματικών και πυρηνικών αντιγόνων, και θεωρούνται κατά βάση ένα επιφανόμενο της κυτταροτοξικής δράσης των T λεμφοκυττάρων που απελευθερώνει προηγουμένως προστατευμένους από το ανοσολογικό σύστημα επιτόπους, είτε έναντι μεμβρανικών πρωτεϊνών. Η δεύτερη κατηγορία αντισωμάτων έχει πιθανότατα παθογενετική δράση, είτε με άμεση δράση επί των μεμβρανικών πρωτεϊνών, είτε έμμεσα, μέσω ενδοκυττάρωσής τους και ενεργοποίησης του συμπληρώματος [8].

Στην ομάδα των κυτταροπλασματικών και πυρηνικών αντιγόνων ανήκουν αυτοαντισώματα κυρίως σχετιζόμενα με παρανεοπλασματικά σύνδρομα, όπως τα ANNA-1/ anti-Hu, ANNA-2/ anti-Ri, PCA-1/ anti-Yo, anti-Amphiphysin-IgG (*Εικόνα 2Α*) [16,17], σχετιζόμενα με συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα, όπως τα αντι-ριβωσωμικά (anti-RibP) και τα αντιφωσφολιπιδικά (aPL) αντισώματα [18,19], αλλά και αντισώματα όπως το anti-GAD-65, το οποίο έχει συσχετιστεί με το Stiff-Person Syndrome και τον Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου I [6,20]. Τέλος, στην ομάδα των

αντισωμάτων έναντι μεμβρανικών πρωτεϊνών ανήκουν αυτοαντισώματα όπως τα anti-AchR (έναντι του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης) [21] και MuSK (Muscle Specific Kinase) [22] για την Μυασθένεια Gravis, και τα NMO-IgG/ anti-AQP4 για την Οπτική Νευρομυελίτιδα (Εικόνα 2B) [8].

**Εικόνα 2: Απεικόνιση νευρο-ειδικών αυτοαντισωμάτων με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού.**



**A.** ANNA-1/ anti-Hu αντισώματα σε τομές φλοιού παρεγκεφαλίδας ποντικού.  
**B.** NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα σε τομές εγκεφάλου ποντικού.

### **3.2 ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΣΤΑ ΠΛΑΙΣΙΑ ΤΗΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗΣ ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑΣ: ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟΣ ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΗΣ ΛΥΚΟΣ**

#### **3.2.1. Ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος ως Πολυσυστηματικό Αυτοάνοσο Νόσημα**

Ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ) είναι το πρότυπο συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα, το οποίο μπορεί να προσβάλλει πρακτικά όλα τα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού. Έχει χρόνια πορεία, με εξάρσεις και υφέσεις, ενώ ο επιπολασμός του είναι 52.2/100.000 στις ΗΠΑ, με μια σαφή επικράτηση του γυναικείου φύλου (Λόγος Ανδρών/

Γυναικών: 1/9) [23]. Η διάγνωση της νόσου μπορεί να είναι ιδιαίτερα περίπλοκη, δεδομένου ότι εμφανίζει ποικίλα σημεία και συμπτώματα από μεγάλο αριθμό οργάνων και ιστών. Τα αναθεωρημένα κριτήρια του American College of Rheumatology (ACR) (1997) για τη διάγνωση του ΣΕΛ [24] παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

**Πίνακας 2: Διαγνωστικά Κριτήρια του ΣΕΛ (ACR, 1997)**

Κριτήριο	Ορισμός
1. Εξάνθημα πεταλούδας	Εξάνθημα με σαφή όρια, επίπεδο ή επηρμένο, στα ζυγωματικά
2. Δισκοειδές εξάνθημα	Ερυθματώδεις κυκλικές περιοχές με απολέπιση και απόφραξη των θυλάκων της τρίχας, με πιθανότητα ατροφικής ουλοποίησης
3. Φωτοευαισθησία	Εξάνθημα ως αποτέλεσμα ασυνήθους αντίδρασης στην ηλιακή ακτινοβολία
4. Έλκη βλεννογόνων	Στοματικά ή ρινοφαρυγγικά έλκη, συνήθως ανώδυνα
5. Μη διαβρωτική αρθρίτιδα	Άλγος και οίδημα σε 2 ή περισσότερες περιφερικές αρθρώσεις
6. Ορογονίτιδα	<b>Πλευρίτιδα:</b> Πλευριτικό άλγος ή ήχος τριβής ή ενδείξεις πλευριτικής συλλογής <b>Ή</b> <b>Περικαρδίτιδα:</b> τεκμηριωμένη με ηλεκτροκαρδιογράφημα ή ήχο τριβής ή περικαρδιακή συλλογή
7. Νεφρική προσβολή	Επίμονη πρωτεϊνουρία ή κυτταρικοί κύλινδροι στα ούρα
8. Νευρολογική προσβολή	Επιληπτικές κρίσεις ή Ψύχωση
9. Προσβολή αιμοποιητικού	Αιμολυτική αναιμία ή Λευκοπενία ή Θρομβοκυτταροπενία
10. Ανοσολογικές διαταραχές	Θετική εξέταση για αντισώματα έναντι διπλής έλικας DNA (anti-dsDNA), anti-Sm, ή αντισώματα έναντι φωσφολιπιδίων (aPL)
11. Αντιπυρηνικά αντισώματα	Θετική εξέταση για αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA)

Παρά τα ανωτέρω κριτήρια, η διάγνωση του ΣΕΛ παραμένει ζήτημα κλινικής εκτίμησης και μπορεί να πραγματοποιηθεί και επί απουσίας  $\geq 4$  από τα επίσημα κριτήρια. Άλλα σημεία και συμπτώματα τα οποία παρατηρούνται συχνά στον ΣΕΛ περιλαμβάνουν τις αρθραλγίες, τον πυρετό, την γενικότερη καταβολή και κακουχία, τη λεμφαδενοπάθεια, τα γαστρεντερικά συμπτώματα και ποικίλου τύπου δερματικά εξανθήματα [23], ενώ το φάσμα της νόσου μπορεί να κυμαίνεται από πολύ ήπια έως βαρύτατη, με προσβολή πολλαπλών οργάνων και σοβαρές επιπλοκές.

Η παθογένεση του ΣΕΛ παραμένει ασαφής, παρ' όλο που φαίνεται ότι η απόπτωση παίζει σημαντικό ρόλο, επιτρέποντας την απελευθέρωση ενδοκυττάρων αντιγόνων. Έχουν προταθεί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν την ελαττωματική κάθαρση των κυττάρων που αποπίπτουν, με επακόλουθο την πρόσληψή τους από μακροφάγα, τα οποία εν συνεχεία παρουσιάζουν τμήματά τους στα Β και Τ κύτταρα, οδηγώντας έτσι στην επαγωγή της ανοσολογικής αντίδρασης. Ακόμα, σημαντικός φαίνεται να είναι ο ρόλος διαφόρων κυτταροκινών, και ειδικότερα της ιντερφερόνης  $\gamma$ , ενώ η νόσος επηρεάζεται τόσο από γενετικούς, όσο και από περιβαλλοντικούς και ορμονικούς παράγοντες [23].

### **3.2.2. Η Νευρολογική Προσβολή στον ΣΕΛ: Επισκόπηση και Κλινικές Εκδηλώσεις**

Η νευρολογική προσβολή θεωρείται μια από τις πιο σημαντικές κλινικές εκδηλώσεις του νοσήματος, και έχει ως εκ τούτου περιληφθεί στα κριτήρια για τη διάγνωση του ΣΕΛ, αν και μόνο υπό τη μορφή των επιληπτικών κρίσεων και της ψύχωσης. Εν τούτοις, η νευρολογική προσβολή στον ΣΕΛ περιλαμβάνει μια εξαιρετικά ευρεία γκάμα εκδηλώσεων, τόσο από το Κεντρικό (ΚΝΣ) όσο και από το Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ). Μέχρι το τέλος της

δεκαετίας του '90 δεν υπήρχε σαφής ταξινόμηση των ποικίλων νευρολογικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ. Το 1999, το American College of Rheumatology (ACR) δημιούργησε ένα νέο σύστημα ονοματολογίας και ταξινόμησης για το «Νευροψυχιατρικό Λύκο», το οποίο περιελάμβανε ορισμούς για 19 νευροψυχιατρικά σύνδρομα σχετιζόμενα με τον ΣΕΛ, καθώς και αποκλεισμούς, συσχετίσεις και συστάσεις για διαγνωστικές εξετάσεις, απεικονιστικής και εργαστηριακής φύσεως [24] (Πίνακας 3).

**Πίνακας 3: Ορισμοί των Νευροψυχιατρικών Συνδρόμων του ΣΕΛ (ACR, 1999)**

Κεντρικό Νευρικό Σύστημα	Περιφερικό Νευρικό Σύστημα
Άσηπτη Μηνιγγίτιδα	Σύνδρομο Guillain - Barré
Αγγειακή Εγκεφαλική Συνδρομή	Διαταραχές του Αυτονόμου
Απομυελινωτική Νόσος	Απλή/ Πολλαπλή Μονονευρίτιδα
Κεφαλαλγία	Μυασθένεια Gravis
Κινητικές Διαταραχές (Χορεία)	Κρανιακή Νευροπάθεια
Μυελοπάθεια	Πλεξοπάθεια
Επιληπτικές Κρίσεις	Πολυνευροπάθεια
Οξεία Συγχυτική Κατάσταση	
Αγχώδης Διαταραχή	
Γνωσιακή Δυσλειτουργία	
Διαταραχές Διάθεσης	
Ψύχωση	

Παρά το γεγονός ότι οι ορισμοί του ACR βελτίωσαν σε μεγάλο βαθμό τη δυνατότητα περιγραφής και κατηγοριοποίησης της νευροψυχιατρικής προσβολής στον ΣΕΛ, παραμένουν

ζητήματα τα οποία περιορίζουν την αποτελεσματική εφαρμογή των ορισμών αυτών στην καθ' ημέρα κλινική πράξη. Ειδικότερα, τα λεγόμενα «ελάσσονα» συμβάματα, τα οποία περιλαμβάνουν την κεφαλαλγία, την ήπια κατάθλιψη, τις αγχώδεις διαταραχές, την υποκλινική γνωσιακή δυσλειτουργία και την πολυνευροπάθεια με αρνητικό ηλεκτρομυογράφημα (ΗΜΓ) και ηλεκτρονευρογράφημα (ΗΝΓ), μπορούν να εμφανιστούν με μεγάλη συχνότητα και σε πληθυσμούς μη πάσχοντες από ΣΕΛ. Ο αποκλεισμός δε των ανωτέρω συμβαμάτων φάνηκε να οδηγεί σε αύξηση της ειδικότητας των κριτηρίων του ACR από 46% στο 93% [25,26]. Επιπλέον, μελέτες οι οποίες εφάρμοσαν μοντέλα απόδοσης των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων στη νόσο, λαμβάνοντας υπ' όψιν τους ζητήματα όπως την χρονική έναρξη των εκδηλώσεων, τη συμμετοχή παραγόντων μη σχετιζόμενων με τον ΣΕΛ, καθώς και τον ορισμό του συμβάματος ως «ελάσσονος» [27], αποκάλυψαν ένα μεγάλο ποσοστό νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων οι οποίες δεν οφείλονταν στον ΣΕΛ, αλλά απλώς συνυπήρχαν με αυτόν (69% επί του συνολικού αριθμού των συμβαμάτων) [28]. Ως εκ τούτου, οι πρόσφατες οδηγίες της EULAR για τη διάγνωση και αντιμετώπιση του ΣΕΛ με νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις (NPSLE) αναθεώρησαν τα προϋπάρχοντα κριτήρια του ACR, δίνοντας έμφαση στις κλινικά σημαντικές εκδηλώσεις, οι οποίες μπορούν με σχετική σαφήνεια να αποδοθούν στο νόσημα. Αυτές περιλαμβάνουν κατά βάση τις επιληπτικές κρίσεις, την αγγειακή εγκεφαλική συνδρομή, την μυελοπάθεια και την γνωσιακή δυσλειτουργία [29].

Τέλος, σημαντική είναι η διάκριση των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ σε διάχυτες και εστιακές, καθώς ενδέχεται να οφείλονται σε διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς και ως εκ τούτου να χρήζουν διαφορετικής αντιμετώπισης. Οι διάχυτες περιλαμβάνουν την άσηπτη μηνιγγίτιδα, το απομυελινωτικό σύνδρομο, την οξεία συγχυτική κατάσταση, την

ψύχωση και την γνωσιακή δυσλειτουργία, καθώς και τις μη ειδικές κεφαλαλγίες, αγχώδεις διαταραχές και διαταραχές διάθεσης. Στις εστιακές εκδηλώσεις περιλαμβάνονται τα αγγειακά εγκεφαλικά συμβάματα, οι κινητικές διαταραχές, η μυελοπάθεια, οι επιληπτικές κρίσεις, η μυασθένεια Gravis και οι περιφερικές νευροπάθειες [30].

### **3.2.3. Επιδημιολογία**

Η αναφερόμενη συχνότητα της νευρολογικής προσβολής στον ΣΕΛ ποικίλει ευρέως, εξ' αιτίας παραγόντων όπως ο σχεδιασμός των διαφόρων μελετών, η διαγνωστική προσέγγιση των ασθενών και τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά αυτών [7,31]. Μία πρόσφατη μετα-ανάλυση κατέληξε σε επιπολασμό των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων της τάξης του 56.3% [31], ενώ μια πολυκεντρική προοπτική μελέτη, η οποία περιελάμβανε 1206 ασθενείς με ΣΕΛ, ανέφερε ότι η συνολική συχνότητα των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων στο ΣΕΛ είναι 40.3%, εκ των οποίων μόνο το 13-24.6% μπορεί να αποδοθεί με βεβαιότητα στη νόσο [28]. Οι πιο συνήθεις εκδηλώσεις είναι οι κεφαλαλγίες (20-40%), οι διαταραχές διάθεσης (10-20%), η γνωσιακή δυσλειτουργία (10-20%), οι επιληπτικές κρίσεις (7-10%) και τα αγγειακά εγκεφαλικά συμβάματα (7-10%), ενώ η προσβολή του ΠΝΣ είναι σπάνια (3-8% του συνόλου των εκδηλώσεων) [28,31,32]. Ωστόσο, μετά από αποκλεισμό των «ελάσσονων» συμβαμάτων και με επικέντρωση στις κλινικά σημαντικές εκδηλώσεις του ΣΕΛ, οι συνηθέστερες διαταραχές περιλαμβάνουν τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και τις επιληπτικές κρίσεις (αθροιστική επίπτωση 5–15%). Σχετικά ασυνήθεις (1–5%) είναι η σοβαρή γνωσιακή δυσλειτουργία, η οξεία συγχυτική κατάσταση, η ψύχωση και οι πολυνευροπάθειες, ενώ οι υπόλοιπες εκδηλώσεις είναι σπάνιες (<1%) [29].

Στις δημοσιευμένες σειρές παρατηρείται αυξημένη επίπτωση των νευρολογικών συμβαμάτων τα πρώτα χρόνια της νόσου. Περίπου το 40% των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ εμφανίζεται πριν ή κατά τη διάγνωση της νόσου, και το 63% εντός του 1<sup>ου</sup> έτους από τη διάγνωση. Αντιθέτως, συγκεκριμένες νευρολογικές εκδηλώσεις, όπως η γνωσιακή δυσλειτουργία και η αγγειακή εγκεφαλική νόσος, φαίνεται να συσχετίζονται με μεγαλύτερη ηλικία και με την πρόοδο του νοσήματος [7,28,33].

#### **3.2.4. Απεικόνιση και Εργαστηριακές Εξετάσεις**

Η διαγνωστική προσέγγιση στους ασθενείς με ΣΕΛ και νευρολογικά συμπτώματα οφείλει να είναι η ίδια όπως και σε κάθε ασθενή του γενικού πληθυσμού. Συνεπώς, απαιτείται η διεξαγωγή απεικονιστικού, εργαστηριακού και ηλεκτροφυσιολογικού ελέγχου, τόσο για τη διερεύνηση του εκάστοτε νευρολογικού συμβάματος, όσο και για τον αποκλεισμό μη σχετιζόμενων με τον ΣΕΛ αιτιών, όπως λοιμώξεων, παρενεργειών της φαρμακευτικής αγωγής, μεταβολικών και άλλων διαταραχών [7,34,35]. Δυστυχώς, η συχνά μη ειδική φύση των συμπτωμάτων και των νευροαπεικονιστικών ευρημάτων, καθώς και η σχετική έλλειψη ειδικών διαγνωστικών εξετάσεων, περιπλέκουν τη διαγνωστική διαδικασία.

Τα νευροαπεικονιστικά ευρήματα είναι μη ειδικά και διαφέρουν ανάλογα με τις εκάστοτε εκδηλώσεις. Η Μαγνητική Τομογραφία (MRI) θεωρείται εξέταση εκλογής για την απεικόνιση του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού (μέση ευαισθησία 57%) [29]. Η συμβατική MRI περιλαμβάνει τις T<sub>1</sub> και T<sub>2</sub> ακολουθίες, την Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) και την T<sub>1</sub> ακολουθία με ενδοφλέβια χορήγηση γαδολίνιου. Το συνηθέστερο εύρημα είναι οι υπέρπυκνες εστιακές αλλοιώσεις της λευκής ουσίας. Σε μία πρόσφατη μελέτη, το 49% των



ασθενών κατά το πρώτο νευροψυχιατρικό επεισόδιο εμφάνιζαν εστιακές υπέρπυκνες αλλοιώσεις στην λευκή ουσία. Άλλοι τύποι αλλοιώσεων στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν οι πιο εκτεταμένες, διάχυτες υπέρπυκνες αλλοιώσεις στην λευκή ουσία, καθώς και η διάχυτη βλάβη της φαιάς ουσίας του φλοιού [36]. Ωστόσο, παρά το ότι είναι οι συνηθέστερες, οι μικρές, υπέρπυκνες αλλοιώσεις της λευκής ουσίας είναι μη ειδικές για τη νευρολογική προσβολή (Εικόνα 3). Αντιθέτως, οι πιο ευμεγέθεις υπέρπυκνες αλλοιώσεις και τα έμφρακτα, αν και πιο σπάνια, επιδεικνύουν μεγαλύτερη ειδικότητα, καθώς και συσχέτιση με την κλινική έκβαση [37,38]. Τέλος, η MRI εμφανίζει συνηθέστερα ευρήματα σε ασθενείς θετικούς για αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα [39] και σε εστιακές νευρολογικές εκδηλώσεις [40].

**Εικόνα 3: Μη ειδικές υπέρπυκνες αλλοιώσεις της λευκής ουσίας (μαύρα βέλη), σε ασθενή με ΣΕΛ και προσβολή του ΚΝΣ.**



Οι FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) και T<sub>2</sub> ακολουθίες επιτρέπουν μια πιο ξεκάθαρη απεικόνιση των υπέρπυκνων αλλοιώσεων, ήτοι της φλεγμονής και του οιδήματος. Οι εστίες στην FLAIR ακολουθία είναι πιο εμφανείς και πιο εύκολα διακριτές από μη ειδικά ευρήματα,

αυξάνοντας την διαγνωστική ευαισθησία της εξέτασης κατά 5% περίπου [41]. Αντιθέτως, οι T<sub>1</sub> ακολουθίες απεικονίζονται συνήθως φυσιολογικές.

Η εγκεφαλική ατροφία είναι μια άλλη συνήθης ανωμαλία που επισυμβαίνει έως και στο 32% των ασθενών με νευροψυχιατρικό ΣΕΛ, και ειδικότερα σε αυτούς με πιο μακροχρόνια πορεία νόσου, ιστορικό εγκεφαλικής ισχαιμίας και υψηλότερη αθροιστική δόση κορτικοστεροειδών [42,43]. Ο βαθμός εγκεφαλικής ατροφίας μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με ειδικά MRI πρωτόκολλα, ενώ η ποσοτικοποίηση των εστιακών αλλοιώσεων στις T<sub>2</sub> ακολουθίες προσφέρει τη δυνατότητα διάκρισης οξείων από χρόνιες βλάβες [44]. Ωστόσο, η φυσιολογική απεικόνιση στη συμβατική MRI είναι συνήθης στο νευροψυχιατρικό ΣΕΛ, κάτι το οποίο οδήγησε σε προσπάθειες για την αξιοποίηση άλλων MR τεχνικών, με στόχο την αύξηση της ευαισθησίας κατά την αξιολόγηση των ασθενών με ΣΕΛ.

Οι νευροαπεικονιστικές αυτές τεχνικές, όπως η Μαγνητική Φασματοσκοπία (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS), η Υπολογιστική Τομογραφία Εκπομπής Μονήρους Φωτονίου (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) και η 2-18F-Fluoro-2-Deoxyglucose (FDG) Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων (Positron Emission Tomography, PET), έχουν εφαρμοστεί σε ασθενείς με ΣΕΛ και νευροψυχιατρική προσβολή, αλλά η χρήση τους παραμένει σε ερευνητικό επίπεδο και δεν έχει περάσει στην καθ' ημέρα κλινική πράξη.

Δύο νευρολογικά σύνδρομα τα οποία πρέπει να διαφοροδιαγιγνώσκονται από το νευροψυχιατρικό ΣΕΛ είναι η Προοδευτική Πολυεστιακή Λευκοεγκεφαλοπάθεια (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy, PML) και η Αναστρέψιμη Οπίσθια Λευκοεγκεφαλοπάθεια (Reversible Posterior Leukoencephalopathy Syndrome, RPLS). Η ανοσοανεπάρκεια ή η φαρμακευτική ανοσοκαταστολή θεωρούνται απαραίτητες για την εκδήλωση της Προοδευτικής

Πολυεστιακής Λευκοεγκεφαλοπάθειας (PML), η οποία οφείλεται σε ενεργοποίηση του ιού JCV, και περίπου 2% των περιπτώσεων εμφανίζεται σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα. Ειδικότερα, οι ασθενείς με ΣΕΛ υπολογίζεται πως έχουν αυξημένη επίπτωση για το σύνδρομο, της τάξης των 4 περιπτώσεων / 100 000, ενώ το 40% των περιπτώσεων λαμβάνουν μόνο ήπια ανοσοκατασταλτική αγωγή. Τα ανωτέρω οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η νόσος αυτή καθ' εαυτή μπορεί να είναι εν μέρει υπεύθυνη για την εμφάνιση της PML. Η διαφορική διάγνωση στους ασθενείς αυτούς απαιτεί MRI με T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> και FLAIR ακολουθίες με ενδοφλέβια χορήγηση γαδολινίου [45], καθώς και διενέργεια PCR για τον εντοπισμό του αιτιολογικού παράγοντα, του ιού JCV, στο ENY ή σε δείγμα εγκεφαλικής βιοψίας [46,47].

Η Αναστρέψιμη Οπίσθια Λευκοεγκεφαλοπάθεια (RPLS) εμφανίζεται τόσο στον γενικό πληθυσμό, όσο και σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, και δη στον ΣΕΛ και τις αγγειίτιδες. Η κλινική της εικόνα στον ΣΕΛ είναι ίδια με του γενικού πληθυσμού και περιλαμβάνει υπέρταση, διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, οπτικές διαταραχές και επιληπτικές κρίσεις [48,49]. Η απεικόνιση είναι χαρακτηριστική, με αμφοτερόπλευρο ασύμμετρο αγγειογενές οίδημα στις οπίσθιες περιοχές των εγκεφαλικών ημισφαιρίων. Σύμφωνα με μελέτες, στο 76.5% των ασθενών με ΣΕΛ η εμφάνιση της RPLS συνδέεται με πρόσφατη έναρξη ή αύξηση της ανοσοκατασταλτικής αγωγής. Παρά ταύτα, η RPLS μπορεί επίσης να αναπτυχθεί στα πλαίσια έξαρσης του νοσήματος, ενώ προτείνονται 2 διαφορετικοί υπότυποι του συνδρόμου. Αφ' ενός η «υπερτασική» RPLS, η οποία υποχωρεί με τη χρήση αντιυπερτασικής και αντιεπιληπτικής αγωγής και σχετίζεται με χαμηλή ενεργότητα του ΣΕΛ, και αφ' ετέρου η «ανοσολογική» RPLS, η οποία επισυμβαίνει στα πλαίσια της έξαρσης του ΣΕΛ, απαιτεί ανοσοκαταστολή για την

αντιμετώπισή της, και ως εκ τούτου μπορεί να θεωρηθεί νευρολογική εκδήλωση της νόσου [48].

Η χρήση του ηλεκτροεγκεφαλογράφηματος (ΗΕΓ), του ηλεκτρομυογραφήματος/ ηλεκτρονευρογραφήματος (ΗΜΓ/ ΗΝΓ), καθώς και της νευροψυχολογικής εκτίμησης με εξειδικευμένες δοκιμασίες, περιορίζεται στα αντίστοιχα επιμέρους νευρολογικά σύνδρομα.

Στα πλαίσια διερεύνησης των νευρολογικών συμβαμάτων συνιστάται η διενέργεια απλών εργαστηριακών εξετάσεων ρουτίνας, η ανάλυση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ΕΝΥ), καθώς και πιθανόν η ανίχνευση ειδικών αυτοαντισωμάτων. Η ανάλυση του ΕΝΥ σε ασθενείς με ενεργό νευροψυχιατρικό ΣΕΛ μπορεί να αναδείξει ήπια πλειοκύτωση (20-100 κύτταρα/ πεδίο), ήπια αύξηση των πρωτεϊνών και μείωση της γλυκόζης, αλλά τα ευρήματα αυτά δεν είναι ειδικά [7]. Παρά ταύτα, η ορθή αξιολόγηση του ΕΝΥ μπορεί να διαφοροδιαγνώσει την νευρολογική προσβολή του ΣΕΛ από άλλα αίτια, όπως λοιμώξεις, ενώ άλλες πιο ειδικές εξετάσεις του ΕΝΥ, όπως η μέτρηση των επιπέδων της IL-6, του IgG index και των ολιγοκλωνικών ζωνών (OCBs), δεν αποτελούν τμήμα της συνήθους πρακτικής.

Τα αυτοαντισώματα με την ισχυρότερη κλινική συσχέτιση με τη νευρολογική προσβολή στον ΣΕΛ είναι τα αντισώματα έναντι φωσφολιπιδίων (aPL), τα αντι-ριβσομικά (anti-RibP), τα αντισώματα έναντι της ακουαπορίνης-4 (NMO-IgG/ anti-AQP4) που εμφανίζονται στους ασθενείς με μυελοπάθεια [50-52], και τα πρόσφατα περιγραφέντα αντισώματα έναντι του υποδοχέα της Ν-μεθυλ-D-ασπαρτάσης (anti-NMDAR/ anti-NR2) [53].

Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (aPL) συμμετέχουν στη δημιουργία μικροαγγειακής θρομβωτικής, εμβολικής και ενδοθηλιακής βλάβης στον εγκέφαλο των ασθενών με ΣΕΛ. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, και ειδικότερα τα αντισώματα έναντι καρδιολιπινών (aCL) και

το αντιπηκτικό του λύκου (LAC), έχουν συσχετισθεί με νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις στον ΣΕΛ [7,54] και πιο συγκεκριμένα με αγγειακά εγκεφαλικά συμβάματα, επιληπτικές κρίσεις, χορεία, μυελοπάθεια, κρανιακή νευροπάθεια, κεφαλαλγίες του τύπου της ημικρανίας και γνωσιακή δυσλειτουργία [7,50,55-58].

Τα αντι-ριβωσωμικά αντισώματα (anti-RibP) βρίσκονται σε ποσοστό έως και 25% των ασθενών με ΣΕΛ και έχουν συσχετισθεί με τη κατάθλιψη και την ψύχωση στους ασθενείς αυτούς [59,60]. Ωστόσο, άλλες μελέτες δεν κατάφεραν να επιβεβαιώσουν τις συσχετίσεις αυτές [61], ενώ μια μετα-ανάλυση κατέδειξε 27% ευαισθησία και 80% ειδικότητα των anti-RibP, κάτι το οποίο συνεπάγεται μειωμένη διαγνωστική αξία της μεθόδου [62].

Τα NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα είναι ένας εξαιρετικά ειδικός δείκτης για την Οπτική Νευρομυελίτιδα (NMO) ή Νόσο του Devic's. Τα αντισώματα αυτά ανιχνεύονται επίσης σε ασθενείς με το λεγόμενο «φάσμα» των NMO σχετιζόμενων συνδρόμων, στα οποία περιλαμβάνονται και απομυελινωτικά σύνδρομα στα πλαίσια συστηματικών αυτοανόσων νοσημάτων, όπως ο ΣΕΛ και το Σύνδρομο Sjögren's. Στον ΣΕΛ και το Σύνδρομο Sjögren's, τα NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα εμφανίζονται αποκλειστικά σε ασθενείς με εγκάρσια μυελίτιδα με συνεχόμενες βλάβες νωτιαίου μυελού, εκτεινόμενες σε 3 τουλάχιστον σπονδυλικά τμήματα (LETM) και/ ή οπτική νευρίτιδα, με τον ίδιο τρόπο όπως και στην τυπική Οπτική Νευρομυελίτιδα [63,64]. Τίθεται συνεπώς το ζήτημα, κατά πόσο πρόκειται για συνύπαρξη δύο διακριτών νοσημάτων, αντί για νευρολογική εκδήλωση στα πλαίσια του ΣΕΛ [52].

Τέλος, μείζονος σημασίας είναι η πρόσφατη ανακάλυψη των anti-NMDAR / anti-NR2 αντισωμάτων και του πιθανού ρόλου τους στο νευροψυχιατρικό ΣΕΛ. Μία υποομάδα anti-DNA

αντισωμάτων φάνηκε να αλληλεπιδρούν με τον NR2 γλουταμινικό υποδοχέα σε ασθενείς με ΣΕΛ, με επακόλουθο το νευρωνικό θάνατο μέσω απόπτωσης *in vivo* και *in vitro*. Σε ποντίκια, η απόπτωση των νευρώνων έχει ως αποτέλεσμα, είτε ατροφία του ιππόκαμπου και διαταραχές της μνήμης, είτε ατροφία της αμυγδαλής και συναισθηματικές διαταραχές [53,65,66].

Στους ανθρώπους, έχει περιγραφεί συσχέτιση της ύπαρξης anti-NR2 αντισωμάτων στο ΕΝΥ ή τον ορό με νευρολογικές εκδηλώσεις στον ΣΕΛ, ιδιαίτερα δε με τη γνωσιακή δυσλειτουργία και την κατάθλιψη, η οποία ωστόσο δεν έχει επιβεβαιωθεί από όλες τις υφιστάμενες μελέτες [67-70].

### **3.2.5. Παράγοντες Κινδύνου - Νοσηρότητα – Θνητότητα**

Οι βασικοί παράγοντες κινδύνου που έχουν συσχετισθεί με νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις στον ΣΕΛ είναι η υψηλή ενεργότητα της νόσου, η βαριά αθροιστική βλάβη, η συνύπαρξη άλλων προηγούμενων ή ταυτόχρονων μείζονων νευροψυχιατρικών συμβαμάτων και η παρουσία των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων.

Πιο συγκεκριμένα, η υψηλή ενεργότητα νόσου, όπως αυτή αξιολογείται με βάση σταθμισμένους δείκτες, συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για νευρολογικές εκδηλώσεις [71,72], και πιο συγκεκριμένα για επιληπτικές κρίσεις και σοβαρή γνωσιακή δυσλειτουργία [73,74]. Νευρολογική προσβολή μπορεί ωστόσο να προκύψει και σε φάσεις χαμηλής ενεργότητας του νοσήματος [50].

Τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και οι επιληπτικές κρίσεις έχουν την τάση να εμφανίζονται επί εδάφους προηγθέντων αντίστοιχων νευρολογικών συμβαμάτων, ενώ οι επιληπτικές

κρίσεις έχουν συσχετισθεί και με ταυτόχρονη ύπαρξη αγγειακής εγκεφαλικής νόσου ή ψύχωσης [55,75,76].

Με το νευροψυχιατρικό ΣΕΛ έχουν συσχετισθεί και οι επίμονα αυξημένοι, μέτριοι προς υψηλοί τίτλοι αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων (aPL) (aCL, anti-β2GPI αντισώματα και Lupus Anticoagulant (LAC)), καθώς και η συνύπαρξη του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου (APS) [54,77,78]. Ειδικότερα, τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια [71,75], οι επιληπτικές κρίσεις [55,56,73], η μυελοπάθεια [50,79], η χορεία [56] και η γνωσιακή δυσλειτουργία [56,74,80] έχουν συνδεθεί με την παρουσία των aPL και του Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου σε ποικίλες μελέτες. Τέλος, οι κλασσικοί παράγοντες κινδύνου, που δεν σχετίζονται άμεσα με τον ΣΕΛ, περιλαμβάνουν την αρτηριακή υπέρταση, την αύξηση της ηλικίας, το κάπνισμα, την λήψη αντισυλληπτικών και τις μεγάλες αθροιστικές δόσεις κορτικοειδών [7,54,77].

Η νευρολογική προσβολή στον ΣΕΛ αυξάνει την αθροιστική βλάβη από τη νόσο [71,81,82], οδηγώντας έτσι σε μεγαλύτερο βαθμό λειτουργικής αναπηρίας [82] και σε συχνότερες νοσηλείες [83]. Από την άλλη πλευρά, τα αποτελέσματα των μελετών σχετικά με την επίδραση της νευρολογικής προσβολής στη θνητότητα είναι αντικρουόμενα [71,84,85]. Φαίνεται τέλος, ότι οι εστιακές νευρολογικές εκδηλώσεις, καθώς και αυτές που αποδίδονται με μεγαλύτερη βεβαιότητα στον ΣΕΛ, έχουν καλύτερη πρόγνωση [28,30,73].

### **3.2.6. Παθοφυσιολογία**

Η παθογένεση των νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ είναι πολυπαραγοντική και περιλαμβάνει την παραγωγή αυτοαντισωμάτων, την μικροαγγειοπάθεια, την ενδοθηκική παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και την αθηροσκλήρυνση. Η διάκριση μεταξύ

φλεγμονώδους και θρομβωτικού μηχανισμού στις διάφορες εκδηλώσεις είναι δύσκολη, καθώς κατά κανόνα οι δύο μηχανισμοί συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν. Σε γενικές γραμμές, η ύπαρξη εστιακής νευρολογικής βλάβης και η απουσία γενικευμένης ενεργότητας της νόσου συνδέονται με θρομβωτικές διεργασίες, ενώ η διάχυτη νευρολογική βλάβη και η υψηλή ενεργότητα του ΣΕΛ έχουν συσχετισθεί με φλεγμονώδους τύπου μηχανισμούς [7].

Ευρήματα πειραματικών, ιστοπαθολογικών και νευροαπεικονιστικών μελετών υποστηρίζουν ότι η μη φλεγμονώδης μικροαγγειοπάθεια πιθανώς να παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση του νευροψυχιατρικού ΣΕΛ. Η μικροαγγειοπάθεια φαίνεται μάλιστα να συσχετίζεται με τη δράση των aPL αντισωμάτων, την ενεργοποίηση του συμπληρώματος και την επακόλουθη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [7,30]. Αντιθέτως, αληθής αγγειίτιδα του ΚΝΣ σπάνια διαπιστώνεται στα πλαίσια του ΣΕΛ [86,87].

Ιστοπαθολογικές έρευνες αποκαλύπτουν ένα ευρύ φάσμα ιστικής βλάβης στον εγκέφαλο ασθενών με ΣΕΛ και θανατηφόρα νευρολογική προσβολή. Τα συνηθέστερα ευρήματα αφορούν σε ισχαιμική βλάβη, η οποία μπορεί να κυμαίνεται από πολυεστιακά μικροέμφρακτα έως διάχυτη ισχαιμική βλάβη και μεγάλα εγκεφαλικά έμφρακτα. Επίσης, συχνή είναι η εμφάνιση φλοιϊκής ατροφίας, μικροσκοπικών και μακροσκοπικών αιμορραγιών, απομυελίνωσης, ήπιας αγγειοπάθειας, θρομβωτικής αγγειοπάθειας με ύπαρξη αιμοπεταλίων και θρόμβων ινικής, καθώς και η καταστροφή νευρωνικών σωμάτων και αξόνων και η ύπαρξη οιδήματος στο εγκεφαλικό παρέγχυμα. Συμφωνία μεταξύ κλινικών και ιστοπαθολογικών ευρημάτων υπήρχε στο 50-70% στις περισσότερες μελέτες [88-91].

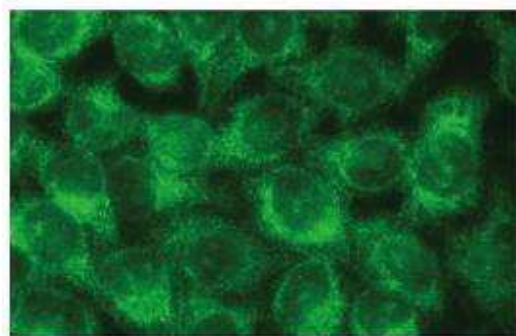
Ανάμεσα στα ποικίλα αυτοαντισώματα, τα aPL και τα anti-RibP, καθώς και τα νεότερα anti-NR2 αντισώματα, εμφανίζουν την ισχυρότερη συσχέτιση με τη νευρολογική προσβολή. Τα



αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, με ειδικότητα έναντι ανιονικών φωσφολιπιδίων και συμπλεγμάτων μεταξύ φωσφολιπιδίων και πρωτεϊνών, περιλαμβάνουν τα αντικαρδιολιπινικά (aCL), τα anti-β2GPI αντισώματα και το αντιπηκτικό του λύκου (LAC). Διεγείρουν την παραγωγή διαλυτών μορίων προσκόλλησης (Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1), Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1), και E-Selectin), οδηγώντας έτσι σε ενίσχυση της φλεγμονώδους αντίδρασης και κατ' επέκταση σε θρομβοεμβολικά επεισόδια [19]. Εμπλέκονται συνεπώς, τόσο στα εμβολικά επεισόδια, όσο και στην μικροαγγειοπάθεια που επισυμβαίνει στους ασθενείς με ΣΕΛ [18].

Τα αντι-ριβωσωμικά αντισώματα (anti-RibP) είναι μια ομάδα αυτοαντισωμάτων έναντι των P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub> και P<sub>2</sub> πρωτεϊνών, οι οποίες εντοπίζονται στη μεγαλύτερη (60 S) υπομονάδα των ευκαρυωτικών ριβωσωμάτων [18]. Υπάρχουν στο 6-36% των ασθενών με ΣΕΛ και έχουν συσχετισθεί, αν και όχι σε όλες τις μελέτες, με την νευρολογική προσβολή, και πιο συγκεκριμένα με την ψύχωση και την κατάθλιψη στον ΣΕΛ (Εικόνα 5) [60,62,92]. Τέλος, μια πρόσφατη μελέτη κατέδειξε έναν πιθανό παθογενετικό μηχανισμό των anti-RibP, μέσω σύνδεσής τους σε πρωτεΐνη της επιφάνειας των νευρώνων, η οποία κατανέμεται σε περιοχές εμπλεκόμενες με τη μνήμη, τις νοητικές λειτουργίες και το συναίσθημα. Η σύνδεση των αυτοαντισωμάτων με τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη φάνηκε να οδηγεί σε απόπτωση των νευρώνων, μέσω ενδοκυττάριας εισροής Ca<sup>2+</sup> [93].

**Εικόνα 5: Αντι-ριβωσωμικά (anti-RibP) αντισώματα. Ανοσοφθορισμός σε HEp-2 κύτταρα.**



Τα anti-NMDAR/ anti-NR2 αντισώματα φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο σε ορισμένες νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις του ΣΕΛ. Οι NMDARs είναι υποδοχείς του γλουταμικού οξέος, του σημαντικότερου διεγερτικού νευροδιαβιβαστή του εγκεφάλου [94]. Η υπερβολική έκθεση σε γλουταμικό οξύ οδηγεί σε αυξημένη εισροή  $Ca^{2+}$  στο νευρώνα, με αποτέλεσμα μιτοχονδριακό στρες και κυτταρικό θάνατο [53]. Μια υποομάδα anti-DNA αντισωμάτων, τόσο ποντικών όσο και ανθρώπων, φάνηκε να αναγνωρίζουν των NR2 υποδοχέα του γλουταμικού οξέος και να προκαλούν νευρωνικό θάνατο [53]. Τα anti-NR2 αντισώματα στρέφονται κατά των νευρώνων της αμυγδαλής και του ιπποκάμπου, οδηγώντας έτσι σε γνωσιακή δυσλειτουργία και συναισθηματικές διαταραχές, εκδηλώσεις οι οποίες ήταν εμφανείς σε ποντίκια στα οποία χορηγήθηκαν anti-NR2 αντισώματα, μετά από διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού τους φραγμού [65,66,95]. Τέλος, πρόσφατες μελέτες δείχνουν δόσοεξαρτώμενη δράση των συγκεκριμένων αυτοαντισωμάτων. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις προκαλούν δυσλειτουργία των συνάψεων, ενώ σε υψηλότερες νευρωνικό θάνατο [96]. Στους ανθρώπους έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων, ειδικά διάχυτων, και της ύπαρξης anti-NR2 αντισωμάτων στον ορό ή το ENY [69,96,97]. Επιπλέον,

μελέτες με χρήση MRI καταδεικνύουν ατροφία και ανώμαλη διάχυση στον ιππόκαμπο και την αμυγδαλή σε συνάρτηση με την ύπαρξη anti-NR2 αντισωμάτων [67,98].

Τέλος, μελέτες εμπλέκουν ποικίλες φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IFN- $\alpha$ , IL-6), χημειοκίνες (IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, IL-8/CXCL8) και άλλα μόρια (MMP-9), τα οποία ανιχνεύονται στο ENY, στην παθογένεση του νευροψυχιατρικού ΣΕΛ. Ειδικότερα, η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) παράγεται ενδοθηκικά και επιδεικνύει την υψηλότερη συσχέτιση με το νευροψυχιατρικό ΣΕΛ. Παρά ταύτα, ο μηχανισμός εμφάνισης υψηλών επιπέδων κυτταροκινών στο ENY ασθενών με ΣΕΛ είναι άγνωστος. Πιθανολογείται η παραγωγή τους είτε από φλεγμονώδη κύτταρα, τα οποία έχουν διεισδύσει στο ΚΝΣ, είτε από την ίδια τη γλοία και τους νευρώνες. Ένας προτεινόμενος μηχανισμός αναφέρει ότι αντισώματα εντός του ENY συνδέονται με αντιγόνα τα οποία απελευθερώνονται κατά την καταστροφή των εγκεφαλικών κυττάρων, και τα σχηματιζόμενα ανοσοσυμπλέγματα οδηγούν στην παραγωγή IFN- $\alpha$ , IP-10/CXCL, IL-8 και MCP-1 [99,100].

### **3.2.7. Ζωικά Μοντέλα**

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί ποικίλα μοντέλα για τον ΣΕΛ σε ποντίκια, τόσο αυτόματα όσο και επαγόμενα. Εν γένει, τα μοντέλα αυτόματης εμφάνισης της νόσου θεωρούνται πιο χρήσιμα για την αξιολόγηση της προσβολής του νευρικού, αλλά και άλλων συστημάτων. Τα στελέχη ποντικών τα οποία εμφανίζουν αυτόματα στοιχεία της νόσου περιλαμβάνουν τα NZB/W, NZM88, BXSB, και τα MRL/lpr. Αυτά αναπτύσσουν, σε διαφορετικό βαθμό, υπερπλασία του λεμφικού συστήματος, υπερδραστηριότητα των Β κυττάρων, παραγωγή αυτοαντισωμάτων, κυκλοφορούντα ανοσοσυμπλέγματα, κατανάλωση του συμπληρώματος και σπειραματονεφρίτιδα [101]. Παρουσιάζουν δε κατά την πορεία της νόσου

συμπεριφορικές διαταραχές και εγκεφαλικές ανωμαλίες, κάτι το οποίο τα καθιστά χρήσιμα για τη μελέτη του νευροψυχιατρικού ΣΕΛ. Τα μοντέλα αυτά διαφέρουν ωστόσο από τον ανθρώπινο ΣΕΛ ως προς την υψηλή τους διεισδυτικότητα, την σχετικά ομοιόμορφη έκφραση των συμπτωμάτων και την προοδευτική εξέλιξη του νοσήματος, αντί για μια πορεία με υφέσεις και εξάρσεις [102,103].

Μελέτες σε ποντίκια αποκάλυψαν πιθανούς παθογενετικούς μηχανισμούς για τη νευρολογική προσβολή στον ΣΕΛ. Τα ζώα εμφάνισαν διήθηση του εγκεφάλου με λεμφοκύτταρα και άλλα κύτταρα του αιμοποιητικού, συσσώρευση ανοσοσφαιρινών σε περιαγγειακές περιοχές του ΚΝΣ και αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, όπως τα ICAM-1 και VCAM-1 [104-107]. Επιπλέον, η αυξημένη έκφραση του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF) και του υποδοχέα του TNFR1 που παρατηρείται στους εγκεφάλους ποντικών με ΣΕΛ, θα μπορούσε να εμπλέκεται στην επαγωγή της φλεγμονής και της κυτταρικής απόπτωσης στο ΚΝΣ [108]. Τέλος, έχει παρατηρηθεί και απώλεια ιστικού όγκου στην περιοχή του ιππόκαμπου [109].

Εξ' αιτίας της υψηλής επίπτωσης εγγενών εγκεφαλικών ανωμαλιών στα στελέχη ποντικών NZB και BXSB [110], ως πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο ποντικών για τον ΣΕΛ έχει καθιερωθεί το στέλεχος MRL/Tnfrsf6lpr/lpr (MRL/lpr) [111,112]. Το στέλεχος MRL/lpr εμφανίζει μαζική λεμφαδενοπάθεια, δερματική νόσο και αρθρίτιδα, αυτοαντισώματα συμπεριλαμβανόμενων και των aCL, σπειραματονεφρίτιδα από ανοσοσυμπλέγματα και νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις, οι οποίες επισυμβαίνουν ταχύτατα και στα δύο φύλα. Οι νευρολογικές και συμπεριφορικές διαταραχές περιλαμβάνουν συναισθηματική δυσλειτουργία, καταθλιπτική διάθεση, η οποία εκφράζεται ως ανηδονία και επηρεασμένη κολυμβητική ικανότητα, μειωμένη δραστηριότητα, κόπωση και απάθεια. Όσον αφορά στην

εμφάνιση αγχώδους διαταραχής και γνωσιακής δυσλειτουργίας, τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντικρουόμενα [103].

Ο μηχανισμός φλεγμονής στα MRL/lpr ποντίκια περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, την αυτόματη διάσπαση του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, η οποία υποδηλώνεται από τα αυξημένα επίπεδα IgG και πρωτεϊνών στο ΕΝΥ, και την αυξημένη απόπτωση νευρώνων [104,105,108]. Υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που καταδεικνύουν ότι η απώλεια νευρώνων στα ζώα αυτά προκαλείται μέσω δράσης των κυτταροτοξικών CD8<sup>+</sup> Τ κυττάρων, της μικρόγλοιας και των anti-DNA αντισωμάτων [105,108,113,114], οδηγώντας σε ένα πρότυπο περικολιακής παρεγχυματικής βλάβης του εγκεφάλου [115]. Τέλος, οι διαταραχές της διάθεσης στα MRL/lpr ποντίκια θεωρείται ότι προκαλούνται από μεταβολές νευροδιαβιβαστών στις περιοχές του εγκεφάλου που εμπλέκονται στον έλεγχο της διάθεσης. Αυτές περιλαμβάνουν απόπτωση ντοπαμινεργικών νευρώνων στον επικλινή πυρήνα και την μέλαινα ουσία, μειωμένα επίπεδα σεροτονίνης στον υποθάλαμο, αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης στον ιππόκαμπο και μειωμένα επίπεδα νοραδρεναλίνης στον προμετωπιαίο φλοιό [103].

Μη γενετικά τροποποιημένα μοντέλα ποντικών (άγριου τύπου) μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη του νευροψυχιατρικού ΣΕΛ, μέσω επαγωγής της νόσου με τη χορήγηση στα ζώα νευροειδικών αυτοαντισωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, τα θηλυκά ζώα του άγριου στελέχους BALB/c και τα C3H ποντίκια αναπτύσσουν επαγόμενη από aPL αντισώματα γνωσιακή δυσλειτουργία και ιστολογικά ευρήματα θρόμβωσης τριχοειδών, φλεγμονής και ενεργοποίησης του ενδοθηλίου [57,116]. Τέλος, τα προσφάτως περιγραφέντα anti-NR2 αντισώματα αποδείχθηκε ότι προκαλούν τόσο απώλεια νευρώνων του ιπποκάμπου και

διαταραχές μνήμης, όσο και απώλεια νευρώνων της αμυγδαλής με επακόλουθες συμπεριφορικές διαταραχές, σε ανοσοποιημένα BALB/c ποντίκια [65,66].

### **3.2.8. Θεραπεία**

Έως σήμερα δεν έχουν διενεργηθεί προοπτικές ελεγχόμενες μελέτες για τον καθορισμό των θεραπευτικών αποφάσεων στο νευροψυχιατρικό ΣΕΛ. Ωστόσο, οι πρόσφατες συστάσεις της EULAR (European League Against Rheumatism) περιλαμβάνουν ένα σύνολο οδηγιών γενικότερης αντιμετώπισης, καθώς και τις θεραπευτικές δυνατότητες σε ασθενείς με ΣΕΛ και νευρολογική προσβολή [29]. Η αντιμετώπιση παραγόντων συννοσηρότητας όπως η υπέρταση, αλλά και μεταβολικών διαταραχών και ανεπιθύμητων ενεργειών των φαρμάκων κρίνεται απαραίτητη, ενώ η χορήγηση συμπτωματικής αγωγής περιλαμβάνει αντισπασμωδικά για τις επιληπτικές κρίσεις, αντικαταθλιπτικά για τις διαταραχές του θυμικού και αντιψυχωσικά [7,29].

Ήπιες νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις μπορεί να χρήζουν μόνο συμπτωματικής αντιμετώπισης. Τα ανθελonoσιακά, όπως η υδροξυχλωροκίνη, φαίνεται να βελτιώνουν τις περισσότερες εκδηλώσεις του ΣΕΛ, και χρησιμοποιούνται τόσο για τον έλεγχο της ενεργότητας της νόσου όσο και για την μείωση της αθηροσκληρυντικής βλάβης [117]. Στις βαρύτερες νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις ωστόσο, απαιτείται πιο εξειδικευμένη αγωγή, μετά από αποκλεισμό άλλων, μη σχετιζόμενων με τον ΣΕΛ, αιτιών. Η θεραπεία σε αυτές τις περιπτώσεις εξαρτάται από τη φύση της υποκείμενης βλάβης, η οποία μπορεί να είναι φλεγμονώδης, θρομβωτική, ή συνδυασμός των ανωτέρω, αν και μια τέτοια διάκριση δεν είναι πάντα εφικτή. Συνεπώς, η χρήση γλυκορτικοειδών, με ή χωρίς συνοδό ανοσοκαταστολή, όπως είναι η

αζαθειοπρίνη ή η κυκλοφωσφαμίδη, συνιστάται όταν οι νευρολογικές εκδηλώσεις αντικατοπτρίζουν μια φλεγμονώδη κατά βάση διεργασία, καθώς και επί υψηλής ενεργότητας του υποκείμενου νοσήματος [118,119]. Επιπλέον, νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις ανθεκτικές στη συνήθη αγωγή μπορούν να αντιμετωπιστούν με συνεδρίες πλασμαφαίρεσης, ώσεις ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνης και anti-CD20 (rituximab), με μεταβαλλόμενα ποσοστά επιτυχίας [120-124].

Αντιθέτως, αντιπηκτική και/ ή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή συνιστώνται σε εκδηλώσεις σχετιζόμενες με την παρουσία aPL αντισωμάτων, ιδίως σε ασθενείς με θρομβωτικά αγγειακά εγκεφαλικά συμβάματα. Τέλος, η αντιπηκτική αγωγή φαίνεται να υπερέχει της αντιαιμοπεταλιακής στην δευτερογενή πρόληψη αρτηριακών συμβαμάτων σε συνυπάρχον Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (APS) [7,29,125-127].

### **3.2.9. Διακριτές Νευρολογικές Εκδηλώσεις**

#### **3.2.9.1. Επιληπτικές Κρίσεις**

Οι επιληπτικές κρίσεις περιλαμβάνονται στις συνήθεις νευρολογικές εκδηλώσεις του ΣΕΛ, και εμφανίζονται στο 2-10% των ασθενών [7,72]. Η πλειονότητά τους είναι μεμονωμένα επεισόδια, ενώ οι υποτροπές επισυμβαίνουν σε ένα ποσοστό της τάξης του 12-22% και μπορεί να επηρεάσουν τη νοσηρότητα και τη θνητότητα στους ασθενείς αυτούς [29]. Οι τύποι των κρίσεων είναι, με σειρά φθίνουσας συχνότητας, τονικοκλονικές, σύνθετες εστιακές, απλές εστιακές κινητικές και δευτερογενώς γενικευμένες τονικοκλονικές επιληπτικές κρίσεις [29,128]. Ανωμαλίες στο Ηλεκτροεγκεφαλογράφημα (ΗΕΓ) εμφανίζονται στο 60-70% των ασθενών, αλλά μόνο το 24-50% εμφανίζει τυπικές επιληπτόμορφες διαταραχές, οι οποίες είναι

προγνωστικές υποτροπής [55,128]. Οι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση κρίσεων περιλαμβάνουν την υψηλή ενεργότητα νόσου [72,73,129], την βαριά αθροιστική βλάβη [129], τη νεότερη ηλικία [72,130], την πρόσφατη έναρξη του ΣΕΛ [128,129,131], την παρουσία aPL αντισωμάτων [7,55], τη νεφρίτιδα [55,72], και προηγούμενα επεισόδια επιληπτικών κρίσεων [55]. Από την άλλη, η εμφάνιση υποτροπών σχετίζεται με δομικές ανωμαλίες του εγκεφάλου στη Μαγνητική Τομογραφία, με εστιακά νευρολογικά σημεία κατά την κλινική εξέταση, με τις εστιακές κρίσεις, τα aPL αντισώματα και το τυπικό επιληπτόμορφο ΗΕΓ [55,128].

Η διαγνωστική προσέγγιση περιλαμβάνει τη διενέργεια MRI, ΗΕΓ και Οσφυονωτιαίας Παρακέντησης (ΟΝΠ), και στοχεύει στον αποκλεισμό δομικών βλαβών του εγκεφάλου, λοίμωξης και μεταβολικών διαταραχών. Η MRI μπορεί να αποκαλύψει δομικές ανωμαλίες, εγκεφαλική ατροφία και αλλοιώσεις της λευκής ουσίας, ενώ η ανάλυση του ENY χρησιμεύει στον αποκλεισμό λοίμωξης. Η αντιεπιληπτική αγωγή συνήθως δεν είναι απαραίτητη σε μονήρες ή σε αραιά επιληπτικά επεισόδια, καθώς τα περισσότερα λύνονται χωρίς αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής του ασθενούς. Αντιθέτως, η μακροχρόνια αντιεπιληπτική αγωγή κρίνεται απαραίτητη σε υποτροπιάζουσες επιληπτικές κρίσεις ή σε ύπαρξη προδιαθεσικών παραγόντων υψηλού κινδύνου για υποτροπή, όπως το τυπικό επιληπτόμορφο ΗΕΓ ή οι δομικές εγκεφαλικές βλάβες [29,128,129]. Τέλος, το ένα τέταρτο περίπου των ασθενών θα χρειαστεί και δεύτερο αντιεπιληπτικό προκειμένου να ελεγχθούν οι κρίσεις [128].

Ανοσοκατασταλτική αγωγή συνιστάται στα πλαίσια γενικευμένης ενεργότητας νόσου και κρίσεων οι οποίες αντικατοπτρίζουν ένα φλεγμονώδες γεγονός. Τα γλυκοκορτικοειδή, μόνα ή σε συνδυασμό με άλλα ανοσοκατασταλτικά, όπως η κυκλοφωσφαμίδη, είναι η θεραπεία εκλογής, ενώ η υδροξυχλωροκίνη θεωρείται πως έχει προφυλακτική δράση. Τέλος, η



αντιπηκτική αγωγή μπορεί να έχει ευεργετική δράση επί της παρουσίας aPL αντισωμάτων [29,118,129].

### **3.2.9.2. Μυελοπάθεια**

Η μυελοπάθεια είναι σχετικά σπάνια στους ασθενείς με ΣΕΛ (1-2%) [7]. Η μυελοπάθεια του ΣΕΛ μπορεί να είναι είτε φλεγμονώδης, και παρουσιάζεται ως ταχέως επιδεινούμενη εγκάρσια μυελίτιδα, είτε ισχαιμική/ θρομβωτική. Επιπλέον, οι ασθενείς μπορεί να εμφανίζουν σημεία δυσλειτουργίας της φαιάς ή της λευκής ουσίας. Η βλάβη της φαιάς ουσίας χαρακτηρίζεται από υποτονία και μείωση των αντανακλαστικών, συνδέεται με υψηλή ενεργότητα της νόσου, και το προφίλ του ENY προσομοιάζει σε αυτό της βακτηριακής μηνιγγίτιδας. Από την άλλη πλευρά, η δυσλειτουργία της λευκής ουσίας παρουσιάζεται με σπαστικότητα και αύξηση των τενόντιων αντανακλαστικών και σχετίζεται με χαμηλότερη ενεργότητα νόσου, παρουσία aPL αντισωμάτων και συνύπαρξη Οπτικής Νευρομυελίτιδας (NMO) [50]. Η επίπτωση των aPL αντισωμάτων φαίνεται να είναι υψηλότερη στους ασθενείς με μυελοπάθεια απ' ό τι στον υπόλοιπο πληθυσμό με ΣΕΛ (55-74% vs. 30-50%) [125,132]. Η εγκάρσια μυελίτιδα με εκτεταμένες συνεχόμενες βλάβες επισυμβαίνει περίπου στο 33% των ασθενών [133] και χαρακτηρίζεται από την προσβολή τουλάχιστον τεσσάρων συνεχόμενων μυελοτομιών. Μπορεί δε να σχετίζεται με οπτική νευρίτιδα, στα πλαίσια του φάσματος της Οπτικής Νευρομυελίτιδας [52].

Η εγκάρσια μυελίτιδα εμφανίζεται συνήθως ως η αρχική εκδήλωση της νόσου ή εντός των πέντε πρώτων ετών από την έναρξή της. Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζουν σαφές αισθητικό έλλειμμα στο θωρακικό επίπεδο [125,132,134,135]. Άλλα μείζονα νευροψυχιατρικά

συμβάματα συνυπάρχουν περίπου στο 33%, με συνηθέστερη την οπτική νευρίτιδα (21–48%).

Η συνύπαρξη αυτή θα μπορούσε να οφείλεται στην ύπαρξη Οπτικής Νευρομυελίτιδας, όπως προαναφέρθηκε [29,52,132].

Η διαγνωστική προσέγγιση περιλαμβάνει MRI νωτιαίου μυελού με ενδοφλέβια έγχυση σκιαγραφικού και οσφυονωτιαία παρακέντηση. Η MRI εγκεφάλου συνιστάται σε συνύπαρξη άλλων νευρολογικών εκδηλώσεων ή για τη διαφοροδιάγνωση από άλλα απομυελινωτικά νοσήματα. Ευρήματα στην MRI του νωτιαίου μυελού υπάρχουν στο 55-70% των ασθενών [132,134], ενώ διαταραχές στη σύσταση του ENY, όπως αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης, ολιγοκλωνικές ζώνες ή εικόνα προσομοιάζουσα σε βακτηριακή μηνιγγίτιδα, εμφανίζονται στο 50-70% [125,134]. Ο αποκλεισμός λοίμωξης σε μια τέτοια περίπτωση είναι απαραίτητος.

Ο συνδυασμός ενδοφλέβιας μεθυλπρεδνιζολόνης και κυκλοφωσφαμίδης είναι η θεραπεία εκλογής και πρέπει να χορηγείται εγκαίρως, προκειμένου να αποφευχθεί μόνιμη αναπηρία. Οι υποτροπές είναι συχνές (50–60%) κατά τη μείωση των χορηγούμενων κορτικοειδών, η δε θεραπεία συντήρησης με ανοσοκατασταλτικά είναι απαραίτητη [29,132]. Η πλασμαφαίρεση και η χορήγηση rituximab έχουν δοκιμαστεί σε βαριές περιπτώσεις [118,122,132,136], ενώ η αντιπηκτική αγωγή μπορεί να έχει θετικά αποτελέσματα σε μυελοπάθεια σχετιζόμενη με την ύπαρξη aPL αντισωμάτων [125].

Η ανταπόκριση στη θεραπεία ποικίλει, αλλά γενικώς η πρόγνωση δεν θεωρείται καλή. Πλήρης ίαση παρατηρείται στο 20-50% των περιπτώσεων, μερική βελτίωση στο 30-40% και μηδενική βελτίωση ή επιδείνωση στο 20-50% [29,132,134]. Η θνητότητα της σχετιζόμενης με ΣΕΛ μυελοπάθειας εκτιμάται στο 50% [133]. Οι αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τις εκτεταμένες βλάβες του νωτιαίου μυελού στην MRI, τη μειωμένη μυϊκή

ισχύ ή τη δυσλειτουργία σφικτήρων κατά την προσέλευση του ασθενούς και την καθυστέρηση (πάνω από 2 εβδομάδες) στην έναρξη θεραπείας. Αντιθέτως, η καλή μυϊκή ισχύς κατά την προσέλευση και η έγκαιρη έναρξη της θεραπείας σχετίζονται με ευνοϊκότερη πρόγνωση [132,133]. Τέλος, ο ρόλος των aPL αντισωμάτων ως επιβαρυντικού παράγοντα, καθώς και η χρησιμότητα ή όχι της αντιπηκτικής αγωγής, δεν έχουν διευκρινιστεί επαρκώς [137].

### **3.2.9.3. Αγγειακά Εγκεφαλικά Συμβάματα**

Ο επιπολασμός της αγγειακής εγκεφαλικής προσβολής στον ΣΕΛ ποικίλει από 2% έως 10%. Τα ισχαιμικά αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και τα παροδικά ισχαιμικά είναι τα συνηθέστερα συμβάματα, και αντιστοιχούν σε πάνω από το 80% των συνολικών περιπτώσεων, ενώ αντιθέτως η γνήσια αγγειίτιδα του ΚΝΣ είναι σπάνια. Ισχυροί προγνωστικοί δείκτες για εμφάνιση αγγειακής εγκεφαλικής προσβολής είναι η υψηλή ενεργότητα και η βαριά αθροιστική βλάβη από τη νόσο, οι επίμονα μέτριοι προς υψηλοί τίτλοι aPL αντισωμάτων, η προσβολή βαλβίδων της καρδιάς, η αρτηριακή υπέρταση, τα προηγηθέντα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ) και η μεγάλη ηλικία [7,72,77].

Πέρα από τη συμβατική MRI, η Μαγνητική Αγγειογραφία (MRA), η Αξονική Αγγειογραφία (CTA) και η συμβατική αγγειογραφία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση των ασθενών [29]. Η άμεση αντιμετώπιση ενός ΑΕΕ είναι παρόμοια με το γενικό πληθυσμό. Η δευτερογενής πρόληψη περιλαμβάνει τον αυστηρό έλεγχο των κλασικών καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου, καθώς και αντιαιμοπεταλιακή αγωγή. Τα γλυκοκορτικοειδή με ή χωρίς άλλη ανοσοκατασταλτική αγωγή μπορούν να χορηγηθούν σε περίπτωση συνυπάρχουσας

υψηλής ενεργότητας νόσου. Σε ασθενείς με εμμένοντες μέτριους προς υψηλούς τίτλους aPL αντισωμάτων, η χρόνια αγωγή με κουμαρινικά αντιπηκτικά θα μπορούσε να δράσει ευνοϊκά. Ωστόσο, τα ερευνητικά δεδομένα για την αποτελεσματικότητα και τις ανεπιθύμητες ενέργειες της πιο επιθετικής αντιπηκτικής αγωγής (INR 3.0-4.0), σε σύγκριση με την πιο ήπια (INR 2.0-3.0), παραμένουν αντικρουόμενα [29,126,138-141].

#### **3.2.9.4. Ψύχωση**

Η ψύχωση του ΣΕΛ είναι σχετικά σπάνια και συμβαίνει στο 2.5-3.5% των ασθενών [7]. Η διαφοροδιάγνωση της οφειλόμενης στον ΣΕΛ ψύχωσης από την επαγόμενη από κορτικοστεροειδή μπορεί να είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Η ψύχωση από κορτικοειδή εμφανίζεται στο 10% περίπου των ασθενών που λαμβάνουν  $\geq 1$  mg/kg πρεδνιζόνης. Στη διάκριση των δύο συνδρόμων συνεισφέρει το γεγονός ότι η επαγόμενη από κορτικοειδή ψυχιατρική νόσος εκδηλώνεται κυρίως ως διαταραχή της διάθεσης (93%), παρά ως ψύχωση [142], καθώς και ότι αυτή υποχωρεί μετά τη διακοπή των κορτικοειδών [29,143]. Σύμφωνα με μελέτες, η ψύχωση του ΣΕΛ είναι πρώιμο γεγονός στην πορεία της νόσου. Οι παράγοντες κινδύνου είναι η γενικευμένη ενεργότητα της νόσου [7,143,144] και η παρουσία των anti-RibP αντισωμάτων [60,92], αν και μια διεθνής μετα-ανάλυση αμφισβήτησε το ρόλο τους στο νευροψυχιατρικό ΣΕΛ [62].

Η αντιμετώπιση περιλαμβάνει τη χορήγηση αντικαταθλιπτικών και αντιψυχωσικών παραγόντων, καθώς και κορτικοειδών και άλλων ανοσοκατασταλτικών (κυκλοφωσφαμίδη, ακολουθούμενη από αζαθειοπρίνη), σε περίπτωση υψηλής ενεργότητας νόσου, ενώ η χορήγηση rituximab περιορίζεται σε πολύ βαριές περιπτώσεις [123,144,145]. Τα περισσότερα

ψυχιατρικά επεισόδια υποχωρούν εντός 2-4 εβδομάδων. Υποτροπές συμβαίνουν έως και στο 50% των περιπτώσεων, ενώ μόνο 20-30% των ασθενών αναπτύσσουν χρόνια ψυχωσική συνδρομή [29,144].

### **3.2.9.5. Χορεία**

Η χορεία είναι ένα εξαιρετικά σπάνιο γεγονός, εμφανίζεται στο 0.6% περίπου των ασθενών, και είναι η καλύτερα καταγεγραμμένη κινητική διαταραχή στον ΣΕΛ [7]. Παρουσιάζεται συνήθως ως μονήρες επεισόδιο, νωρίς στην πορεία της νόσου, και υφίεται εντός εβδομάδων ή λίγων μηνών [29,146]. Η χορεία στον ΣΕΛ έχει συσχετισθεί με τα aPL αντισώματα, τις ισχαιμικές εγκεφαλικές βλάβες και τη συνύπαρξη APS [29,147,148].

Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει καταστάσεις όπως τη νόσο Wilson, τη χορεία του Huntington και τις ανεπιθύμητες ενέργειες φαρμάκων. Η MRI εγκεφάλου συνιστάται όταν συνυπάρχουν εστιακά νευρολογικά σημεία, καθώς και για τον αποκλεισμό δευτερεύουσων αιτιών χορείας [24,29]. Η θεραπεία είναι αφενός μεν συμπτωματική, με χορήγηση ντοπαμινεργικών ανταγωνιστών, αφετέρου δε με στόχο την ανοσοκαταστολή, με χορήγηση γλυκοκορτικοειδών, αζαθειοπρίνης και κυκλοφωσφαμίδης, σε περιπτώσεις ενεργού νόσου. Η αντιαιμοπεταλιακή και η αντιπηκτική αγωγή χορηγείται σε ασθενείς θετικούς για aPL αντισώματα [149].

### **3.2.9.6. Κεφαλαλγίες**

Επεισόδια κεφαλαλγίας αναφέρει το 20-50% των ασθενών με ΣΕΛ [7,28], η μεγάλη πλειοψηφία των οποίων δεν αποδίδεται με σαφήνεια στον ΣΕΛ. Μια μετα-ανάλυση δεν

κατάφερε να εντοπίσει αυξημένη συχνότητα επεισοδίων ή έναν συγκεκριμένο τύπο κεφαλαλγίας στους ασθενείς με ΣΕΛ [150], ενώ ορισμένα μοντέλα, τα οποία δημιουργήθηκαν για την απόδοση των νευρολογικών συμβαμάτων στον ΣΕΛ, έχουν αποκλείσει εκ των προτέρων τις κεφαλαλγίες, ως μη ειδική εκδήλωση [25,32].

Παρά ταύτα, σε βαριές καταστάσεις, όπως σε οξεία έναρξη των συμπτωμάτων, εξαιρετικά έντονη κεφαλαλγία, παρουσία πυρετού ή εστιακών νευρολογικών ευρημάτων, σε μεταβολή του επιπέδου συνείδησης, σε παρουσία μηνιγγισμού, aPL αντισωμάτων, σε λήψη αντιπηκτικών ή σε υψηλή ενεργότητα της νόσου, ο αποκλεισμός καταστάσεων όπως η μηνιγγίτιδα, η εγκεφαλική αιμορραγία και η θρόμβωση φλεβωδών κόλπων του εγκεφάλου είναι απαραίτητη [7,29].

### **3.2.9.7. Γνωσιακή Δυσλειτουργία**

Γνωσιακές διαταραχές προκύπτουν στο 10-20% των ασθενών με ΣΕΛ. Η πλειονότητα είναι ήπιες προς μέτριες περιπτώσεις, ενώ σοβαρή γνωσιακή δυσλειτουργία εμφανίζεται μόνο στο 3-5% [7,74]. Οι πιο συχνά επηρεαζόμενοι τομείς είναι η προσοχή, η οπτική μνήμη, η λεκτική μνήμη, οι εκτελεστικές λειτουργίες και η ψυχοκινητική ταχύτητα, ένα πρότυπο το οποίο προσομοιάζει περισσότερο σε καταστάσεις που προσβάλλουν τις πρόσθιες υποφλοιώδεις δομές του εγκεφάλου, όπως είναι η νόσος Huntington και Parkinson, καθώς και σε άνοιες από προσβολή της λευκής ουσίας, όπως στην Πολλαπλή Σκλήρυνση [29,151,152]. Η γνωσιακή δυσλειτουργία εμφανίζεται νωρίς στην πορεία της νόσου, ακόμα και απουσία άλλων νευροψυχιατρικών εκδηλώσεων [151,152]. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες νευροψυχολογικές δοκιμασίες είναι το σύνολο νευροψυχολογικών δοκιμασιών του ACR (ACR

Battery), με 80% ευαισθησία και 81% ειδικότητα, και το αυτοματοποιημένο σύστημα αξιολόγησης Automated Neuropsychological Assessment Metrics System (ANAM) [24,153]. Η MRI δεν προσφέρει περαιτέρω πληροφορίες όταν δεν συνυπάρχουν άλλες εκδηλώσεις νευρολογικής προσβολής, πέραν της γνωσιακής δυσλειτουργίας [154].

Η βαρύτητα των γνωσιακών διαταραχών συσχετίζεται με επίμονα υψηλούς τίτλους aPL αντισωμάτων, βαριά αθροιστική βλάβη από τη νόσο, μακροχρόνια χρήση κορτιζόνης, συνύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη και αρτηριακής υπέρτασης, καθώς και με χαμηλό μορφωτικό επίπεδο [29,58,74,80,155]. Επιπλέον, ο βαθμός της εκτιμώμενης γνωσιακής δυσλειτουργίας μπορεί να επηρεάζεται από τα επίπεδα πόνου, κόπωσης και κατάθλιψης, οδηγώντας σε υπερεκτίμηση των γνωσιακών διαταραχών [156]. Τέλος, τα προσφάτως περιγραφέντα anti-NR2 αντισώματα έχουν συσχετισθεί με διαταραχές της μνήμης, και ενδεχομένως να αποτελούν ένα νέο θεραπευτικό στόχο [66,157].

Η αντιμετώπιση της γνωσιακής δυσλειτουργίας στους ασθενείς με ΣΕΛ περιλαμβάνει την θεραπεία επιβαρυντικών παραγόντων, όπως η κατάθλιψη και οι αγχώδεις διαταραχές, τον έλεγχο των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου [29], τη συμμετοχή σε ομάδες ψυχο-εκπαιδευτικής παρέμβασης [158], καθώς και γλυκοκορτικοειδή με ή χωρίς άλλα ανοσοκατασταλτικά για τη συνυπάρχουσα ενεργότητα νόσου [159,160]. Η αντιαιμοπεταλιακή και η αντιπηκτική αγωγή μπορεί να είναι ωφέλιμες σε περιπτώσεις σχετιζόμενες με aPL αντισώματα, αλλά τα αποτελέσματα προέρχονται από μη ελεγχόμενες μελέτες [80,161].

### 3.2.9.8. Λοιπές Εκδηλώσεις από το ΚΝΣ

Σε περιπτώσεις οξείας συγχυτικής κατάστασης, οι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται διεξοδικά για υποκείμενα αίτια, όπως λοιμώξεις, μεταβολικές διαταραχές, τοξικότητα από φάρμακα και πρωτοπαθή νευρολογικά νοσήματα [24,29]. Η οσφυονωτιαία παρακέντηση είναι απαραίτητη για τον αποκλεισμό λοίμωξης. Καμία μεμονωμένη παράμετρος του ΕΝΥ δεν έχει επαρκή προγνωστική αξία για τη διάγνωση της οξείας συγχυτικής κατάστασης στον ΣΕΛ, ωστόσο, τα επίπεδα IL-6 στο ΕΝΥ και το IgG index έχουν δείξει στατιστική συσχέτιση με την παρουσία οξείας συγχυτικής κατάστασης σε μια μελέτη [162]. Η απεικόνιση του εγκεφάλου συνιστάται επί παρουσίας εστιακών νευρολογικών σημείων, κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης, κακοήθειας, πυρετού, ή όταν η διαγνωστική προσέγγιση απέτυχε να εντοπίσει κάποια εμφανή αιτία οξείας συγχυτικής κατάστασης [29].

Η αντιμετώπιση των περιπτώσεων οξείας συγχυτικής κατάστασης που οφείλονται στον ΣΕΛ περιλαμβάνει τη χορήγηση συνδυασμού κορτικοειδών και ανοσοκατασταλτικών [118,127], καθώς και πλασμαφαίρεση και χορήγηση rituximab σε ανθεκτικές περιπτώσεις [122,123]. Τέλος, η θεραπεία με αλλοπεριδόλη ή άτυπα αντιψυχωσικά προτείνεται μόνο όταν οι ανωτέρω παρεμβάσεις είναι αναποτελεσματικές [29].

Οι εναπομείνουσες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ περιλαμβάνουν τις αγχώδεις διαταραχές και την κατάθλιψη, των οποίων η ακριβής αιτιοπαθογενετική συσχέτιση με το ΣΕΛ δεν έχει αποσαφηνιστεί, το απομυελινωτικό σύνδρομο και την άσηπτη μηνιγγίτιδα. Τα δύο τελευταία είναι εξαιρετικά σπάνια (<1%) και πρέπει πάντα να διαφοροδιαγιγνώσκονται από μη σχετιζόμενες με τον ΣΕΛ καταστάσεις [24].



### 3.2.9.9. Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ)

Η προσβολή του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος (ΠΝΣ) στον ΣΕΛ περιλαμβάνει την πολυνευροπάθεια, τις μονονευροπάθειες, το Σύνδρομο Guillain-Barré (GBS), τη νευροπάθεια των νευρικών πλεγμάτων (πλεξοπάθεια), τις κρανιακές νευροπάθειες, τη Μυασθένεια Gravis (MG) και τη δυσλειτουργία του αυτόνομου. Οι συνηθέστερες περιφερικές νευροπάθειες είναι η πολυνευροπάθεια και η πολλαπλή μονονευρίτιδα (2-5%) [7,163]. Οι Μελέτες Νευρικής Αγωγιμότητας (Ηλεκτρονευρογράφημα, ΗΝΓ) και το Ηλεκτρομυογράφημα (ΗΜΓ) παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαγνωστική προσέγγιση, ενώ η βιοψία νεύρου σπάνια είναι απαραίτητη για την επιβεβαίωση της διάγνωσης, και συνήθως αποκαλύπτει αγγειίτιδα, απώλεια νευρικών αξόνων ή απομυελίνωση [164]. Σε περίπτωση εμμονής των συμπτωμάτων με φυσιολογικά ηλεκτροφυσιολογικά ευρήματα, η βιοψία δέρματος μπορεί να οδηγήσει στη διάγνωση νευροπάθειας λεπτών ινών (small fiber neuropathy), καθώς διαπιστώνεται η απώλεια ενδοεπιδερμικών νευρικών ινών [165,166].

Για τις νευροπάθειες συνιστάται η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών, με ή χωρίς άλλη ανοσοκαταστολή, με επίπεδα ανταπόκρισης της τάξης του 60-75%, καθώς και η χρήση Ενδοφλέβιας Ανοσοσφαιρίνης (Intravenous Immunoglobulin, IVIG), rituximab και πλασμαφαίρεσης σε σοβαρές περιπτώσεις [29]. Ειδικότερα για το Σύνδρομο Guillain-Barré, η θεραπεία περιλαμβάνει την πλασμαφαίρεση και την Ενδοφλέβια Ανοσοσφαιρίνη (IVIG), ενώ τα στεροειδή ως μονοθεραπεία δεν θεωρούνται αποτελεσματικά [167].

Η οπτική νευροπάθεια είναι μια διακριτή οντότητα, η οποία περιλαμβάνει τη φλεγμονώδη οπτική νευρίτιδα και την ισχαιμική/ θρομβωτική οπτική νευροπάθεια. Η διαγνωστική προσέγγιση περιλαμβάνει την εξέταση οπτικών πεδίων, τη βυθοσκόπηση, τα οπτικά προκλητά

δυναμικά, την φλουροαγγειογραφία, όταν υπάρχει υποψία αγγειοαποφρακτικής αμφιβληστροειδοπάθειας, και την MRI με ενδοφλέβια παραμαγνητική ουσία. Η βυθοσκόπηση μπορεί να αποκαλύψει οίδημα οπτικής θηλής στο 30–40% των περιπτώσεων, ενώ η MRI δείχνει σκιαγραφική ενίσχυση του οπτικού νεύρου στο 60–70% και συνυπάρχουσες εγκεφαλικές βλάβες στο 67% [29]. Η συνύπαρξη εγκάρσιας μυελίτιδας επισυμβαίνει στο 40% περίπου των περιπτώσεων [168] και υποδηλώνει φλεγμονώδη υποκείμενο μηχανισμό, ενώ η συσχέτιση με aPL αντισώματα αυξάνει τις πιθανότητες η υποκείμενη αιτία να είναι ισχαιμικής/ θρομβωτικής φύσεως.

Η θεραπεία εκλογής είναι ώσεις ενδοφλέβιας μεθυλπρεδνιζολόνης σε συνδυασμό με ενδοφλέβια κυκλοφωσφαμίδη [118,169], αλλά η σχετιζόμενη με τον ΣΕΛ οπτική νευρίτιδα εμφανίζει συχνές υποτροπές και φτωχή πρόγνωση. Η αντιπηκτική αγωγή μπορεί να χορηγηθεί σε ασθενείς θετικούς για aPL αντισώματα, οι οποίοι δεν ανταποκρίνονται επαρκώς στην ανοσοκατασταλτική αγωγή.

### **3.3. ΟΡΓΑΝΟΕΙΔΙΚΗ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΒΟΛΗ: ΟΠΤΙΚΗ ΝΕΥΡΟΜΥΕΛΙΤΙΔΑ**

#### **3.3.1. Ορισμός- Ιστορική Αναδρομή**

Η Οπτική Νευρομυελίτιδα (Neuromyelitis Optica, NMO) είναι ένα σοβαρό και σπάνιο απομυελινωτικό σύνδρομο του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος, το οποίο ακολουθεί πορεία υφέσεων και εξάρσεων, προσβάλλει το νωτιαίο μυελό και τα οπτικά νεύρα, και επηρεάζει τόσο την λευκή όσο και την φαιά ουσία. Σε αντίθεση με την Πολλαπλή Σκλήρυνση, δεν προσβάλλει τον εγκέφαλο, με εξαίρεση το οπτικό νεύρο, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια της νόσου [51,64,170]. Το 1894, οι Dévic και Gault περιέγραψαν τα βασικά χαρακτηριστικά της

Οπτικής Νευρομυελίτιδας: οπτική νευρίτιδα και οξεία εγκάρσια μυελίτιδα [171,172]. Παράλληλα, Ιάπωνες μελετητές περιέγραψαν την «Οπτικομυελική Πολλαπλή Σκλήρυνση», η οποία αντιστοιχεί στο 15-40% των περιπτώσεων με Πολλαπλή Σκλήρυνση στην Ιαπωνία και έχει παρόμοια κλινικά, νευροαπεικονιστικά, ορολογικά και ανοσοπαθολογικά χαρακτηριστικά με την «δυτική» Οπτική Νευρομυελίτιδα [173,174].

### **3.3.2. Κλινική Εικόνα**

Η Οπτική Νευρομυελίτιδα χαρακτηρίζεται από επεισόδια οπτικής νευρίτιδας και μυελίτιδας, τα οποία εκδηλώνονται με οφθαλμικό πόνο, απώλεια της όρασης, καθώς και με βαριά συμμετρική παραπληγία, απώλεια αισθητικότητας, απώλεια ελέγχου των σφιγκτήρων, και παροξυσμικούς τονικούς σπασμούς. Σε περίπτωση δε επέκτασης της βλάβης στο στέλεχος, εκδηλώνεται με ναυτία, έως και νευρογενή αναπνευστική ανεπάρκεια.

Η νόσος εμφανίζει πορεία με υφέσεις και εξάρσεις σε ποσοστό 80-90%, ή είναι μονοφασική σε ποσοστό 10-20%. Το 90% των ασθενών εμφανίζει νέα έξαρση εντός της τριετίας, αλλά τα μεσοδιαστήματα μπορεί να διαρκέσουν έως και δεκαετίες. Η αναλογία προσβολής ανδρών/ γυναικών είναι 1 προς 9, και η μέση ηλικία εμφάνισης τα 39 έτη [64]. Τέλος, η νόσος μπορεί να συνυπάρχει με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η θυροειδίτιδα Hashimoto, ο Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος και το Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren's [64,168,175-177].

### **3.3.3. Απεικονιστικά - Εργαστηριακά Ευρήματα**

Όσον αφορά στα απεικονιστικά ευρήματα, βασικό χαρακτηριστικό της Οπτικής Νευρομυελίτιδας είναι οι εκτεταμένες και κεντρικά εντοπισμένες βλάβες του Νωτιαίου

Μυελού, οι οποίες καταλαμβάνουν  $\geq 3$  σπονδυλικά τμήματα. Ο εγκέφαλος μπορεί να φείδεται βλαβών, ειδικά στα πρώτα στάδια της νόσου, ή να παρουσιάζει μη ειδικές βλάβες, οι οποίες φτάνουν στο 60% κατά την πορεία της νόσου. Μόνο ένα 10% των ασθενών παρουσιάζει στην πορεία της νόσου βλάβες παραπλήσιες με αυτές της Πολλαπλής Σκλήρυνσης, ενώ ένα άλλο 10% εμφανίζει βλάβες ειδικές για τη νόσο, εντοπισμένες περικοιλιακά, στον υποθάλαμο και το στέλεχος, σε περιοχές με υψηλή συγκέντρωση σε ακουαπορίνη-4 (AQP4) [64,178,179]. Αν και συνήθως μη συμπτωματικές, οι βλάβες αυτές της λευκής ουσίας μπορεί ενίοτε να προκαλούν συμπτώματα, ενώ θεωρούνται υπεύθυνες από κάποιους μελετητές και για μη αυτοάνοσες ενδοκρिनοπάθειες οι οποίες εκδηλώνονται σε συνδυασμό με την Οπτική Νευρομυελίτιδα [180].

Τα NMO-IgG αντισώματα είναι ειδικά για τη νόσο, ενώ συχνά εντοπίζονται και μη οργανοειδικά αντισώματα στον ορό των ασθενών με Οπτική Νευρομυελίτιδα, με ή χωρίς άλλα συμπτώματα συστηματικής αυτοανοσίας. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να εμφανιστούν Αντιπυρηνικά Αντισώματα (ANA) στο 50% των ασθενών, ενώ συχνή είναι και η παρουσία των anti-Ro/SSA αντισωμάτων, ιδίως στις υποτροπιάζουσες μορφές της νόσου (77%) [52,64,181].

Τέλος, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) κατά τη διάρκεια των εξάρσεων, χαρακτηρίζεται από πλειοκύτωση, με πολυμορφοπύρρηνα κυρίως, αλλά και μονοκύτταρα, ενώ ολιγοκλωνικές ζώνες υπάρχουν μόνο σε ποσοστό 15-30% [64]. Τα παραπάνω κλινικοεργαστηριακά και απεικονιστικά ευρήματα επιτρέπουν την διαμόρφωση των ανανεωμένων διαγνωστικών κριτηρίων για την Οπτική Νευρομυελίτιδα, τα οποία θεσπίστηκαν το 2006 (Πίνακας 4) [3]:

**Πίνακας 4: Αναθεωρημένα διαγνωστικά κριτήρια της Οπτικής Νευρομυελίτιδας (2006)**

<b>Απόλυτα κριτήρια:</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Οπτική νευρίτιδα</li><li>• Οξεία μυελίτιδα</li></ul>
<b>Σχετικά κριτήρια: (τουλάχιστον 2 από τα 3)</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Συνεχόμενες βλάβες στο νωτιαίο μυελό, εκτεινόμενες σε 3 τουλάχιστον σπονδυλικά τμήματα</li><li>• Μαγνητική Τομογραφία εγκεφάλου που να μην πληρεί τα κριτήρια της MS</li><li>• Θετικός ορολογικός έλεγχος για το NMO-IgG αντίσωμα</li></ul>

### **3.3.4. Διαφορές και Ομοιότητες Οπτικής Νευρομυελίτιδας και Πολλαπλής Σκλήρυνσης**

Επί μακρόν συζητούνταν το κατά πόσο η Οπτική Νευρομυελίτιδα είναι υποκατηγορία της Πολλαπλής Σκλήρυνσης ή μια διακριτή οντότητα. Πλέον αναγνωρίζεται ως χωριστό σύνδρομο, το οποίο μπορεί να διακριθεί από την Πολλαπλή Σκλήρυνση με βάση κλινικά, νευροαπεικονιστικά και εργαστηριακά ευρήματα.

Η Πολλαπλή Σκλήρυνση (MS) είναι το συνηθέστερο χρόνιο απομυελινωτικό νόσημα του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος. Ο επιπολασμός της κυμαίνεται μεταξύ 1-150/ 100 000, ενώ η αναλογία ανδρών/ γυναικών είναι 1/3 για τη μορφή με υφέσεις και εξάρσεις (RRMS) και 1/1 για την πρωτοπαθή προϊούσα MS (PMS) [182,183]. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη διακύμανση όσον αφορά στις κλινικές εκδηλώσεις και τη βαρύτητά της, και μπορεί να προκαλέσει οπτικές, κινητικές, αισθητικές διαταραχές, και διαταραχές του αυτονόμου. Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της MS παρατίθενται στον Πίνακα 5 [184].

**Πίνακας 5: Αναθεωρημένα Κριτήρια Mc Donald (2005)**

Κλινική Παρουσίαση	Πρόσθετα Στοιχεία που Απαιτούνται για Διάγνωση MS
≥2 κλινικές προσβολές. Αντικειμενική απόδειξη ≥2 εστιών βλάβης	Κανένα
≥2 κλινικές προσβολές. Αντικειμενική απόδειξη 1 εστίας βλάβης	Διασπορά στο χώρο, που καταδεικνύεται από: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Την MRI (κριτήρια Barkhof et al [185] και Tintore et al [186])</li> </ul> <p>ή</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ≥2 εστίες στην MRI, συμβατές με MS, συν θετικό ENY <math>\alpha</math></li> </ul> <p>ή</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Αναμονή για νέα κλινική προσβολή σε διαφορετική ανατομική θέση <math>\beta</math></li> </ul>
1 κλινική προσβολή. Αντικειμενική απόδειξη ≥2 εστιών βλάβης	Διασπορά στο χρόνο, που καταδεικνύεται από: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Την MRI (κριτήρια Barkhof et al [185] και Tintore et al [186])</li> </ul> <p>ή</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Νέα κλινική προσβολή <math>\beta</math></li> </ul>
1 κλινική προσβολή. Αντικειμενική απόδειξη 1 εστίας βλάβης (μονοφασική προσβολή)	Διασπορά στο χώρο, που καταδεικνύεται από: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Την MRI (κριτήρια Barkhof et al [185] και Tintore et al [186])</li> </ul> <p>ή</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ≥2 εστίες στην MRI, συμβατές με MS, συν θετικό ENY <math>\alpha</math></li> </ul> <p><b>ΚΑΙ</b></p> <p>Διασπορά στο χρόνο, που καταδεικνύεται από:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Την MRI (κριτήρια Barkhof et al [185] και Tintore et al [186])</li> </ul> <p>ή</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Νέα κλινική προσβολή <math>\beta</math></li> </ul>
Προϊούσα νευρολογική επιδείνωση ενδεικτική για MS	1 έτος εξέλιξης της νόσου (προοπτικά ή αναδρομικά) <b>ΚΑΙ</b> 2 από τα παρακάτω:

	<p>α. Θετική MRI εγκεφάλου (9 T<sub>2</sub> εστίες ή ≥4 T<sub>2</sub> εστίες με θετικά Οπτικά Προκλητά Δυναμικά του τύπου της MS [187])</p> <p>β. Θετική MRI νωτιαίου μυελού (2 εστιακές T<sub>2</sub> βλάβες)</p> <p>γ. Θετικό ENY<sub>α</sub></p>
--	---

- Εάν τα ανωτέρω κριτήρια πληρούνται και δεν υπάρχει καλύτερη εναλλακτική εξήγηση των συμπτωμάτων, τότε η διάγνωση είναι MS.
- Εάν υπάρχει υψηλή υποψία, αλλά τα κριτήρια δεν πληρούνται, τότε η διάγνωση είναι «πιθανή MS».
- Εάν κατά τη διάρκεια της διερεύνησης προκύψει εναλλακτική διάγνωση η οποία εξηγεί καλύτερα την κλινική συμπτωματολογία, η διάγνωση είναι «όχι MS».

α. Θετικό Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό (ENY), όπως ορίζεται από ολιγοκλωνικές ζώνες (OCBs), διαφορετικές από τυχόν υπάρχουσες ζώνες του ορού, ή από αυξημένο IgG Index.

β. Μια κλινική προσβολή ορίζεται από ένα επεισόδιο νευρολογικής διαταραχής με πιθανά φλεγμονώδη ή απομυελινωτικά αίτια. Πρέπει να υποστηρίζεται από αντικειμενικά ευρήματα ή αντικειμενική παρατήρηση διάρκειας τουλάχιστον 24 ωρών.

Οι εξάρσεις της MS δεν καταλείπουν τόσο βαριές βλάβες και το εύρος συμπτωμάτων της είναι σαφώς μεγάλο, με διασπορά σε χώρο και χρόνο, ενώ στην Οπτική Νευρομυελίτιδα οι βλάβες εντοπίζονται κυρίως στο οπτικό νεύρο και το νωτιαίο μυελό και καταλείπουν σοβαρή μείωση της λειτουργικότητας. Επιπλέον, στην MS οι ολιγοκλωνικές ζώνες είναι συχνό εύρημα (85%), ενώ αντιθέτως στην Οπτική Νευρομυελίτιδα εμφανίζονται στο 15-30%, και το πιο χαρακτηριστικό εργαστηριακό εύρημα είναι τα NMO-IgG αντισώματα στον ορό των ασθενών, τα οποία είναι ειδικά για τη νόσο [64].

Στον Πίνακα 6 συνοψίζονται οι κλινικές διαφορές μεταξύ MS και Οπτικής Νευρομυελίτιδας.

**Πίνακας 6: Κλινικές Διαφορές Οπτικής Νευρομυελίτιδας- Πολλαπλής Σκλήρυνσης**

	<b>Πολλαπλή Σκλήρυνση</b>	<b>Οπτική Νευρομυελίτιδα</b>
<b>Ορισμός</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Συμπτώματα &amp; σημεία του ΚΝΣ που υποδηλώνουν συμμετοχή της λευκής ουσίας.</li> <li>• Ενδείξεις διασποράς σε χώρο &amp; χρόνο, βάσει των κλινικών και απεικονιστικών ευρημάτων</li> <li>• Έλλειψη καλύτερης αιτιολόγησης</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Εγκάρσια μυελίτιδα &amp; οπτική νευρίτιδα.</li> <li>• Τουλάχιστον 2 από τα 3: MRI εγκεφάλου μη διαγνωστική για Πολλαπλή Σκλήρυνση, βλάβη νωτιαίου μυελού <math>\geq 3</math> σπονδυλικά τμήματα, ή NMO-IgG(+)</li> </ul>
<b>Έναρξη &amp; πορεία νόσου</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 85% με εξάρσεις-υφέσεις</li> <li>• 15% πρωτοπαθής προοδευτική</li> <li>• Όχι μονοφασική</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Έναρξη πάντα με έξαρση</li> <li>• 80-90% με εξάρσεις-υφέσεις</li> <li>• 10-20% μονοφασική</li> </ul>
<b>Μέση ηλικία έναρξης νόσου</b>	29	39
<b>Φύλο (θήλυ/ άρρεν)</b>	2:1	9:1
<b>Δευτερογενής προϋούσα πορεία</b>	Συνήθης	Σπάνια
<b>MRI εγκεφάλου</b>	Περικοιλιακές εστίες της λευκής ουσίας	Συνήθως φυσιολογική ή με μη ειδικές εστίες της λευκής ουσίας. Στο 10%, εστίες εντοπισμένες στον υποθάλαμο, στο μεσολόβιο, περικοιλιακά, ή στο εγκεφαλικό στέλεχος
<b>MRI νωτιαίου μυελού</b>	Εστίες μικρού μήκους, περιφερικά εντοπισμένες	Συνεχόμενες εστίες ( $\geq 3$ σπονδυλικά τμήματα), κεντρικά εντοπισμένες
<b>Κύτταρα ENY</b>	Ήπια πλειοκύτωση/ μονοπύρρηνα κύτταρα	Περιστασιακά έντονη πλειοκύτωση. Πολυμορφοπύρρηνα και μονοπύρρηνα κύτταρα
<b>Ολιγοκλωνικές ζώνες ENY</b>	85%	15- 30%

\*Προσαρμοσμένος από Wingerchuk et al., Lancet Neurol, 2007

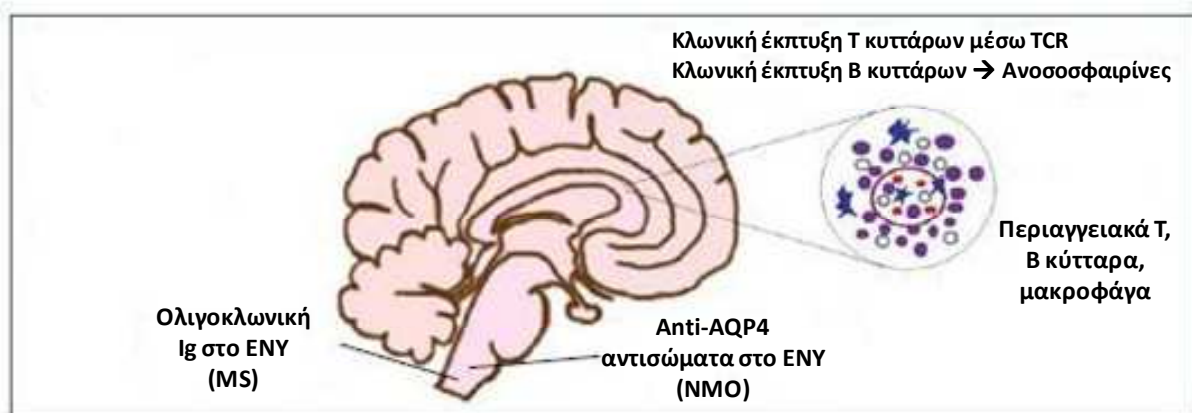


Η MS θεωρείται μια προκαλούμενη από T λεμφοκύτταρα νόσος, αν και πρόσφατες παρατηρήσεις συνηγορούν υπέρ του επίσης καθοριστικού ρόλου των B λεμφοκυττάρων [10], κάτι το οποίο ισχύει και για την Οπτική Νευρομυελίτιδα. Ιστοπαθολογικές μελέτες περιγράφουν, τόσο στην MS όσο και στην Οπτική Νευρομυελίτιδα, περιαγγειακές διηθήσεις, ιδίως στη λευκή ουσία, οι οποίες απαρτίζονται από CD4<sup>+</sup> T λεμφοκύτταρα, B λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα και μακροφάγα (Εικόνα 6) [11,188,189]. Ωστόσο, παρατηρούνται και κάποιες διαφορές ανάμεσα στα δύο νοσήματα. Ειδικότερα, στις φλεγμονώδεις διηθήσεις της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, υπάρχουν επίσης ηωσινόφιλα και ουδετερόφιλα [64,190], ενώ η εναπόθεση των ανοσοσφαιρινών και των παραγώγων του συμπληρώματος πέριξ των αγγείων, με μοτίβο ροζέτας, αντιστοιχεί στην κατανομή της AQP4 στο ΚΝΣ [64].

Τέλος, διαφορές υπάρχουν και στα περιγραφέντα για το κάθε νόσημα αυτοαντισώματα. Πιο συγκεκριμένα, στην MS περιλαμβάνονται τα anti-MOG (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) [191] και τα αντισώματα έναντι του διαύλου ιόντων Kir4.1 [192], τα οποία εμφανίζονται σε υποομάδες ασθενών με MS, ενώ διαγνωστικά για την Οπτική Νευρομυελίτιδα είναι τα NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα, με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα [193].

**Εικόνα 6: Λεμφοκυτταρικές Διηθήσεις και Παραγωγή Ανοσοσφαιρινών στην Πολλαπλή Σκλήρυνση και την Οπτική Νευρομυελίτιδα.**

Απεικονίζονται οι περιαγγειακές διηθήσεις από μακροφάγα, Β και Τ λεμφοκύτταρα στον εγκέφαλο των ασθενών τόσο με MS όσο και με Οπτική Νευρομυελίτιδα, αλλά και οι διαφορετικές μορφές έκφρασης της παρουσίας ανοσοσφαιρινών εντός του ΕΝΥ (ολιγοκλωνικές ζώνες στην MS και NMO-IgG αντισώματα στην Οπτική Νευρομυελίτιδα).



*\*Προσαρμοσμένη από Bhat et al, Neuron 2009.*

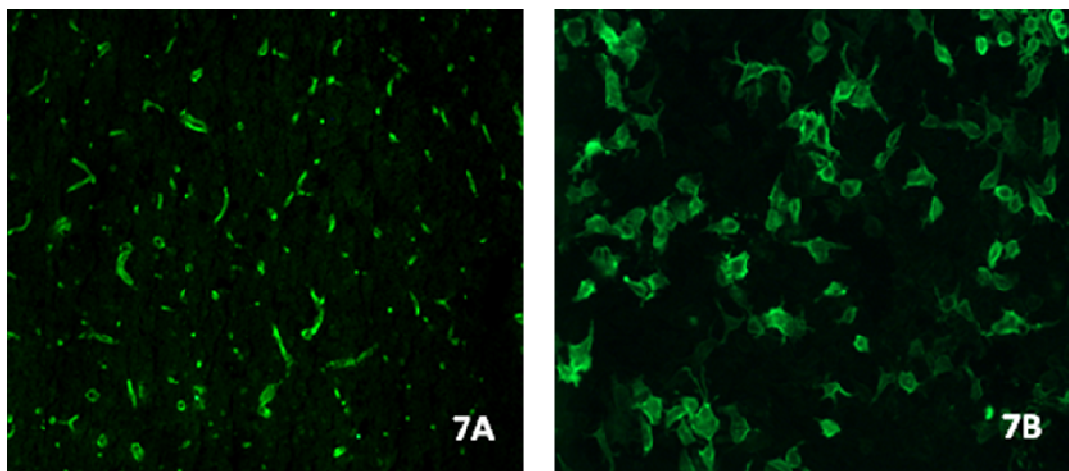
### 3.3.5. NMO-IgG Αντίσωμα

Στην αναγνώριση της Οπτικής Νευρομυελίτιδας ως χωριστής οντότητας συνέβαλε σε μεγάλο βαθμό και η ανακάλυψη το 2004 [51], με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού, ενός νέου αυτοαντισώματος, πιθανού διαγνωστικού δείκτη, το οποίο υπολογίστηκε ότι έχει 73% ευαισθησία και 91% ειδικότητα για την σαφώς καθορισμένη κλινικά Οπτική Νευρομυελίτιδα. Το NMO αντίσωμα είναι ως επί το πλείστον τάξης IgG<sub>1</sub>, ενώ IgM αντισώματα ειδικά για την νόσο απουσιάζουν τόσο από τον ορό, όσο και από το ΕΝΥ των ασθενών [194]. Σε

μεταγενέστερη μελέτη [170], βρέθηκε ότι στρέφεται εναντίον της ακουαπορίνης-4 (AQP4), και εν τέλει εντάχθηκε στα ανανεωμένα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου [3].

Από τον αρχικό εντοπισμό των NMO-IgG αντισωμάτων με την χρήση έμμεσου ανοσοφθορισμού [51], έχουν γίνει προσπάθειες ανίχνευσής τους με χρήση άλλων μεθόδων, όπως με κυτταροεξαρτώμενες μεθόδους (Cell Based Assays, CBA), ELISA και τεχνικές ανοσοκαθίζησης (RIPA, FIPA). Αν και τα αποτελέσματα των μεθόδων είναι συγκρίσιμα, την καλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα εμφανίζει ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IIF) και η CBA (86% ευαισθησία/ 91% ειδικότητα, και 91%/ 100%, αντίστοιχα) (Εικόνα 7) [193].

**Εικόνα 7: Ανίχνευση anti-AQP4 αντισωμάτων με τη βοήθεια του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) (Εικ. 7A) και κυτταροεξαρτώμενης μεθόδου (CBA) (Εικ. 7B).**

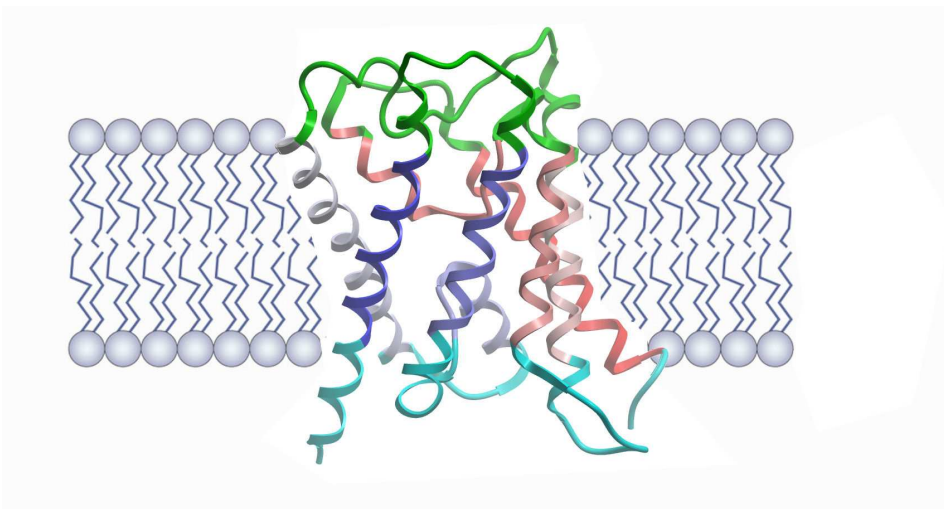


### 3.3.6. Ακουαπορίνη-4 (AQP4)

Η AQP4 είναι ένας διάυλος H<sub>2</sub>O αποτελούμενος από ένα ομοτετραμερές πρωτεΐνης [195], ο οποίος ανήκει σε μια ευρύτερη οικογένεια διαύλων H<sub>2</sub>O που περιλαμβάνει τις ακουαπορίνες

AQP0-12 [196]. Αποτελείται από 3 εξωκυττάριας αγκύλες, 2 ενδοκυττάριας, και το ενδοκυττάριο καρβοξυ- και αμινο-τελικό άκρο, τα οποία συνδέονται με 6  $\alpha$ -έλικες που διατρέχουν την κυτταρική μεμβράνη (Εικόνα 8) [195]. Υφίσταται με τη μορφή ετεροτετραμερών αποτελούμενων από τις 2 ισομορφές της πρωτεΐνης, την  $M_1$  (M.W. 34kDa) και την  $M_{23}$  (M.W. 31kDa), οι οποίες διαφέρουν στα πρώτα 22 αμινοξέα [197]. Πολλαπλά ετεροτετραμερή συνδυάζονται για τον σχηματισμό ορθογώνιων συστοιχιών (Orthogonal Arrays of Particles, OAPs) [198].

**Εικόνα 8: Τριτοταγής δομή της AQP4 (Εξωκυττάρια τμήματα: πράσινο/ Ενδοκυττάρια: γαλάζιο/ Διαμεμβρανικές έλικες: αποχρώσεις από κόκκινο στο αμινο-τελικό άκρο έως μπλε στο καρβοξυ-τελικό άκρο)**



Η AQP4 είναι ο πιο συχνά απαντώμενος διάυλος  $H_2O$  στο ΚΝΣ και εντοπίζεται στις προσεκβολές των αστροκυττάρων, στις θέσεις εκείνες του ΚΝΣ οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανταλλαγή νερού, καλίου και γλουταμινικών ομάδων, και πιο συγκεκριμένα σε επαφή με τα επενδυματικά κύτταρα των κοιλιών, τους κόμβους του Ranvier, και τις διανευρωνικές

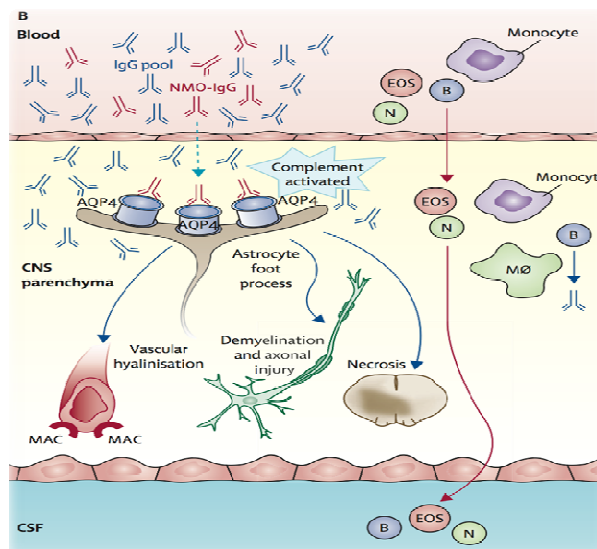
συνάψεις [194]. Δεν εκφράζεται στα ολιγοδενδροκύτταρα και τη μυελίνη, ενώ παράλληλα εκφράζεται και σε μη νευρικούς ιστούς, και πιο συγκεκριμένα στα τοιχωματικά κύτταρα του γαστρικού βλεννογόνου και στα άπω νεφρικά σωληνάκια, τα οποία ωστόσο δεν εμφανίζουν βλάβες κατά τη νόσο [170]. Όσον αφορά δε στις δύο γνωστές ισομορφές της AQP4 ( $M_1$ ,  $M_{23}$ ), είναι ασαφές εναντίον ποιός στρέφονται τα IgG ειδικά αυτοαντισώματα [198,199], ενώ δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως και το κατά πόσον είναι γραμμικοί ή στερεοτακτικοί οι επίτοποι εναντίον των οποίων στρέφονται τα αντισώματα [198,199].

### **3.3.7. Παθογένεια**

Τα NMO-IgG αντισώματα παράγονται εκτός του ΚΝΣ, στα περιφερικά λεμφικά όργανα, γεγονός που αποδεικνύεται και από την απουσία ευρημάτων ενδορραχιαίας παραγωγής ανοσοσφαιρινών (ολιγοκλωνικές ζώνες) [64]. Βάσει ενός προτεινόμενου παθογενετικού μηχανισμού [64], τα αντισώματα εισέρχονται στο ΚΝΣ από περιοχές σχετικής διαπερατότητας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού ή μέσω διακυτταρικής ενδοκυττάρωσης. Οι βασικές δράσεις που επάγουν είναι η ενδοκυττάρωση των υποδοχέων AQP4 που βρίσκονται στην επιφάνεια των αστροκυττάρων και η ενεργοποίηση του συμπληρώματος, η οποία με την σειρά της οδηγεί σε αυξημένη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, και επαγόμενη από αντισώματα κυτταροεξαρτώμενη βλάβη [194,200]. Η απομυελίνωση εμφανίζεται μεταγενέστερα και πιθανοί μηχανισμοί είναι η αυξημένη επιρρέπεια των ολιγοδενδροκυττάρων σε επιβλαβή ερεθίσματα, η δράση των αντισωμάτων εναντίον των αστροκυττάρων που περιβάλλουν τους κόμβους του Ranvier, η αξονική βλάβη εξ' αιτίας της διαταραχής του μικροπεριβάλλοντος των ιόντων, και η τοξικότητα από γλουταμίνη, καθώς ο

αστροκυτταρικός διαμεμβρανικός μεταφορέας γλουταμίνης EAAT2, εξαρτάται από την AQP4 για την έκφρασή του (Εικόνα 9). Η ιστολογική εικόνα των οξέων βλαβών εμφανίζει οίδημα, διήθηση από μακροφάγα, ενεργοποίηση της μικρόγλοιας, απομυελίνωση, απώλεια αξόνων, νέκρωση και ποικίλη περιαγγειακή φλεγμονή, ενώ οι χρόνιες βλάβες χαρακτηρίζονται από γλοΐωση, κυστική εκφύλιση και ατροφία [190,201,202]. Τέλος, υπέρ της παθογενετικής δράσης των αντισωμάτων είναι το γεγονός ότι, με την παθητική μεταφορά NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισωμάτων στο ΚΝΣ, είτε μετά από βλάβη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού [203,204], είτε με απ' ευθείας ενδοθηκική έγχυση [205], τα πειραματικά ζωικά μοντέλα εμφάνισαν νόσο προσομοιάζουσα στην Οπτική Νευρομυελίτιδα.

**Εικόνα 9: Προτεινόμενος Παθογενετικός Μηχανισμός για την Οπτική Νευρομυελίτιδα**



\*Προσαρμοσμένη από Wingerchuck et al., Lancet Neurol 2007

### 3.3.8. Πιθανοί Επίτοποι της Ακουαπορίνης-4 (AQP4)

Παρά το γεγονός ότι τα anti-AQP4 αντισώματα έχουν έναν εγκατεστημένο ρόλο στην παθογένεια της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, η ειδικότητά τους έναντι συγκεκριμένων επιτόπων δεν έχει διευκρινιστεί.

Υπάρχουν δύο βασικές ταξινομήσεις επιτόπων:

- Οι γραμμικοί ή συνεχείς επίτοποι καθορίζονται από την πρωτοταγή αλληλουχία αμινοξέων μιας συγκεκριμένης περιοχής της πρωτεΐνης. Οι επιφάνειες που αλληλεπιδρούν με το αντίσωμα είναι συνεχόμενες επί της πρωτεΐνης.
- Οι επίτοποι που καθορίζονται με βάση την στερεοταγή δομή της πρωτεΐνης μπορεί να είναι συνεχείς ή ασυνεχείς. Παραδείγματος χάριν, τμήματα του επιτόπου μπορεί να βρίσκονται σε απομακρυσμένα σημεία της πρωτεΐνης, τα οποία έρχονται εγγύτερα στην αναδιπλωμένη μορφή της πρωτεΐνης.

Όσον αφορά στην Οπτική Νευρομυελίτιδα, άλλες μελέτες υποστηρίζουν την ύπαρξη στερεοδιαμορφωτικών επιτόπων [198,206], ενώ άλλες προτείνουν την παρουσία γραμμικών επιτόπων στο μετουσιωμένο μόριο της πρωτεΐνης [199].

Ειδικότερα, η μελέτη των Marnetto et al. [199] έδειξε, με τη μέθοδο Western Blot, ότι ο μείζων στόχος των anti-AQP4 αντισωμάτων στην Οπτική Νευρομυελίτιδα είναι η γραμμική M<sub>1</sub> ισομορφή. Σε μια άλλη μελέτη ωστόσο, η M<sub>23</sub> ισομορφή προτείνεται ως ο μείζων στόχος των anti-AQP4 αντισωμάτων [198]. Στη μελέτη αυτή, διαμορφωτικός επίτοπος, σχετιζόμενος με τη διάταξη των μορίων σε ορθογώνιες συστοιχίες (OAPs), εντοπίστηκε στην επιφάνεια ζώντων

κυττάρων που είχαν επιμολυνθεί ώστε να εκφράζουν εκλεκτικά την M<sub>23</sub> ισομορφή της AQP4, ενώ περαιτέρω έρευνες ανέδειξαν τις 2 πρώτες εξωκυττάριας αγκύλες της πρωτεΐνης, και ιδίως τη δεύτερη (C-loop), ως τους κυρίαρχους επιτόπους της Οπτικής Νευρομυελίτιδας [207,208].

### 3.3.9. Σύνδρομα του Φάσματος της Οπτικής Νευρομυελίτιδας

Πέραν της κλασσικής μορφής της οπτικής νευρομυελίτιδας υπάρχουν και πιο περιορισμένες μορφές της νόσου, οι οποίες συνυπάρχουν με τα NMO-IgG αντισώματα, και από κοινού με την κλασσική Οπτική Νευρομυελίτιδα απαρτίζουν το «φάσμα» της Οπτικής Νευρομυελίτιδας.

Οι μορφές αυτές είναι οι εξής [64]:

1. Περιορισμένες μορφές της Οπτικής Νευρομυελίτιδας
  - i. Ιδιοπαθή επεισόδια εγκάρσιας μυελίτιδας που να εκτείνεται σε τουλάχιστον 3 σπονδυλικά τμήματα (LETM)
  - ii. Υποτροπιάζουσα αμφοτερόπλευρη οπτική νευρίτιδα (BRON)
2. Ασιατική Οπτικομυελική Πολλαπλή Σκλήρυνση

#### Κριτήρια [173]:

- ✓ Οι κλινικά εκτιμώμενες κύριες βλάβες εντοπίζονται στο οπτικό νεύρο και τον νωτιαίο μυελό
  - ✓ Δεν υπάρχουν εγκεφαλικά και παρεγκεφαλιδικά συμπτώματα
  - ✓ Μικρές βλάβες του εγκεφαλικού στελέχους είναι αποδεκτές
  - ✓ Τουλάχιστον μια υποτροπή ( $\geq 2$  προσβολές)
3. Οπτική νευρίτιδα ή επιμήκης εγκάρσια μυελίτιδα σχετιζόμενη με συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα (συνήθως ΣΕΛ ή Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren). Πρόκειται για την συνύπαρξη



δύο αυτοάνοσων νόσων, παρά για δευτερογενή επιπλοκή του συστηματικού αυτοάνοσου νοσήματος [52].

4. Οπτική νευρίτιδα ή μυελίτιδα σχετιζόμενη με εστίες του εγκεφάλου τυπικές της Οπτικής Νευρομυελίτιδας (στον υποθάλαμο, το μεσολόβιο, το στέλεχος, και περικοιλιακά)

### **3.3.10. Πρόγνωση- Θεραπεία**

Σε αντίθεση με την Πολλαπλή Σκλήρυνση, οι εξάρσεις της Οπτικής Νευρομυελίτιδας καταλείπουν σοβαρές υπολειμματικές βλάβες. Εντός της πενταετίας, το 50% των ασθενών έχει απωλέσει την λειτουργική όραση τουλάχιστον του ενός οφθαλμού, ή είναι ανίκανο να περπατήσει χωρίς στήριξη, ενώ ένα 20% καταλήγει εξ' αιτίας αναπνευστικής ανεπάρκειας, λόγω θωρακικής μυελοπάθειας.

Η θεραπεία διαφέρει από την θεραπεία της Πολλαπλής Σκλήρυνσης (IFN-β, glatiramer acetate κ.α.), καθώς κλινικές παρατηρήσεις δεν υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητα των συγκεκριμένων φαρμάκων στην αντιμετώπιση της Οπτικής Νευρομυελίτιδας [209,210]. Αντιθέτως βασίζεται στη χρήση κορτικοστεροειδών και άλλων ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, καθώς και στην πλασμαφαίρεση σε περιπτώσεις ανθεκτικές στα κορτικοστεροειδή [64,209,211]. Η διατήρηση της ύφεσης επιτυγχάνεται με τη χορήγηση ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων, όπως της αζαθειοπρίνης (2,5–3 mg/kg/ημέρα), σε συνδυασμό με από του στόματος πρεδνιζόνη (~1 mg/kg/ημέρα) [202]. Επίσης, μελέτες προτείνουν τη χορήγηση μιτοξανδρόνης, ενδοφλέβιας ανοσοσφαιρίνης και anti-CD20 μονοκλωνικού αντισώματος (rituximab) [212-214].

#### **4. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η διερεύνηση διαφορετικών πτυχών της αυτοάνοσης νευρολογικής προσβολής.

Στο πρώτο, κλινικό τμήμα της, η έρευνα στοχεύει στην εκτίμηση της επίπτωσης και του επιπολασμού των σαφών κλινικά νευρολογικών εκδηλώσεων του ΚΝΣ σε ασθενείς με ΣΕΛ. Εντοπίζει δε στα λεγόμενα «μείζονα» νευρολογικά συμβάματα και στη διάκρισή τους από τις ελάσσονες, συχνά υποκλινικές, και ενδεχομένως χωρίς αιτιοπαθογενετική συσχέτιση με τη νόσο, εκδηλώσεις. Επιπλέον, γίνεται προσπάθεια εύρεσης συγκεκριμένων κλινικοεργαστηριακών χαρακτηριστικών των ασθενών, που να σχετίζονται, τόσο με τη νευρολογική προσβολή στο σύνολό της, όσο και με επιμέρους νευρολογικά σύνδρομα.

Το δεύτερο, εργαστηριακό τμήμα της παρούσας έρευνας αφορά στην προσπάθεια χαρτογράφησης των επιτόπων εναντίον των οποίων στρέφονται τα αντισώματα έναντι της ακουαπορίνης-4 (AQP4). Επίσης, σκοπός της είναι η εύρεση πιθανών ομολογιών μεταξύ των επιτόπων αυτών και άλλων πρωτεϊνικών μορίων. Η εύρεση των επιτόπων αναμένεται να συμβάλλει στην διευκρίνιση της παθογένειας της νόσου, αλλά και στην δημιουργία νέων ευαίσθητων διαγνωστικών τεχνικών.

Τέλος, η υπόθεση ότι οι παθογενετικοί μηχανισμοί της Οπτικής Νευρομυελίτιδας και της Πολλαπλής Σκλήρυνσης μπορεί να συγκλίνουν ή να προσομοιάζουν σε κάποια σημεία τους, οδήγησε στην έρευνα για την εύρεση στοιχείων αυτοανοσίας του τύπου της ΝΜΟ σε ασθενείς με κλασσική MS, και πιο συγκεκριμένα, για τη εύρεση αντισωμάτων έναντι των επιτόπων της AQP4 στους ασθενείς αυτούς.

# **5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

## **5.1 ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **5.1.1. Δείγμα της μελέτης**

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από 1 Ιουλίου 2008 έως και 31 Ιουλίου 2011 στην Κλινική της Παθολογικής Φυσιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό». Συμπεριλήφθησαν προοδευτικά 370 ασθενείς με ΣΕΛ (μέσος όρος ηλικίας  $32 \pm 14$  έτη, 88% γυναίκες), οι οποίοι δεν είχαν προηγούμενο ιστορικό προσβολής του ΚΝΣ. Όλοι οι ασθενείς πληρούσαν τα διαγνωστικά κριτήρια του ACR (1997) [24] για τον ΣΕΛ, και ως χρονικό σημείο διάγνωσης της νόσου θεωρούνταν η αναγνώριση τουλάχιστον 4 κριτηρίων.

Οι ασθενείς ενημερώθηκαν για τους σκοπούς και τις μεθόδους της μελέτης και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους σε αυτή. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Λαϊκό».

### **5.1.2. Ορισμός της Οργανικής Προσβολής του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ)**

Μεταξύ των 19 ορισμών νευρολογικής προσβολής, όπως αυτοί ορίζονται από το ACR [24], επιλέχθηκαν 8 αντικειμενικές μείζονες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ. Αυτές ήταν:

- η χορεία
- η άσηπτη μηνιγγίτιδα
- η ψύχωση
- οι επιληπτικές κρίσεις
- η μυελοπάθεια
- το απομυελινωτικό σύνδρομο
- η οξεία συγχυτική κατάσταση
- τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια

Η διάγνωση των ανωτέρω βασίστηκε στην αντικειμενική νευρολογική εξέταση, τις απεικονιστικές και εργαστηριακές εξετάσεις, καθώς και στους αποκλεισμούς και τις συσχετίσεις που προτείνονται από το ACR.

Αποκλείονταν, ως μη σχετιζόμενες με τον ΣΕΛ, οι εκδηλώσεις του ΚΝΣ οι οποίες εμφανίζονταν σε άτομα με πρόσφατη διάγνωση κακοήθειας (<5 έτη), μη ελεγχόμενο υπερ- ή υποθυροειδισμό, ενεργό συστηματική λοίμωξη ή λοίμωξη του ΚΝΣ, λοίμωξη από τους ιούς HBV ή HCV, καθώς και οι εκδηλώσεις οι οποίες σχετίζονταν με πρόσφατη έναρξη φαρμακευτικών ουσιών με πιθανές νευρολογικές ανεπιθύμητες ενέργειες.

Επιπλέον, αποκλείστηκαν όλες οι περιπτώσεις προσβολής του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος, αλλά και οι περιπτώσεις κεφαλαλγίας, αγχώδους διαταραχής, υποκλινικής γνωσιακής δυσλειτουργίας και ήπιας κατάθλιψης, ως ελάσσονα, μη ειδικά συμβάματα [25,27,32].

Η υποκλινική γνωσιακή δυσλειτουργία είναι ένα σχετικά σύνηθες εύρημα στους ασθενείς με ΣΕΛ, με ή χωρίς άλλες μείζονες νευρολογικές εκδηλώσεις [151,152] ενώ εμφανίζεται και στο Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο (APS) [215]. Ωστόσο, η συγκεκριμένη μελέτη δεν είχε ως στόχο της τον εντοπισμό μη κλινικά εμφανών γνωσιακών ελλειμμάτων. Ως εκ τούτου, δεν χρησιμοποιήθηκε σύνολο λεπτομερών νευροψυχολογικών δοκιμασιών, αλλά το Mini Mental Scale Examination (MMSE) [216,217], το οποίο εφαρμόστηκε σε όλους τους ασθενείς με αυτοαναφερόμενες γνωσιακές διαταραχές. Ως κλινικά εμφανής γνωσιακή δυσλειτουργία ορίστηκε το MMSE Score < 25.

### 5.1.3. Κλινική και Εργαστηριακή Διερεύνηση

Έγινε καταγραφή όλων των μείζονων εκδηλώσεων από το ΚΝΣ, οι οποίες αποδόθηκαν στον ΣΕΛ κατά τη διάρκεια της μελέτης. Κατά την πρώτη επίσκεψη, οι ασθενείς έδωσαν αναλυτικές πληροφορίες σχετικά με το ιστορικό τους και υποβλήθηκαν σε λεπτομερή κλινική και νευρολογική εξέταση, καθώς και σε ανοσολογικό έλεγχο και εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας.

Το European Consensus Lupus Activity Measurement Score (ECLAM) [218] και το Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) - SELENA Modification [219], χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της ενεργότητας του ΣΕΛ την εκάστοτε χρονική στιγμή. Το SLICC/ACR Damage Index (SDI) [220] εφαρμόστηκε για τον υπολογισμό της αθροιστικής βλάβης από τη νόσο. Επειδή οι δείκτες ECLAM, SLEDAI και SDI περιέχουν νευρολογικές μεταβλητές, ο υπολογισμός τους επαναλήφθηκε και μετά από την αφαίρεση των μεταβλητών αυτών. Τα ανωτέρω σκορ, χωρίς το συνυπολογισμό των νευρολογικών μεταβλητών, αναφέρονται ως τροποποιημένα ECLAM, SLEDAI και SDI (m-ECLAM, m-SLEDAI και m-SDI, αντιστοίχως).

Οι τύποι της σπειραματονεφρίτιδας κατηγοριοποιήθηκαν σύμφωνα με τα κριτήρια της International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) του 2003 [221]. Η ύπαρξη δευτεροπαθούς Αντιφωσφολιπιδικού Συνδρόμου διαγνώσθηκε βάσει των αναθεωρημένων κριτηρίων του 2006, του ACR [222].

Οι ασθενείς αξιολογούνταν κάθε 4 έως 8 μήνες, καθώς και σε κάθε περίπτωση έξαρσης της νόσου, νέου νευρολογικού συμβάματος ή επιπλοκής από τη νόσο ή τη θεραπεία. Επιπλέον, καταγράφηκαν όλες οι νοσηλείες των ασθενών τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, ανεξάρτητα από την αιτία τους.

Σε κάθε εμφάνιση νέου νευρολογικού συμβάματος πραγματοποιούνταν πλήρης κλινική εκτίμηση και νευρολογική εκτίμηση από τον ίδιο ειδικό νευρολόγο, Μαγνητικές Τομογραφίες (MRI) εγκεφάλου ή/ και νωτιαίου μυελού, καθώς και ανάλυση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY), όποτε αυτό κρίνονταν απαραίτητο, σύμφωνα με τις συστάσεις του ACR (1999) [24] και του EULAR (2010) [29]. Επίσης, οι δείκτες ECLAM, SLEDAI και SDI υπολογίζονταν σε κάθε νέα νευρολογική εκδήλωση.

Η ανίχνευση των Αντιπυρηνικών Αντισωμάτων (ANA) και των αντι-ριβωσωμικών αντισωμάτων (anti-RibP) [223] έγινε με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού (IIF) σε HEp-2 κύτταρα, ενώ τα NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα ανιχνεύονταν με έμμεσο ανοσοφθορισμό (IIF) σε τομές εγκεφάλου ποντικού, καθώς και με μια κυτταροεξαρτώμενη μέθοδο (Cell Based Assay, CBA) [51,170].

#### **5.1.4. Στατιστική Ανάλυση**

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως Μέσος Όρος ( $m$ )  $\pm$  Σταθερή Απόκλιση (SD), όταν έχουν κανονική κατανομή, ή ως Διάμεσος και Τεταρτημόρια (Q), όταν η κατανομή τους είναι μη κανονική. Οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται ως συχνότητες. Η κανονικότητα της κατανομής ελέγχθηκε γραφικά με τη χρήση των P-P plots. Η δοκιμασία  $\chi^2$  για τις κατηγορικές μεταβλητές και η δοκιμασία Mann-Whitney για τις ποσοτικές, χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση των συσχετίσεων μεταξύ των υποομάδων ασθενών με νευρολογική προσβολή.

Η επίπτωση υπολογίστηκε μεταξύ των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΣΕΛ για την τριετία 2008-2011 και για την περιγραφή της χρησιμοποιήθηκαν τα ανθρωποέτη παρατήρησης.

Εφαρμόστηκαν μοντέλα δυαδικής λογιστικής παλινδρόμησης (binary logistic regression analysis) για την αξιολόγηση της συσχέτισης ή μη των διαφόρων χαρακτηριστικών των ασθενών με την ύπαρξη νευρολογικής προσβολής. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως λόγοι σχετικών πιθανοτήτων (Odds Ratio) συν τα αντίστοιχα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (Confidence Intervals, CI). Ο έλεγχος Hosmer-Lemeshow χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της καλής προσαρμογής του μοντέλου.

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ήταν  $P \leq 0.05$ . Το στατιστικό λογισμικό πρόγραμμα SPSS (SPSS Hellas Inc., Athens, Greece) χρησιμοποιήθηκε για όλες τις στατιστικές αναλύσεις.

## **5.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **5.2.1 Ασθενείς και Οροί**

Χρησιμοποιήθηκαν οροί από 21 ασθενείς θετικούς για NMO IgG/ anti-AQP4 αντισώματα, τα οποία ανιχνεύθηκαν με τη μέθοδο του έμμεσου ανοσοφθορισμού σε τομές εγκεφάλου ποντικού [51] (21/21 θετικοί), καθώς και με μια κυτταροεξαρτώμενη μέθοδο, η οποία χρησιμοποιεί HEK293 κύτταρα, διαμολυσμένα με την M<sub>23</sub> ισομορφή της AQP4 [170] (16/21 θετικοί). Όλοι οι ασθενείς ανήκαν στο φάσμα νοσημάτων της Οπτικής Νευρομυελίτιδας (NMO) [64] και παρουσίαζαν ενεργό νευρολογική προσβολή κατά τη λήψη των δειγμάτων αίματος, βάσει της κλινικής τους εικόνας και της απεικόνισης με Μαγνητική Τομογραφία (MRI). Οροί από 28 υγιή άτομα χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η ομάδα ελέγχου άλλων νοσημάτων αποτελούνταν από 23 ασθενείς με Συστηματικό Ερυθηματώδη Λύκο (ΣΕΛ) και 23 ασθενείς με Πρωτοπαθές Σύνδρομο Sjögren's (pSS), χωρίς νευρολογική προσβολή. Όλοι οι ασθενείς με ΣΕΛ πληρούσαν τα αναθεωρημένα κριτήρια του 1997 του American College of Rheumatology (ACR)



για τη διάγνωση της νόσου [224], ενώ οι ασθενείς με pSS πληρούσαν τα αναθεωρημένα κριτήρια του American - European Consensus Group [225]. Τέλος, ελέγχθηκαν οροί 45 ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση με Εξάρσεις και Υφέσεις (Relapsing Remitting Multiple Sclerosis, RRMS), καθώς και 13 ασθενείς με Πρωτοπαθή Προϊούσα MS (PMS), διαγνωσμένοι με βάση τα κριτήρια McDonald [184].

### 5.2.2. Σύνθεση των Πεπτιδίων

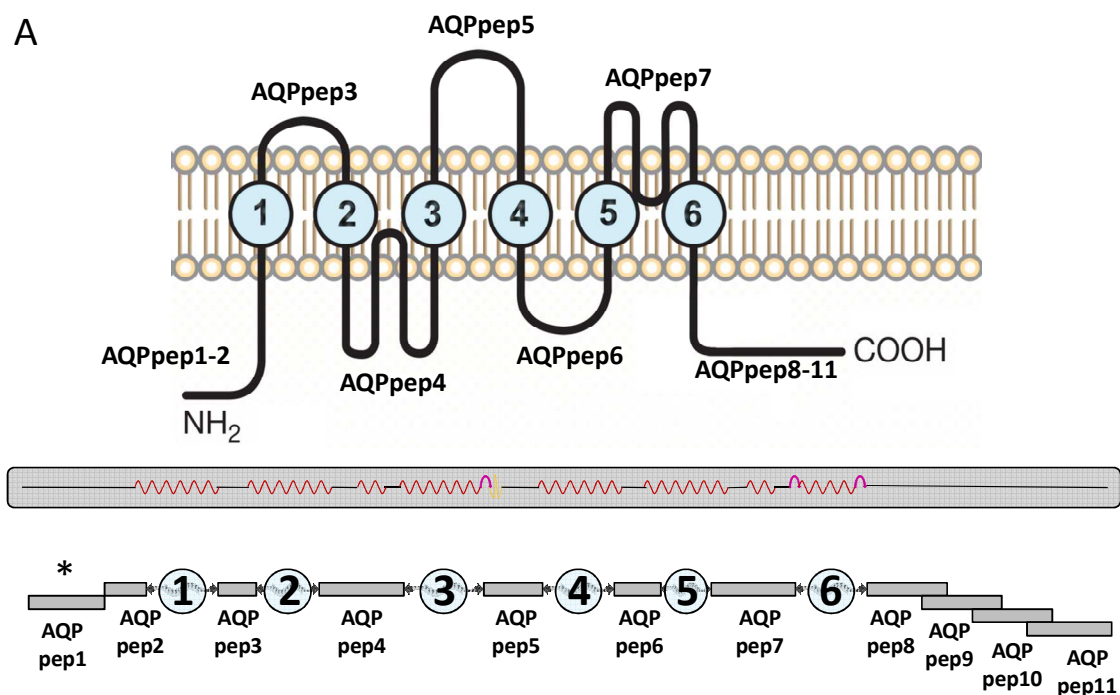
Συντέθηκαν 11 πεπτίδια στη μορφή των δενδρομερών πεπτιδίων (πολλαπλά αντιγονικά πεπτίδια ή multiple antigenic peptides (MAP)), από την Bio-synthesis Inc, U.S.A. Τα πεπτίδια κατασκευάστηκαν ώστε να καλύπτουν όλες τις εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια περιοχές και των 2 ισομορφών ( $M_1$  και  $M_{23}$ ) της AQP4 ( $M_1$ : UniProtKB accession number P55087-1,  $M_{23}$ : UniProtKB accession number P55087-2), και ήταν είτε μονήρη για μια περιοχή της πρωτεΐνης, είτε αλληλοεπικαλυπτόμενα κατά 8 αμινοξέα. Τα πρώτα 2 πεπτίδια (AQPper1 και AQPper2) κάλυπταν την αμινο-τελική ενδοκυττάρια περιοχή της πρωτεΐνης (*Εικόνα 10*). Το πεπτίδιο AQPper1 σχεδιάστηκε ώστε να περιλαμβάνει τα πρώτα 22 αμινοξέα, τα οποία βρίσκονται μόνο στην  $M_1$  ισομορφή της AQP4, σε μη επικαλυπτόμενη σχέση με το AQPper2, το οποίο ξεκινούσε ακριβώς στο αμινοξύ στο οποίο αντιστοιχεί το αμινο-τελικό άκρο της  $M_{23}$  ισομορφής. Τα πεπτίδια AQPper3 έως AQPper7 αντιστοιχούσαν στις 3 εξωκυττάρια και τις 2 ενδοκυττάρια αγκύλες της πρωτεΐνης και, τέλος, το καρβοξυ-τελικό ενδοκυττάριο άκρο της AQP4 καλυπτόταν από τέσσερα 24-μερή πεπτίδια, αλληλοεπικαλυπτόμενα κατά 8 αμινοξέα (πεπτίδια AQPper8, AQPper9, AQPper10 και AQPper11).

### Εικόνα 10: Σχηματική αναπαράσταση μονομερούς της AQP4

(A) 4 ενδοκυττάρια και 3 εξωκυττάρια περιοχές συνδέονται με 6 διαμεμβρανικές α-έλικες (αρίθμηση 1 έως 6). Παρουσιάζεται η δευτεροταγής αλληλουχία του μορίου, καθώς και οι περιοχές που αντιστοιχούν στο κάθε συνθετικό πεπτίδιο. Τα συνθετικά πεπτίδια καλύπτουν όλες τις ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια περιοχές της πρωτεΐνης.

Ο αστερίσκος (\*) αντιστοιχεί στο πεπτίδιο AQPrep1 [aa1-22], το οποίο υπάρχει μόνο στην M<sub>1</sub> ισομορφή της AQP4.

(B) Παρουσιάζονται οι αλληλουχίες των πεπτιδίων της AQP4 και η ακριβής τους εντόπιση εντός της πρωτεΐνης.



B

Πεπτίδιο	Εντόπιση	Αλληλουχία	Αμινοξέα
<b>AQPrep1</b>	ενδοκυττάριο	MSDRPTARRWGKCGPLCTRENI	[aa1-22]
<b>AQPrep2</b>	ενδοκυττάριο	MVAFKGVWTQAFWK	[aa23-36]
<b>AQPrep3</b>	εξωκυττάριο	NWGGTEKPLPVDM	[aa57-69]
<b>AQPrep4</b>	ενδοκυττάριο	FGHISGGHINPAVTVAMVCTRKISIA	[aa88-113]
<b>AQPrep5</b>	εξωκυττάριο	TPPSVVGGLGVTMVHGNLT	[aa137-155]
<b>AQPrep6</b>	ενδοκυττάριο	SCDSKRTDVTGSIA	[aa177-190]
<b>AQPrep7</b>	εξωκυττάριο	INYTGASMNPARSFGPAVIMGNWENH	[aa205-230]
<b>AQPrep8</b>	ενδοκυττάριο	FCPDVEFKRRFKEAFSKAAQQTGK	[aa252-275]
<b>AQPrep9</b>	ενδοκυττάριο	KAAQQTGKSYMEVEDNRSQVETDD	[aa268-291]
<b>AQPrep10</b>	ενδοκυττάριο	RSQVETDDLILKPGVVHVIDVDRG	[aa284-307]
<b>AQPrep11</b>	ενδοκυττάριο	HVIDVDRGEEKKGKDQSGEVLSSV	[aa300-323]

Τέλος, κατασκευάστηκαν 2 πρόσθετα 15-μερή πεπτίδια, τα οποία αντιστοιχούσαν, το μεν πρώτο στα αμινοξέα [aa257-271] της AQP4, και το δε δεύτερο στα αμινοξέα [aa219-233] της TAX1BP1 πρωτεΐνης (Tax1-HTLV-1 binding protein, UniProtKB accession number Q86VP1) (Πίνακας 7).

**Πίνακας 7: Ομόλογες αλληλουχίες των 15-μερών πεπτιδίων της AQP4 και της TAX1BP1**

Προέλευση	Αλληλουχία	Αμινοξέα
AQRper8 (AQP4)	<b>EFKRRFKEAFSKAAQ</b> EFK RF +A SKA Q	[aa6-20]
TAX1BP1	<b>EFKKRFSDATSKAHQ</b>	[aa219-233]

Το σύμβολο “+” αντιστοιχεί σε συντηρητικές αλλαγές στην αμινοξική αλληλουχία.

### 5.2.3. Ανοσοενζυμική Μέθοδος ELISA

Όλοι οι ασθενείς και οι μάρτυρες ελέγχθηκαν για την παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι των 11 πεπτιδίων με τη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Πλακίδια των 96 θέσεων επιστρώθηκαν με 100 μl διαλύματος πεπτιδίου (2.5 μg/ml σε ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου - διττανθρακικού νατρίου, PH 9.8) και επώαστηκαν στους 4°C για διάστημα 16 ωρών. Στη συνέχεια, οι εναπομείνουσες ελεύθερες θέσεις πρόσδεσης καλύφθηκαν με 2% αλβουμίνη βόειου ορού (bovine serum albumin, BSA) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (phosphate buffered saline, PBS), σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Μετά από 3 πλύσεις με PBS, προστέθηκε στα πλακίδια διάλυμα των προς εξέταση ορών σε αραιώση 1/150 σε 2% BSA/ PBS.

Μετά από επώαση 2 ωρών και 3 πλύσεις με PBS, προστέθηκε συνδεδεμένο με αλκαλική φωσφατάση αντίσωμα αίγας έναντι του Fc τμήματος ανθρώπινων IgG αντισωμάτων 1/1200 σε

διάλυμα 2% BSA/ PBS, και παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Τέλος, η εμφάνιση έγινε με το υπόστρωμα αλκαλικής φωσφατάσης p-nitrophenyl-phosphate σε διάλυμα αιθανολαμίνης και η απορρόφηση χρώματος μετρήθηκε στα 405 nm. Κάθε ορός ασθενούς μετρήθηκε εις διπλούν και υπολογίστηκε ο μέσος όρος, ενώ για κάθε δείγμα ασθενούς μετρήθηκε και η απορρόφηση σε επιστρωμένη με αλβουμίνη θέση, η οποία στη συνέχεια αφαιρέθηκε από τη μετρούμενη απορρόφηση της επιστρωμένης με πεπτιδίο θέσης για τον αντίστοιχο ορό. Ως καθαρή τιμή απορρόφησης για κάθε δείγμα ορού θεωρήθηκε η διαφορά μεταξύ των ανωτέρω μετρήσεων. Ως φυσιολογικό όριο θεωρήθηκε η μέση τιμή απορρόφησης των υγιών μαρτύρων συν 3 σταθερές αποκλίσεις.

#### **5.2.4. Δοκιμασίες Ομόλογης Αναστολής**

Πραγματοποιήθηκαν δοκιμασίες ομόλογης αναστολής, προκειμένου να αξιολογηθεί η ειδικότητα των αντιδράσεων. Οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν αρχικά με διαφορετικές συγκεντρώσεις ορού και πεπτιδίων στα διαλύματα προεπάσης, έτσι ώστε να καθοριστεί ο βέλτιστος συνδυασμός. Οι υπόλοιπες συνθήκες (θερμοκρασία, διάρκεια επάσης των διαλυμάτων, ρυθμιστικά διαλύματα και διαλύματα πλύσης) παρέμεναν οι ίδιες. Ειδικότερα, διαλύματα ορού με συγκεντρώσεις 1/150, 1/300 και 1/500 συνδυάστηκαν με συγκεντρώσεις πεπτιδίου 0–4–16–64 μg/ml και 0–10–40 μg/ml, προκειμένου να βρεθούν οι βέλτιστες συνθήκες.

Μετά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ελέγχθηκαν 3 NMO-IgG θετικοί οροί με υψηλή δραστικότητα κατά των πεπτιδίων, όλοι οι θετικοί για αντισώματα οροί ασθενών με MS, αλλά και όλοι οι θετικοί οροί από τις ομάδες ελέγχου. Διάλυμα των ορών 1/300 σε 2% BSA/ PBS

επωάστηκε με σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις (0 mg/ml, 10 mg/ml και 40 mg/ml) των πεπτιδίων AQRper1, AQRper4, AQRper8 (τα οποία ήταν τα 3 πιο δραστικά), καθώς και ενός πεπτιδίου «ελέγχου» (control peptide, Ctrl-Pep), στους 4°C για διάστημα 16 ωρών. Το πεπτίδιο AQRper9 επιλέχθηκε ως πεπτίδιο «ελέγχου», καθώς εμφάνισε ιδιαίτερα χαμηλή δραστικότητα στην πρώτη σειρά πειραμάτων.

Τα διαλύματα ορών - πεπτιδίων αξιολογήθηκαν για δραστικότητα έναντι των αντίστοιχων πεπτιδίων, καθώς και του control peptide, με ELISA. Το ποσοστό αναστολής υπολογίστηκε ως  $\{([OD\ 0\ mg/ml] - [OD\ 40\ mg/ml]) / [OD\ 0\ mg/ml]\} \times 100\%$  για κάθε ορό. Μια δοκιμασία αναστολής θεωρούνταν θετική όταν το ποσοστό αναστολής για το εξεταζόμενο πεπτίδιο ήταν  $\geq 50\%$ , και η διαφορά δραστικότητας μεταξύ εξεταζόμενου πεπτιδίου και πεπτιδίου ελέγχου  $\geq 40\%$ . Όλα τα βήματα της δοκιμασίας ELISA έγιναν όπως και στην πρώτη σειρά πειραμάτων, με εξαίρεση την επώαση των πλακιδίων με τα διαλύματα των ορών, η οποία διήρκεσε 1 ώρα αντί για 2.

#### **5.2.5. Αναζήτηση για Ομόλογες Αλληλουχίες**

Η αλληλουχίες των αντιγονικών πεπτιδίων συγκρίθηκαν με τις αλληλουχίες στη βάση δεδομένων UniProtKB database (version 2010\_10). Η αναζήτηση ομολογίας έγινε με τον αλγόριθμο NCBI BLASTP (ver. 2.2.17) και υπολογίστηκε με PAM30 matrices. Παρατηρήθηκε ομολογία της τάξης του 73% μεταξύ τμήματος του πεπτιδίου AQRper8 [aa257-271] EFKRRFKEAFSKAAQ και του τμήματος [aa219-233] της ανθρώπινης πρωτεΐνης TAX1BP1 (EFKKRFSDATSKAHQ) (Πίνακας 7). Κανένα από τα υπόλοιπα πεπτίδια δεν έδειξε ομοιότητες με ανθρώπινες, βακτηριακές ή ιικές πρωτεΐνες, μη σχετιζόμενες με την ακουαπορίνη.

### **5.2.6. Δοκιμασίες ELISA για Έλεγχο Πιθανής Διασταυρούμενης Αντίδρασης Μεταξύ των 15-μερών Πεπτιδίων AQP4 και TAX1BP1 και Δοκιμασίες Ετερόλογης Αναστολής**

Δεκαεννέα NMO-IgG θετικοί ασθενείς και 19 υγιείς μάρτυρες ελέγχθηκαν για παρουσία αυτοαντισωμάτων έναντι των δύο 15-μερών πεπτιδίων (AQP<sub>prep8</sub> [aa257-271] της πρωτεΐνης AQP4 και TAX1BP1<sub>rep</sub> [aa219-233] της πρωτεΐνης TAX1BP1), σε πλακίδια επιστρωμένα με 5 μg/ml πεπτιδίου σε ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου- διττανθρακικού νατρίου, PH 10.5.

Η δοκιμασίες ELISA πραγματοποιήθηκαν όπως ανωτέρω. Προκειμένου να ελεγχθεί το κατά πόσο τα δύο 15-μερή πεπτιδία μπορούσαν να αναστέλλουν το ένα την πρόσδεση του άλλου, εκτελέστηκε μια δεύτερη σειρά δοκιμασιών αναστολής σε υγρή φάση. Τρεις επιλεγμένοι NMO-IgG θετικοί οροί με υψηλή δραστικότητα έναντι των 2 πεπτιδίων επωάστηκαν σε διάλυμα 1/400 2% BSA/ PBS με αυξανόμενες συγκεντρώσεις του κάθε πεπτιδίου χωριστά, αλλά και του πεπτιδίου ελέγχου (AQP<sub>prep9</sub>) (0 μg/ml, 10 μg/ml, 40 μg/ml), και παρέμειναν για διάστημα 16 ωρών στους 4°C. Έπειτα, όλοι οι οροί ελέγχθηκαν με ELISA με τις ίδιες συνθήκες όπως παραπάνω, με μοναδική εξαίρεση την επώαση των ορών στα πλακίδια, η οποία διήρκησε 50 λεπτά.

### **5.2.7. Πειράματα ELISA για τον εντοπισμό anti-MOG αντισωμάτων**

Οι οροί ασθενών με MS και οι υγιείς μάρτυρες εξετάστηκαν για την ύπαρξη anti-MOG αντισωμάτων, με τη χρήση της εμπορικής ELISA Sensolyte® anti-Human MOG IgG kit. Πλακίδια 96 θέσεων, προεπωασμένα με το αντιγόνο MOG (1-125), επιστρώθηκαν με 100μl των ορών σε συγκέντρωση 1/25 στο προπαρασκευασμένο ρυθμιστικό διάλυμα. Επιπλέον, ορισμένες θέσεις

των πλακιδίων καλύφθηκαν με 5 διαδοχικές αραιώσεις του πρότυπου Rat Anti-Human MOG (1-125) IgG, προκειμένου να υπολογιστεί στη συνέχεια η πρότυπη καμπύλη της αντίδρασης. Μετά από επώαση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου και 5 πλύσεις, προστέθηκαν 100μl δεύτερου αντισώματος Goat Anti-Human IgG συζευγμένου με υπεροξειδάση (HRP), για τους μεν ορούς ασθενών, και Goat Anti-Rat IgG HRP για τα πρότυπα διαλύματα, σε αραιώση 1/5000. Ακολούθησε επώαση 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου και 5 πλύσεις, ενώ τέλος προστέθηκαν 100μl υποστρώματος υπεροξειδάσης 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) για την έναρξη της χρωμογόνου αντίδρασης, η οποία διακόπηκε στα 15 λεπτά με προσθήκη 50μl ειδικού προπαρασκευασμένου διαλύματος. Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 450nm.

#### **5.2.8. Στατιστική Ανάλυση**

Όλες οι συγκρίσεις μεταξύ των επιμέρους ομάδων ορών έγιναν με τη δοκιμασία Fisher (Fisher's exact test). Ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης Spearman (Spearman's rank correlation coefficient,  $r_s$ ) χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της στατιστικής συσχέτισης των επιπέδων δραστηριότητας των NMO-IgG θετικών ορών έναντι των 2 διαφορετικών 15-μερών πεπτιδίων.

## **6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**



## 6.1 ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 6.1.1. Επιπολασμός και Επίπτωση

Στη μελέτη εισήχθη συνολικός αριθμός 370 ασθενών με ΣΕΛ, χωρίς προηγούμενες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ. Οι ασθενείς ήταν στην πλειοψηφία τους γυναίκες (88%), με μέση ηλικία  $32 \pm 14$  έτη και μέση διάρκεια νόσου  $9 \pm 7.8$  έτη. Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

Μετά τον αποκλεισμό των ελάσσωνων, μη ειδικών νευρολογικών εκδηλώσεων, ο επιπολασμός των μείζονων συμβαμάτων από το ΚΝΣ ήταν 4.3%. Πιο συγκεκριμένα, 16/ 370 ασθενείς παρουσίασαν 23 συνολικά επεισόδια από το ΚΝΣ.

Τα 23 νευρολογικά συμβάματα από το ΚΝΣ ήταν τα εξής: Επιληπτικές κρίσεις ( $n = 8$ , 35%), ΑΕΕ ( $n = 6$ , 26%), μυελοπάθεια ( $n = 5$ , 22%), οπτική νευρίτιδα ( $n = 2$ , 8.7%), άσηπτη μηνιγγίτιδα ( $n = 1$ , 4.3%) και οξύ ψυχωσικό επεισόδιο ( $n = 1$ , 4.3%). Όλες οι επιληπτικές κρίσεις ήταν γενικευμένες τονικοκλονικές, ενώ σε 3 περιπτώσεις εξελίχθηκαν σε status epilepticus. Όλα τα ΑΕΕ ήταν ισχαιμικά. Δύο ασθενείς είχαν 2 ή περισσότερες μικρές ισχαιμικές βλάβες, δύο είχαν μεγάλο ισχαιμικό έμφρακτο, λόγω θρόμβωσης κεντρικής αρτηρίας, ενώ ένας ασθενής παρουσίασε πολλαπλά παροδικά ισχαιμικά επεισόδια σε διάρκεια ημερών.

Τα επεισόδια οπτικής νευρίτιδας εμφανίστηκαν στα πλαίσια του φάσματος της Οπτικής Νευρομυελίτιδας (NMO). Περιπτώσεις χορείας, απομυελινωτικού συνδρόμου και οξείας συγχυτικής κατάστασης δεν παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης. Τέλος, κανένας ασθενής δεν παρουσίασε κλινικά εμφανή γνωσιακή δυσλειτουργία (MMSE Score < 25).

Οι επτά από τους συνολικά 16 ασθενείς (44%) παρουσίαζαν νευρολογικές εκδηλώσεις κατά τη διάγνωση της νόσου, ενώ 4 ασθενείς (25%) εμφάνισαν υποτροπή της αρχικής τους εκδήλωσης

στη διάρκεια της τριετίας παρακολούθησης. Δύο από τους 16 (13%) είχαν ταυτόχρονα πάνω από μια νευρολογική εκδήλωση. Πιο συγκεκριμένα, ο ένας παρουσίασε μυελίτιδα και οπτική νευρίτιδα και ο δεύτερος άσηπτη μηνιγγίτιδα και ψύχωση. Κανένας θάνατος δεν υπήρξε στους ασθενείς με προσβολή του ΚΝΣ, ενώ η συνολική θνησιμότητα από όλα τα αίτια στον πληθυσμό της μελέτης (n=370) ήταν 0.5%. Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με νευρολογική προσβολή παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

Τέλος, η ετήσια επίπτωση των μείζονων νευρολογικών συμβαμάτων μεταξύ των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΣΕΛ ήταν 7.8 περιπτώσεις/ 100 ανθρωποέτη (8 περιπτώσεις σε 55 ασθενείς με ΣΕΛ).

**Πίνακας 8: Δημογραφικά και Κλινικά Χαρακτηριστικά των Ασθενών με ΣΕΛ**

Χαρακτηριστικά Ασθενών	Όλοι (n=370)	Ασθενείς με Προσβολή ΚΝΣ (n=16)
Ηλικία κατά τη Διάγνωση ( $m \pm SD$ )	32 ± 14	30 ± 12
Φύλο		
Άρρεν, n (%)	43 (12%)	1 (6.3%)
Θήλυ, n (%)	327 (88%)	15 (94%)
Διάρκεια Νόσου σε Έτη ( $m \pm SD$ )	9 ± 7.8	5.7 ± 8.2
ECLAM score στην έναρξη της νόσου ( $m \pm SD$ )	1.6 ± 1.8	4.6 ± 3
ECLAM score στο τέλος της παρακολούθησης ( $m \pm SD$ )	NA	0.4 ± 0.7
SLEDAI score στην έναρξη της νόσου ( $m \pm SD$ )	3.6 ± 5.5	18.1 ± 9.9
SLEDAI score στο τέλος της παρακολούθησης ( $m \pm SD$ )	NA	0.9 ± 1.4

SDI score στην έναρξη της νόσου ( <i>m ± SD</i> )	NA	1.4 ± 0.8
SDI score στο τέλος της παρακολούθησης ( <i>m ± SD</i> )	NA	2.1 ± 1.2
Δευτεροπαθές APS, <i>n</i> (%)	47 (13%)	4 (25%)
<b>Κλινικές Εκδηλώσεις Νόσου**</b>		
Ορογονίτιδα, <i>n</i> (%)	96 (26%)	6 (38%)
Πλευρίτιδα, <i>n</i> (%)	41 (11%)	5 (31%)
Περικαρδίτιδα, <i>n</i> (%)	40 (11%)	5 (31%)
Αρθρίτιδα, <i>n</i> (%)	174 (47%)	16 (100%)
Σπειραματονεφρίτιδα, <i>n</i> (%)	164 (44%)	7 (44%)
Τάξης I, <i>n</i> (%)	5 (1.4%)	0 (0%)
Τάξης II, <i>n</i> (%)	42 (11%)	2 (13%)
Τάξης III, <i>n</i> (%)	63 (17%)	2 (13%)
Τάξης IV, <i>n</i> (%)	37 (10%)	1 (6.3%)
Τάξης V, <i>n</i> (%)	42 (11%)	3 (19%)
Τάξης VI, <i>n</i> (%)	4 (1.1%)	0 (0%)
Προσβολή ΚΝΣ, <i>n</i> (%)	16 (4.3%)	16 (100%)
Αιματολογικές Εκδηλώσεις, <i>n</i> (%)	368 (66%)	10 (63%)
<b>Ανοσολογικές Εκδηλώσεις**</b>		
ANA, <i>n</i> (%)	361(96%)	15 (94%)
Anti-dsDNA, <i>n</i> (%)	345 (70%)	11 (69%)
aCL αντισώματα, <i>n</i> (%)	314 (40%)	8 (50%)
Anti-Rib P, <i>n</i> (%)	Ακαθόριστο	2 (13%)
NMO-IgG, <i>n</i> (%)	Ακαθόριστο	2 (13%)
<b>Νευρολογικές Εκδηλώσεις**</b>		
Επιληπτικές Κρίσεις, <i>n</i> (%)	6 (1.6%)	6 (38%)
ΑΕΕ, <i>n</i> (%)	5 (1.4%)	5 (31%)
Μυελοπάθεια, <i>n</i> (%)	4 (1.1%)	4 (25%)
Οπτική Νευρίτιδα, <i>n</i> (%)	1 (0.3%)	1 (6.3%)

Ψύχωση, <i>n</i> (%)	1 (0.3%)	1 (6.3%)
Άσηπτη Μηνιγγίτιδα, <i>n</i> (%)	1 (0.3%)	1 (6.3%)
1 <sup>ο</sup> Επεισόδιο ΚΝΣ στη Διάγνωση του ΣΕΛ, <i>n</i> (%)	NA	7 (44%)
Ασθενείς με Υποτροπιάζοντα Επεισόδια ΚΝΣ, <i>n</i> (%)	NA	4 (25%)
Ασθενείς με >1 ταυτόχρονες εκδηλώσεις ΚΝΣ, <i>n</i> (%)	NA	2 (13%)
<b>Κλινικές Εκδηλώσεις Νόσου Ταυτόχρονα με την Προσβολή του ΚΝΣ</b>		
Ορογονίτιδα, <i>n</i> (%)	NA	3 (19%)
Αρθρίτιδα, <i>n</i> (%)	NA	16 (100%)
Σπειραματονεφρίτιδα, <i>n</i> (%)	NA	5 (31%)
Αιματολογικές Εκδηλώσεις, <i>n</i> (%)	NA	10 (63%)
<b>Φαρμακευτική Αγωγή**</b>		
Κορτικοειδή, <i>n</i> (%)	339 (92%)	16 (100%)
Αζαθειοπρίνη, <i>n</i> (%)	131 (35%)	4 (25%)
Υδροξυχλωροκίνη, <i>n</i> (%)	231 (62%)	7 (44%)
Μεθοτρεξάτη, <i>n</i> (%)	64 (17%)	2 (13%)
Κυκλοφωσφαμίδη, <i>n</i> (%)	123 (33%)	11 (69%)
Μυκοφαινολικό Οξύ, <i>n</i> (%)	119 (32%)	8 (50%)
Rituximab, <i>n</i> (%)	35 (9.5%)	5 (31%)

\*Όπου *m* = Μέσος Όρος, *SD* = Σταθερή Απόκλιση, *n* = Απόλυτος Αριθμός

\*\*Οποιαδήποτε χρονική στιγμή κατά τη διάρκεια της νόσου

### **6.1.2. Νοσηλείες των Ασθενών**

Ογδόντα επτά από τους 370 ασθενείς με ΣΕΛ νοσηλεύτηκαν συνολικά 141 φορές κατά τη διάρκεια της τριετίας, ενώ είκοσι εννέα ασθενείς νοσηλεύτηκαν πάνω από μια φορές. Η συνηθέστερη αιτία νοσηλείας ήταν η έξαρση της νόσου (59%). Η δεύτερη συνηθέστερη αιτία ήταν οι λοιμώξεις (20%), ενώ δεν υπήρξαν περιπτώσεις λοιμώξεων του ΚΝΣ. Οι εξάρσεις της νόσου περιελάμβαναν με φθίνουσα σειρά τη σπειραματονεφρίτιδα (27%), τις κυτταροπενίες (15%), την προσβολή του ΚΝΣ (13%), τα συμπτώματα από το μυοσκελετικό (8.5%), τις ορογονίτιδες (5.7%), την ηπατομεγαλία, τη σπληνομεγαλία και τις λεμφαδενοπάθειες (4.3%), την πνευμονίτιδα (3.5%), την παγκρεατίτιδα, την κολίτιδα και την μυοκαρδίτιδα (<1%). Σχεδόν το ένα τρίτο (33%) των εξάρσεων ΣΕΛ παρουσιάστηκε με πολλαπλές εκδηλώσεις της νόσου. Συνολικά, 16 ασθενείς νοσηλεύτηκαν 18 φορές για νευρολογικά συμβάματα (*Πίνακας 9*).

**Πίνακας 9: Αίτια Νοσηλείας Ασθενών με ΣΕΛ στην Τριετία Παρακολούθησης**

<b>Αίτιο Νοσηλείας</b>	<b>Αριθμός Νοσηλειών (n)</b>	<b>Ποσοστό (%)</b>
Υποτροπή*	83	59%
Σπειραματονεφρίτιδα	38	27%
Αιματολογικές Εκδηλώσεις	21	15%
Εκδηλώσεις από το ΚΝΣ	18	13%
Μυοσκελετικές Εκδηλώσεις	12	8.5%
Ορογονίτιδα	8	5.7%
Ηπατοσπληνομεγαλία - Λεμφαδενοπάθεια	6	4.3%
Πνευμονίτιδα	5	3.5%
Παγκρεατίτιδα	3	<1%
Κολίτιδα	3	<1%
Μυοκαρδίτιδα	1	<1%
Λοίμωξη	28	20%
Άλλα Αίτια	30	21%
<i>(Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια, Κακοήθεια, Σύνδρομο Budd-Chiari, Διάχυτη Κυψελιδική Αιμορραγία, Πνευμονική Υπέρταση)</i>		<i>(Όλα &lt;1%)</i>
<b>Σύνολο</b>	<b>141</b>	<b>100%</b>

\*Πάνω από μια εκδηλώσεις υποτροπής της νόσου μπορεί να συνυπάρχουν στην ίδια νοσηλεία

### 6.1.3. Κλινικές Συσχετίσεις

Εκτιμήθηκαν οι πιθανές κλινικές και ανοσολογικές συσχετίσεις με συγκεκριμένες νευρολογικές εκδηλώσεις στους 16 ασθενείς με ΣΕΛ και προσβολή του ΚΝΣ. Οι επιληπτικές κρίσεις συσχετίστηκαν με υψηλές τιμές του δείκτη ενεργότητας ECLAM ( $P=0.02$ ), όψιμη εμφάνιση στην πορεία της νόσου ( $P=0.03$ ), προηγούμενο ιστορικό ορογονίτιδας ( $P<0.01$ ), και σπειραματονεφρίτιδας ( $P=0.03$ ). Η εμφάνιση σπειραματονεφρίτιδας είχε την τάση να επισυμβαίνει ταυτόχρονα με τις εκδηλώσεις από το ΚΝΣ ( $P=0.03$ ), ενώ δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις με συγκεκριμένους τύπους σπειραματονεφρίτιδας (όλες οι τιμές  $P>0.10$ ). Τέλος, 2 επιπλέον κλινικές συσχετίσεις είχαν αυξημένο ενδιαφέρον. Οι επιληπτικές κρίσεις έτειναν να εμφανίζονται σε ασθενείς με υψηλό δείκτη ενεργότητας SLEDAI ( $P=0.07$ ) και νεότερη ηλικία κατά την έναρξη της νόσου ( $P=0.08$ ).

Η μυελοπάθεια συσχετίστηκε με χαμηλότερες τιμές ενεργότητας νόσου, χαμηλά επίπεδα συμπληρώματος και θετικά NMO-IgG αντισώματα (όλες οι τιμές  $P<0.05$ ). Δύο ασθενείς με μυελίτιδα (2/4, 50%) ήταν θετικοί για NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισώματα. Ο πρώτος έπασχε από Οπτική Νευρομυελίτιδα (NMO) [3], ενώ ο δεύτερος από εγκάρσια μυελίτιδα με εκτεταμένες συνεχόμενες βλάβες (LETM), η οποία ανήκει στο φάσμα του συγκεκριμένου νοσήματος [64]. Τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια έτειναν να εμφανίζονται σε ασθενείς με δευτεροπαθές APS ( $P=0.06$ ) και συσχετίστηκαν με υψηλότερες τιμές SDI ( $P=0.03$ ). Ένας ασθενής με οξεία ψύχωση ήταν θετικός μόνο για αντι-ριβοσωμικά αντισώματα (anti-RibP) (Εικόνα 11).

Η ανάλυση των ανωτέρω επαναλήφθηκε μετά από αφαίρεση των νευρολογικών μεταβλητών από τους δείκτες ECLAM, SLEDAI και SDI. Όλες οι συσχετίσεις που είχαν προηγουμένως βρεθεί με το ECLAM παρέμειναν στατιστικά σημαντικές ( $P<0.05$ ) μετά την τροποποίησή του (m-

ECLAM). Το τροποποιημένο m-SLEDAI φάνηκε να σχετίζεται αντίστροφα με την ύπαρξη μυελίτιδας ( $P=0.08$ ), αλλά δεν συσχετίστηκε με τις επιληπτικές κρίσεις ( $P=0.23$ ). Το τροποποιημένο m-SDI δεν σχετιζόταν με την παρουσία ΑΕΕ ( $P=0.21$ ).

Εν συνεχεία, οι 16 ασθενείς με ΣΕΛ και προσβολή του ΚΝΣ συγκρίθηκαν με τους υπόλοιπους 354 ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς νευρολογικές εκδηλώσεις. Τα αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης (univariate analysis) για τον υπολογισμό της συσχέτισης των δημογραφικών και κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών με την προσβολή του ΚΝΣ παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

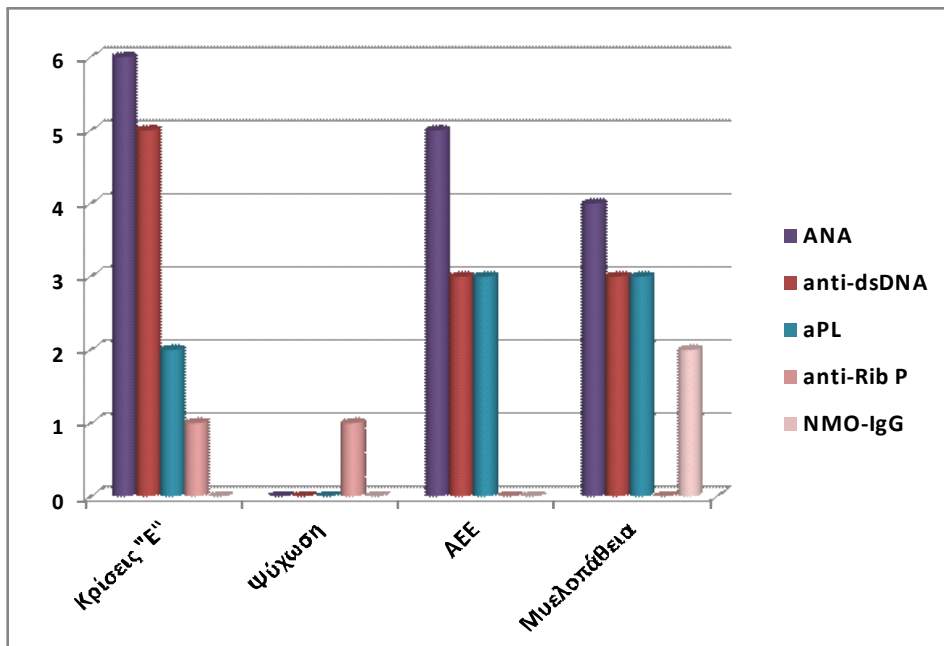
Δεδομένου ότι μπορεί να υφίσταται υπολειπόμενη συγχυτική επίδραση διαφόρων παραγόντων, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση (multiple logistic regression analysis) για τον υπολογισμό των συσχετίσεων μεταξύ των παραγόντων ECLAM, SLEDAI, τροποποιημένο ECLAM και SLEDAI, aCL αντισώματα, δευτεροπαθές APS, αρθρίτιδα, ορογονίτιδα και σπειραματονεφρίτιδα από τη μία πλευρά, με την προσβολή του ΚΝΣ από την άλλη, μετά από προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο και τη διάρκεια της νόσου.

Οι δείκτες ECLAM και SLEDAI αντικαταστάθηκαν αμοιβαία στα μοντέλα λόγω υψηλής αλληλοσυσχέτισης. Η ίδια αμοιβαία αντικατάσταση πραγματοποιήθηκε για τα m-ECLAM και m-SLEDAI, καθώς και για το δευτεροπαθές APS και τα aCL αντισώματα. Η αρθρίτιδα και η σπειραματονεφρίτιδα αποκλείστηκαν από τα μοντέλα που περιελάμβαναν το SLEDAI, λόγω υψηλής αλληλοσυσχέτισης. Τόσο τα μη τροποποιημένα όσο και τα τροποποιημένα ECLAM και SLEDAI παρουσίαζαν θετική συσχέτιση με αυξημένη πιθανότητα για προσβολή του ΚΝΣ (Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του ECLAM= 2.077, 95%CI 1.55–2.79, Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του SLEDAI = 1.39, 95%CI 1.24–1.56, Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του m-ECLAM=



1.56, 95%CI 1.19–2.05, Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του m-SLEDAI = 1.26, 95%CI 1.16–1.41), μετά από προσαρμογή για συνύπαρξη APS και τους άλλους προαναφερθέντες παράγοντες. Αντίστοιχα αποτελέσματα υπήρξαν κατά την αντικατάσταση του APS από τα aCL αντισώματα στα ανωτέρω μοντέλα. Επιπλέον, στα μοντέλα στα οποία συμπεριλαμβανόταν το SLEDAI, η συνύπαρξη δευτεροπαθούς APS συσχετίστηκε με μεγαλύτερη πιθανότητα προσβολής του ΚΝΣ (Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του SLEDAI = 0.16, 95%CI 0.03–0.87, Odds ratio ανά 1 μονάδα αύξησης του m-SLEDAI = 0.26, 95%CI 0.07–1.04). Το συγκεκριμένο εύρημα δεν επιβεβαιώθηκε ωστόσο στα μοντέλα εκείνα που περιελάμβαναν τον δείκτη ECLAM αντί για SLEDAI.

**Εικόνα 11: Αριθμός ασθενών με τον αντίστοιχο τύπο αυτοαντισωμάτων σε κάθε υποομάδα προσβολής του ΚΝΣ.** Κάθε στήλη αντιστοιχεί σε ένα ορισμένο αντίσωμα, ενώ ο Άξονας Y παρουσιάζει τον αριθμό των ατόμων που εμφάνιζαν το συγκεκριμένο αντίσωμα.



**Πίνακας 10: Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των (n=370) ασθενών με ΣΕΛ, ανάλογα με την προσβολή ή όχι του ΚΝΣ.**

Μεταβλητές	Ασθενείς με ΣΕΛ & Προσβολή ΚΝΣ (n=16)	Ασθενείς με ΣΕΛ, Χωρίς Προσβολή ΚΝΣ (n=354)	P
Ηλικία κατά τη διάγνωση	30 ± 12	32 ± 14	0.48
Φύλο			0.70
Άρρεν	1 (6.3%)	42 (12%)	
Θήλυ	15 (94%)	312 (88%)	
Διάρκεια Νόσου (έτη)	5.7 ± 8.2	9.2 ± 7.8	0.009
aCL Αντισώματα	8 (50%)	140 (40%)	0.60
Δευτεροπαθές APS	4 (25%)	43 (12%)	0.13
ECLAM score	4.6 ± 3	1.4 ± 1.5	<0.01
m-ECLAM score†	3.3 ± 2.5	1.4 ± 1.5	0.01
SLEDAI score	18 ± 9.9	3.1 ± 4.1	<0.01
m-SLEDAI score†	12 ± 8.1	3.1 ± 4.1	<0.01
Αρθρίτιδα	16 (100%)	170 (48%)	0.07
Σπειραματονεφρίτιδα	7 (44%)	157 (44%)	1.00
Ορογονίτιδα	6 (38%)	90 (25%)	0.38

Οι τιμές του **P** υπολογίστηκαν με τη μέθοδο chi-square test ( $\chi^2$ ) για τις συγκρίσεις φύλου, ύπαρξης aCL αντισωμάτων, δευτεροπαθούς APS, αρθρίτιδας, σπειραματονεφρίτιδας και ορογονίτιδας, και με τη μέθοδο Mann-Whitney U-test για τις συγκρίσεις της ηλικίας κατά τη διάγνωση, της διάρκειας νόσου, και των δεικτών ECLAM, SLEDAI, m-ECLAM και m-SLEDAI.

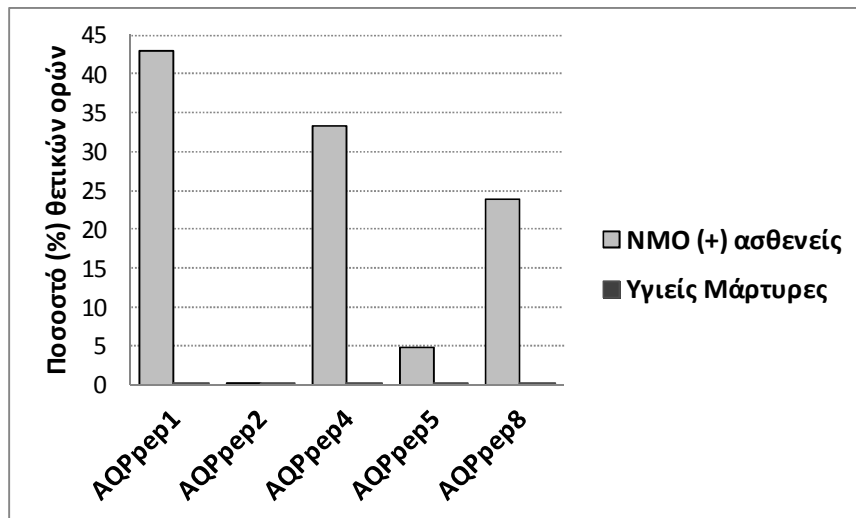
†m-ECLAM και m-SLEDAI είναι οι τροποποιημένοι δείκτες, μετά από αποκλεισμό των νευρολογικών μεταβλητών.

## 6.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

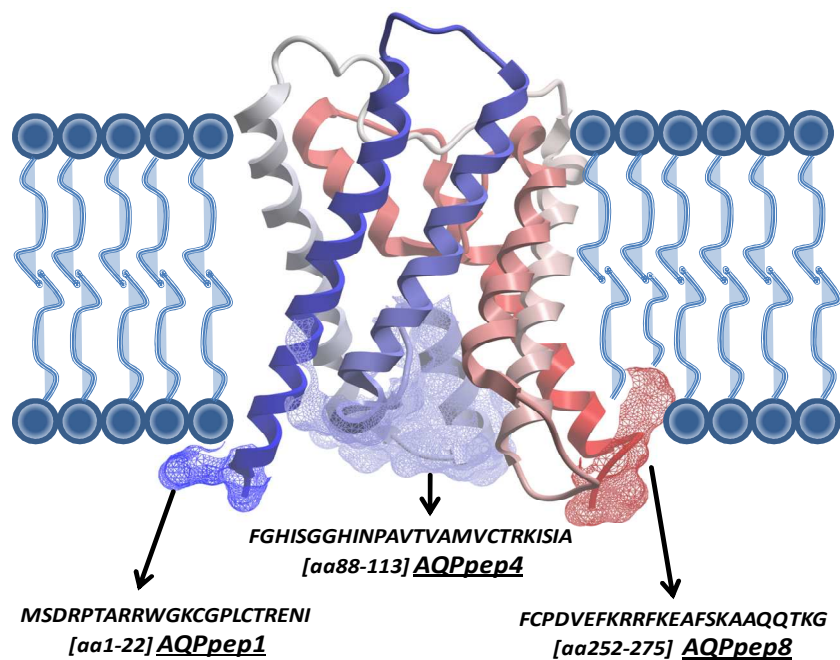
### 6.2.1 Εντοπισμός Αντιγονικών Επιτόπων και Δοκιμασίες Αναστολής.

Τα πεπτίδια AQRper1, 2, 4, 5 και 8 εντοπίστηκαν ως τα πιο δραστικά σε μια αρχική σειρά πειραμάτων, στην οποία εξετάστηκαν και τα 11 πεπτίδια. Σε αυτή την πρώτη φάση, η δοκιμασία ELISA πραγματοποιήθηκε σε ορούς 10 NMO-IgG θετικών ασθενών και 8 υγιών μαρτύρων. Οι οροί των υγιών μαρτύρων δεν έδειξαν καμία ενεργότητα έναντι των πεπτιδίων. Στη συνέχεια, όλοι οι οροί των NMO-IgG θετικών ασθενών (n=21) και των υγιών μαρτύρων (n=28) ελέγχθηκαν για αντισώματα ενάντια στα πεπτίδια με την υψηλότερη δραστικότητα στα αρχικά πειράματα (AQRper1, 2, 4, 5 και 8). Τα πεπτίδια AQRper1, AQRper4 και AQRper8 περιείχαν τους επιτόπους εναντίον των οποίων ήταν περισσότερο δραστικοί οι NMO-IgG θετικοί οροί. Τα ποσοστά δραστικότητας ήταν 42.9%, 33.3% και 23.8% του συνόλου των NMO-IgG θετικών ασθενών για τα πεπτίδια AQRper1, AQRper4 και AQRper8, αντίστοιχα (Εικόνα 12). Πέντε οροί (23.8%) ήταν θετικοί για αντισώματα έναντι και των 3 πεπτιδίων, 2 (9.5%) ήταν θετικοί για αντισώματα εναντίον των πεπτιδίων 1 και 4, ενώ 2 ακόμα οροί ήταν θετικοί μόνο για αντισώματα έναντι του πεπτιδίου AQRper1. Τα 3 πιο αντιγονικά πεπτίδια (AQRper1, AQRper4 και AQRper8) αποτελούν μέρος των ενδοκυττάρων περιοχών της πρωτεΐνης AQP4 (Εικόνα 13).

Εικόνα 12: Ποσοστό NMO-IgG θετικών ασθενών και υγιών μαρτύρων, που είναι θετικοί για αντισώματα κατά των πεπτιδίων AQPpep1, 2, 4, 5 και 8.



Εικόνα 13: Παρουσιάζεται η ακριβής εντόπιση των 3 αντιγονικών επιτόπων της AQP4 στην τεταρτοταγή δομή του μορίου. Το χρώμα της πρωτεΐνης αλλάζει σταδιακά από μπλε (στο αμινο-τελικό) έως κόκκινο (στο καρβοξυ-τελικό άκρο της πρωτεΐνης).



Τα τρία αυτά πεπτίδια ελέγχθηκαν έπειτα με ορούς 23 ασθενών με ΣΕΛ και 23 με ρSS, προκειμένου να αξιολογηθεί η ειδικότητα της αναγνώρισης. Οι ασθενείς με ΣΕΛ ήταν θετικοί για αντισώματα έναντι των πεπτιδίων AQRper1, AQRper4 και AQRper8 σε ποσοστά 13%, 4.3% και 8.7%, αντίστοιχα, ενώ το 8.7%, 4.3% και 8.7% των ασθενών με ρSS αναγνώριζαν επίσης τα πεπτίδια AQRper1, AQRper4 και AQRper8.

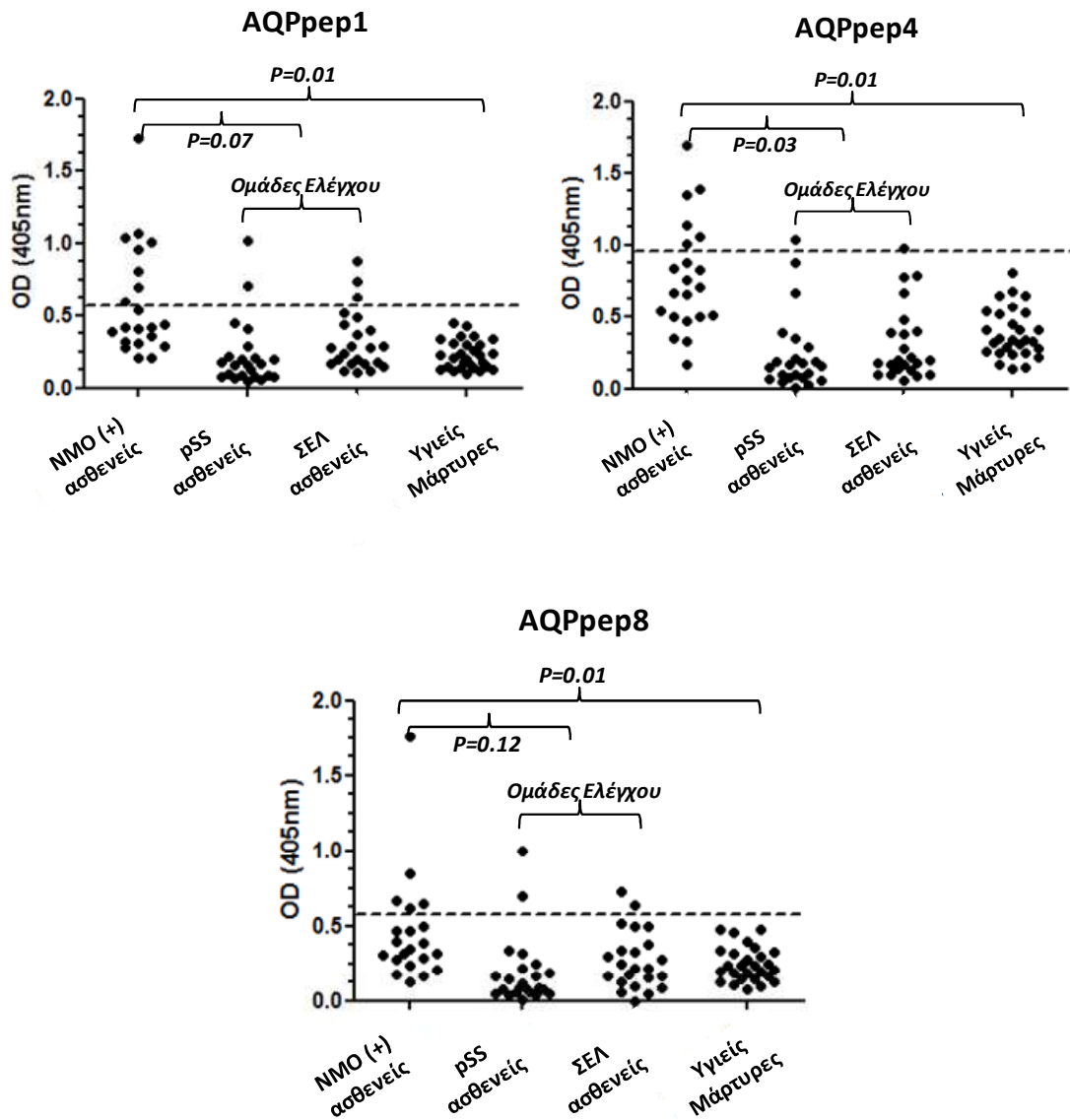
Το ποσοστό των NMO θετικών ορών που εμφάνισαν δραστικότητα έναντι των πεπτιδίων AQRper1, AQRper4 και AQRper8 ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο από αυτό των αντίστοιχων υγιών μαρτύρων ( $P<0.05$ ). Επιπλέον, οι NMO θετικοί οροί εμφάνισαν αντισώματα έναντι των πεπτιδίων AQRper1 και AQRper4 σε σημαντικά υψηλότερο βαθμό από τους μάρτυρες με άλλα νοσήματα (ΣΕΛ και ρSS) (Εικόνα 14).

Η ειδικότητα της πρόσδεσης αξιολογήθηκε με δοκιμασίες ομόλογης αναστολής, οι οποίες αποκάλυψαν υψηλά επίπεδα αναστολής, της τάξης του 84.3%, 71.1% και 84% για τα πεπτίδια AQRper1, AQRper4 και AQRper8, αντίστοιχα. Ο μέσος όρος των επιπέδων αναστολής, στα 40 mg/ml πεπτιδίου-αναστολέα, ήταν 71.2% για το AQRper1, 67.9% για το AQRper4 και 66.9% για το AQRper8. Αντιθέτως, τα επίπεδα αναστολής για το πεπτίδιο ελέγχου (AQRper9) ήταν σημαντικά χαμηλότερα, και κυμαίνονταν από 11% έως 45.3% (Εικόνα 15). Τέλος, οι δοκιμασίες αναστολής κατά την αξιολόγηση της ομάδας ελέγχου με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα κατέδειξαν μηδαμινή ικανότητα αναστολής, η οποία κυμαινόταν από 3% έως 15.1% και ήταν παρόμοια με αυτή του πεπτιδίου ελέγχου (3.1-9.3%).

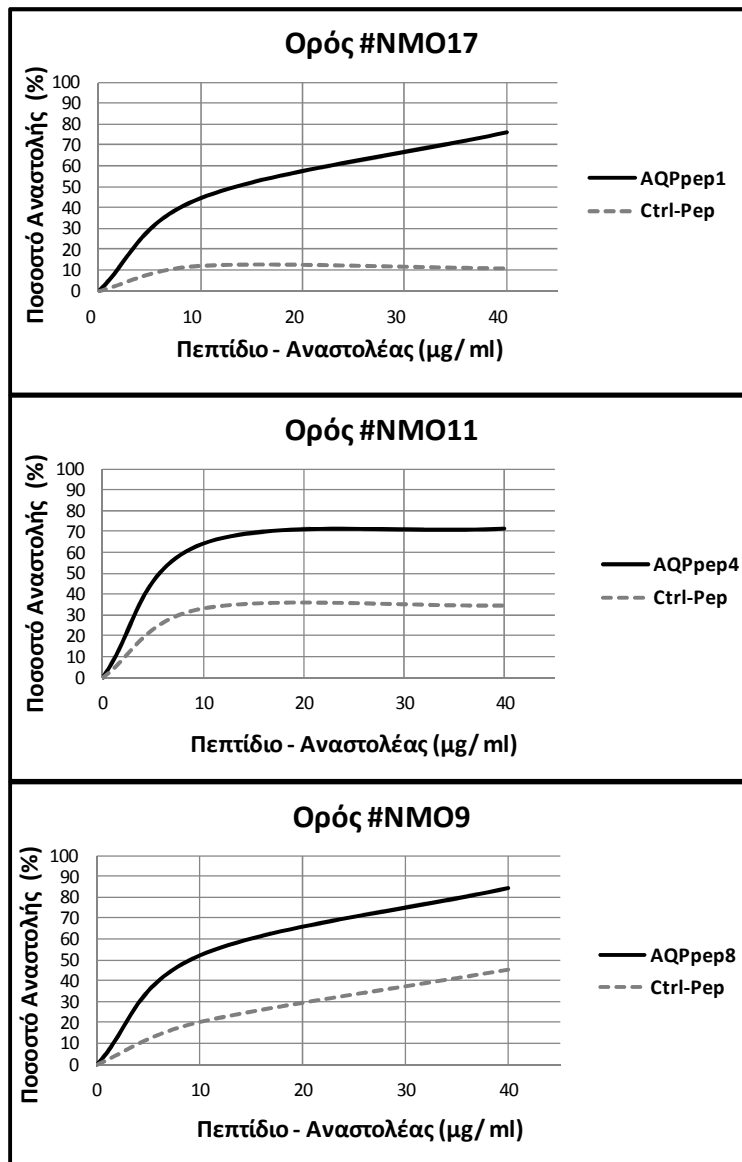
**Εικόνα 14: Παρουσιάζεται ο αριθμός ασθενών με αυτοαντισώματα έναντι των πεπτιδίων AQPper1, AQPper4 και AQPper8 για όλες τις ομάδες ασθενών.**

\*Η διακεκομμένη γραμμή παρουσιάζει το όριο πάνω από το οποίο μια τιμή θεωρείται θετική ( $m + 3\text{ SD}$  των 28 υγιών μαρτύρων).

\*\*Όριο στατιστικής σημαντικότητας  $P \leq 0.05$ .



Εικόνα 15: Οι δοκιμασίες ομόλογης αναστολής με κάθε πεπτίδιο κατέδειξαν υψηλά ποσοστά αναστολής, ενώ η προεπώαση με το πεπτίδιο ελέγχου (Ctrl-Pep) οδήγησε σε ελάχιστη αναστολή. Απεικονίζονται 3 αντιπροσωπευτικοί NMO θετικοί οροί (με επίπεδα αναστολής 71.1% έως 84.3%).



### **6.2.2. Ομόλογες Αλληλουχίες των Επικρατούντων Επιτόπων με Άλλες Πρωτεΐνες.**

Ο εντοπισμός των 3 πιο δραστικών πεπτιδίων, και κατά συνέπεια πιθανών γραμμικών επιτόπων της AQP4, επέτρεψε την αναζήτηση σε βάσεις δεδομένων πρωτεϊνών, με στόχο την εύρεση παρόμοιων αλληλουχιών σε άλλες πρωτεΐνες. Παρατηρήθηκε ομολογία 73% μεταξύ τμήματος του AQPper8 [aa257-271] EFKRRFKEAFSKAAQ, και της περιοχής [aa219-233] της ανθρώπινης πρωτεΐνης TAX1BP1 (EFKKRFSDATSKAHQ) (Πίνακας 7), η οποία εμπλέκεται στον αναδιπλασιασμό του ιού HTLV-1, του αιτιολογικού παράγοντα της HTLV-1 σχετιζόμενης μυελοπάθειας/ τροπικής σπαστικής παραπάρεσης (HAM/TSP).

### **6.2.3. Δραστικότητα των Ορών Έναντι των 15-μερών Πεπτιδίων της AQP4 και της TAX1BP1 και Δοκιμασίες Αναστολής.**

Η εύρεση των ανωτέρω αλληλουχιών οδήγησε στο σχεδιασμό δύο 15-μερών πεπτιδίων, τα οποία περιείχαν τις προαναφερθείσες αλληλουχίες (Πίνακας 7), και στον έλεγχο για την εύρεση αντισωμάτων έναντι των πεπτιδίων σε ορούς NMO θετικών ασθενών και υγιών μαρτύρων.

Ανιχνεύθηκε δραστικότητα εναντίον του AQPper8' και του TAX1BP1per πεπτιδίου στο 26.3% (n=5) και στο 31.6% (n=6) των NMO θετικών ορών, αντίστοιχα. Όλοι οι NMO-IgG θετικοί οροί που ήταν θετικοί για αντισώματα έναντι του AQPper8', ήταν επίσης θετικοί για αντισώματα έναντι του TAX1BP1per, ενώ ένας ασθενής ήταν θετικός μόνο για αντισώματα έναντι του TAX1BP1per (Εικόνα 16A). Ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης Spearman ήταν υψηλός ( $r_s = 0.81$ ,  $P < 0.0001$ ). Κανένας από τους υγιείς μάρτυρες δεν εκδήλωσε δραστικότητα έναντι των 2 πεπτιδίων.

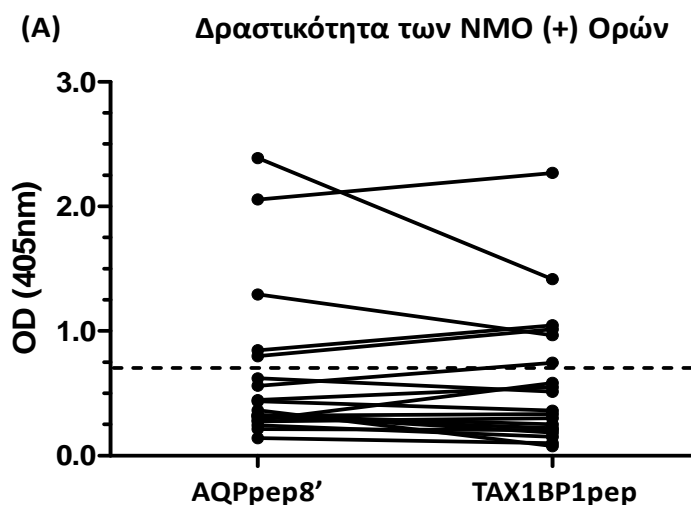


Η δυνατότητα των αντισωμάτων έναντι των πεπτιδίων AQRper8' και TAX1BP1per για διασταυρούμενη δραστικότητα αξιολογήθηκε με δοκιμασίες ομόλογης και ετερόλογης αναστολής. Πιο συγκεκριμένα, η επώαση NMO θετικών ορών με αυξανόμενες συγκεντρώσεις των πεπτιδίων AQRper8' και TAX1BP1per οδήγησε σε αναστολή της πρόσδεσης αντισωμάτων στο πεπτίδιο AQRper8' της τάξης του 60.1% και 36% (ομόλογη και ετερόλογη αναστολή, αντίστοιχα). Από την άλλη πλευρά, η σύνδεση των αντισωμάτων στο TAX1BP1per μειώθηκε κατά 70% μετά από προεπάση των ορών με το TAX1BP1per, και κατά 58.5% μετά από προεπάση με το AQRper8'. Αντιθέτως, το πεπτίδιο «ελέγχου» (AQRper9) δεν είχε την ικανότητα να αναστέλλει την πρόσδεση στα πεπτίδια AQRper8' και TAX1BP1per (Εικόνα 16B).

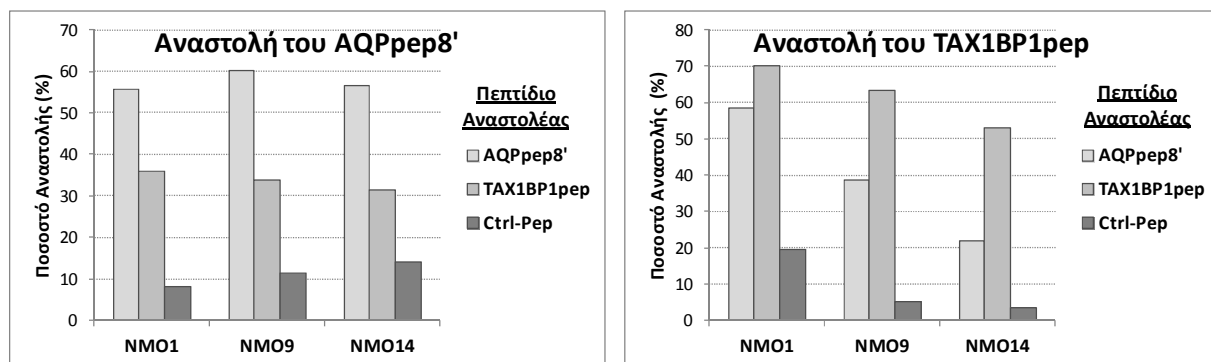
**Εικόνα 16:**

**(A) Τα επίπεδα δραστικότητας των NMO (+) ορών είναι παρόμοια για τα AQRper8' και TAX1BP1 ( $r_s = 0.81$ ). Η διακεκομμένη γραμμή παρουσιάζει το όριο πάνω από το οποίο μια τιμή θεωρείται θετική ( $m + 3$  SD των υγιών μαρτύρων).**

**(B) Οι ομόλογες και ετερόλογες δοκιμασίες αναστολής αποκαλύπτουν διασταυρούμενη δραστικότητα των 2 πεπτιδίων (συγκέντρωση πεπτιδίου – αναστολέα 40  $\mu$ g/ ml).**



(B)



#### 6.2.4. Δραστικότητα των Ορών Ασθενών με MS κατά των Πεπτιδίων και Δοκιμασίες Ομόλογης Αναστολής.

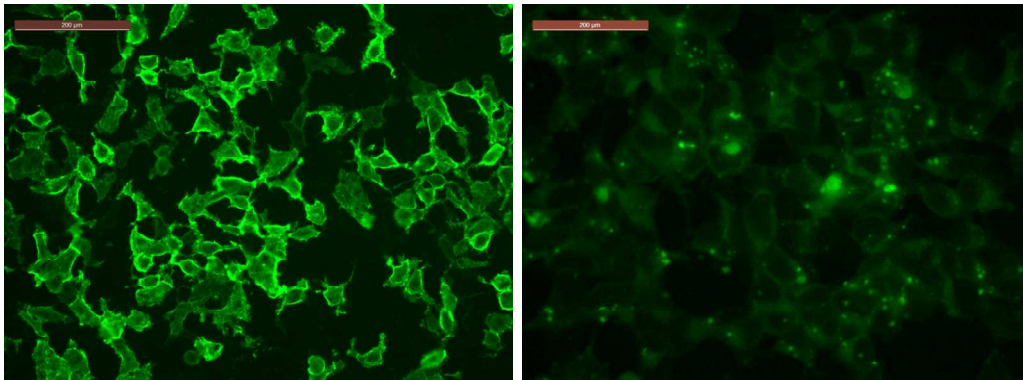
Οι οροί ασθενών με RRMS και PMS ήταν αρνητικοί για anti-AQP4 αντισώματα με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού σε κύτταρα (Cell Based Assay) (Εικόνα 17). Οι ίδιοι οροί ωστόσο, κατά τον έλεγχο με ELISA για αντισώματα έναντι των γραμμικών επιτόπων, κατέδειξαν δραστικότητα έναντι των πεπτιδίων και, πιο συγκεκριμένα, 8/ 45 ασθενείς με RRMS ήταν θετικοί για αντισώματα έναντι του πεπτιδίου AQPper8 [aa252–275] (Εικόνα 18), η δε αντίδραση ήταν ειδική στους 6/ 8 ασθενείς (13% ειδικότητα στην ομάδα των ασθενών με RRMS) (Εικόνα 19).

Δεν παρατηρήθηκε ειδική αντίδραση στην ομάδα των ασθενών με RRMS για τα άλλα 2 αντιγονικά πεπτίδια που ελέγχθηκαν (AQPper1 [aa1–22] και AQPper4 [aa88–113]), καθώς και για τα υπόλοιπα 9 πεπτίδια. Οι ομάδες των ασθενών με PMS δεν εμφάνισαν ειδική αντίδραση έναντι των πεπτιδίων της AQP4.

Εικόνα 17: Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη ελέγχθηκαν για την ύπαρξη anti-AQP4 αντισωμάτων με τη χρήση Cell Based Assay (CBA).

(A) Αντιπροσωπευτικό πρότυπο φθορισμού NMO θετικού ασθενούς, κλίμακα 200 μm.

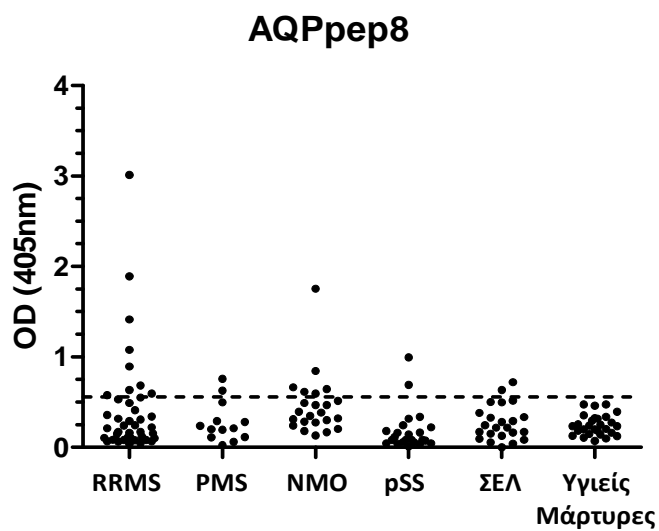
(B) Όλοι οι ασθενείς με MS ήταν αρνητικοί για anti-AQP4 αντισώματα με την CBA.



(A) NMO Θετικός Ασθενής

(B) Ασθενής με RRMS

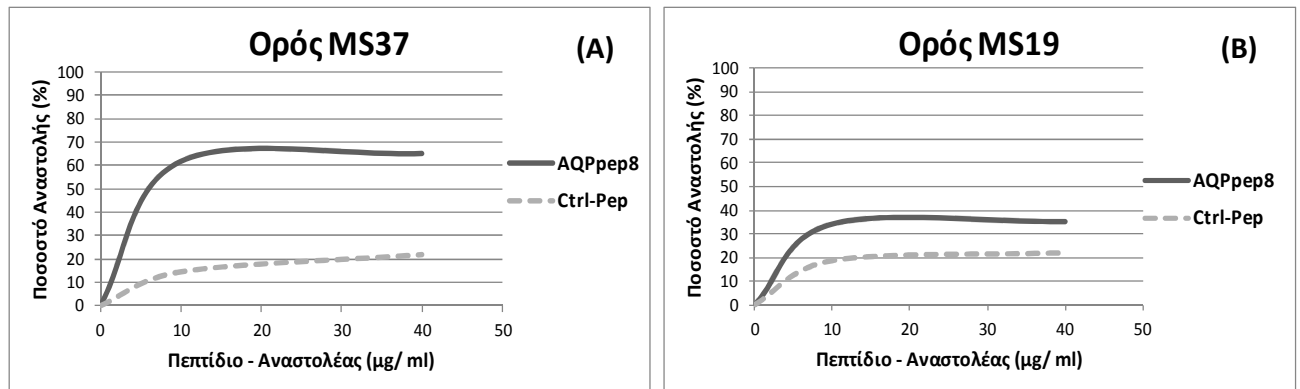
Εικόνα 18: Παρουσιάζεται ο αριθμός ασθενών με αυτοαντισώματα έναντι του πεπτιδίου AQP<sub>rrer8</sub> για όλες τις ομάδες ασθενών.



**Εικόνα 19: Δοκιμασίες ομόλογης αναστολής των ασθενών με MS για το πεπτίδιο AQPpep8.**

**(A)** Ορός με θετική δοκιμασία ομόλογης αναστολής (υψηλή ειδικότητα αντίδρασης).

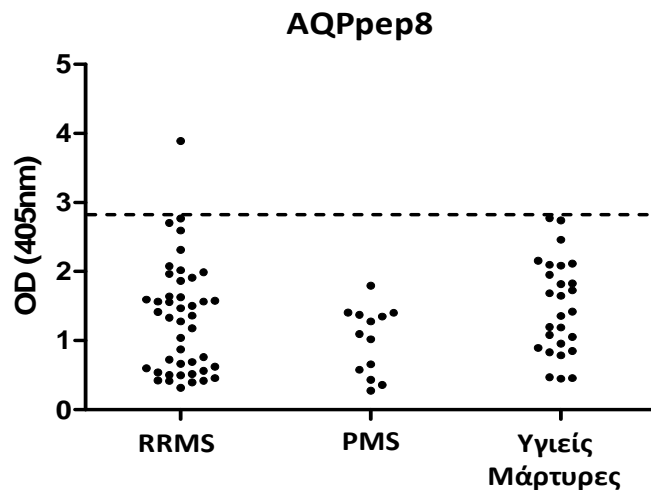
**(B)** Ορός με αρνητική δοκιμασία ομόλογης αναστολής (μη ειδική αντίδραση).



#### 6.2.5. Έλεγχος των Ασθενών με MS για Ύπαρξη anti-MOG Αντισωμάτων

Όλοι οι ασθενείς με MS ελέγχθηκαν και για την ύπαρξη anti-MOG αντισωμάτων με τη χρήση μιας εμπορικής ELISA. Στόχος του πειράματος ήταν να ελεγχθεί κατά πόσο οι συγκεκριμένοι οροί ήταν πολυδραστικοί, με αποτέλεσμα να συνδέονται με πολλαπλούς αντιγονικούς στόχους. Ωστόσο, μόνο ένας ασθενής με RRMS εμφάνισε δραστικότητα μεγαλύτερη κατά >3SD από το μέσο όρο των υγιών μαρτύρων (Εικόνα 20).

Εικόνα 20: Δραστικότητα των επιμέρους ομάδων ορών έναντι των anti-MOG αντισωμάτων.



#### 6.2.6. Κλινικοεργαστηριακές Συσχετίσεις των Ασθενών με MS

Οι 6 ασθενείς με RRMS που εμφάνισαν ειδική δραστικότητα έναντι του πεπτιδίου AQPper8 ήταν όλοι γυναίκες, με μια ευρεία διακύμανση στην ηλικία έναρξης της νόσου (18–44 έτη) και διάρκεια νόσου από 3 έως 8 έτη. Η διάγνωση της νόσου έγινε βάσει των MacDonald κριτηρίων. Όλοι οι δραστικοί έναντι του πεπτιδίου AQPper8 ασθενείς είχαν οπτική νευρίτιδα, θετικό IgG index, ολιγοκλωνικές ζώνες στο ENY και ευρήματα συμβατά με MS στην MRI εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού. Οι 4 εκ των ασθενών είχαν ευρήματα και στη θωρακική μοίρα του νωτιαίου μυελού (Πίνακας 11).

**Πίνακας 11: Κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών με MS.**

Ασθενής	Φύλο	Ηλικία Έναρξης Νόσου	Διάρκεια Νόσου	EDSS <sup>†</sup> Έναρξης Νόσου	EDSS <sup>†</sup> κατά τη Δειγματοληψία	Εξάρσεις/ Έτος	Οπτική Νευρίτιδα	Νωπιαίος Μυελός	Εγκεφαλικές Εστίες	IgG Index	OCBs*
MS9	Θήλυ	19	3	2	1	5,3	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	Θετικό	ΝΑΙ
MS24	Θήλυ	30	6	0	1	6,9	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ	Θετικό	ΝΑΙ
MS37	Θήλυ	44	5	1	Άγνωστο	0,5	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	Θετικό	ΝΑΙ
MS39	Θήλυ	30	8	1	1	0,3	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΟΧΙ	Θετικό	ΝΑΙ
MS46	Θήλυ	26	7	2	3,5	3,4	ΝΑΙ	ΟΧΙ	ΝΑΙ	Θετικό	ΝΑΙ
MS60	Θήλυ	18	8	Άγνωστο	6	2,1	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	Θετικό	ΝΑΙ

† Expanded Disability Status Scale (EDSS): Δείκτης για την ποσοτικοποίηση της έκπτωσης λειτουργικότητας στην MS. Έχει εύρος [0-10], με τις υψηλότερες τιμές να αντιστοιχούν σε μεγαλύτερη έκπτωση λειτουργικότητας.

\* OCBs: Oligoclonal Bands, Ολιγοκλωνικές Ζώνες.

# **7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

### 7.1. ΚΛΙΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Το κλινικό μέρος της μελέτης εστίασε στην διάκριση των μείζονων συμβαμάτων από το ΚΝΣ στους ασθενείς με ΣΕΛ. Αρχικά, υπολογίστηκε ο επιπολασμός και η επίπτωση της προσβολής του ΚΝΣ σε μια ομάδα μη επιλεγμένων ασθενών με ΣΕΛ. Δείχθηκε ότι η βαριά προσβολή του ΚΝΣ είναι σχετικά ασυνήθης στους ασθενείς αυτούς, με επιπολασμό της τάξης του 4.3% και ετήσια επίπτωση που ανέρχεται στις 7.8 περιπτώσεις /100 ανθρωποέτη.

Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι υψηλοί δείκτες ενεργότητας ECLAM και SLEDAI, καθώς και η συνύπαρξη δευτεροπαθούς APS συσχετίζονται με αυξημένη πιθανότητα προσβολής του ΚΝΣ. Παρά τους περιορισμούς της συγκεκριμένης έρευνας, ιδιαίτερα λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος, τα ανωτέρω ευρήματα αξίζουν περαιτέρω προσοχής και μελέτης, καθώς αντικατοπτρίζουν τη σημασία και τη σπανιότητα της βαριάς νευρολογικής προσβολής στον ΣΕΛ. Πιο συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι η προσβολή του ΚΝΣ επηρεάζει αρνητικά, τόσο την αθροιστική βλάβη, όσο και τη θνητότητα από τη νόσο [81,85]. Αυτό οφείλεται κυρίως στις μείζονες νευρολογικές εκδηλώσεις, όπως είναι οι επιληπτικές κρίσεις, η μυελοπάθεια και τα ΑΕΕ [73,81,84]. Ακόμα, η νευρολογική προσβολή φαίνεται να αποτελεί έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για αυξημένη πιθανότητα νοσηλείας στους ασθενείς με ΣΕΛ [83]. Η παρούσα μελέτη ενισχύει τα συμπεράσματα αυτά, καθώς το 13% (18/ 141) των νοσηλειών των ασθενών οφειλόταν σε μείζονα συμβάματα από το ΚΝΣ. Μια επιπλέον παρατήρηση είναι ότι μόνο 2 εκ των συνολικά 141 νοσηλειών ήταν στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), και οι 2 λόγω προσβολής του ΚΝΣ. Τα ανωτέρω ευρήματα τονίζουν τη σημασία της έγκαιρης διάγνωσης και αντιμετώπισης των ασθενών που προσέρχονται με σημειολογία από το ΚΝΣ.



Η πραγματική επίπτωση και ο επιπολασμός της κλινικά σημαντικής νευρολογικής προσβολής στον ΣΕΛ συχνά επισκιάζεται από τις ελάσσονες, μη ειδικές εκδηλώσεις, οι οποίες δεν έχουν άμεση παθογενετική σχέση με τη νόσο, όπως είναι η ήπια γνωσιακή δυσλειτουργία, οι κεφαλαλγίες, η ήπια κατάθλιψη, οι αγχώδεις διαταραχές και οι παραισθησίες με αρνητικό ηλεκτρονευρογράφημα και ηλεκτρομυογράφημα [25,26]. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι μια μετα-ανάλυση του 2004 έδειξε πως ο επιπολασμός όλων των τύπων κεφαλαλγίας στον ΣΕΛ δεν ήταν διαφορετικός από το γενικό πληθυσμό [150], ενώ μια άλλη μελέτη απέδειξε ότι και οι ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς σαφή νευρολογική προσβολή μπορεί να παρουσιάζουν επιδείνωση της προσοχής, της μνήμης και της ικανότητας πραγματοποίησης συλλογισμών [151].

Στην παρούσα μελέτη, τα συμπτώματα από το ΠΝΣ, καθώς και τα προαναφερθέντα ελάσσονα συμβάματα [26], αποκλείστηκαν, και εφαρμόστηκαν αυστηρά κριτήρια για την εισαγωγή μόνο εκείνων των νευρολογικών εκδηλώσεων που θα αποδίδονταν με βεβαιότητα στη νόσο. Συμπεριλήφθηκαν 8 μείζονες εκδηλώσεις από το ΚΝΣ, και πιο συγκεκριμένα οι επιληπτικές κρίσεις, τα ΑΕΕ, η μυελοπάθεια, η ψύχωση, η άσηπτη μηνιγγίτιδα, η οξεία συγγυτική κατάσταση, η χορεία και το απομυελινωτικό σύνδρομο. Τέλος, παρά το γεγονός ότι, σύμφωνα με την κατηγοριοποίηση του ACR, η οπτική νευρίτιδα ανήκει στις εκδηλώσεις του ΠΝΣ [24], στην παρούσα έρευνα θεωρήθηκε εκδήλωση του ΚΝΣ, καθώς εμφανίστηκε στα πλαίσια του συνδρόμου της Οπτικής Νευρομυελίτιδας.

Ο επιπολασμός της σαφούς κλινικά νευρολογικής προσβολής στον συγκεκριμένο πληθυσμό ασθενών με ΣΕΛ ήταν 4.3%, πολύ χαμηλότερος σε σύγκριση με προηγούμενες προοπτικές μελέτες, στις οποίες είχαν συμπεριληφθεί τα ελάσσονα συμβάματα και τα συμβάματα από το ΠΝΣ, και στις οποίες ο επιπολασμός κυμαινόταν από 13% έως 46% [26,28,32]. Αντίθετα από

τον επιπολασμό, η επίπτωση δεν έχει ποτέ υπολογιστεί με σαφήνεια στο παρελθόν, ενώ μια πρόσφατη μελέτη πρότεινε μια αθροιστική επίπτωση της τάξης του 30-40% [10]. Στην παρούσα μελέτη, η επίπτωση υπολογίστηκε μεταξύ των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών με ΣΕΛ (n= 55) κατά τη διάρκεια της τριετίας παρακολούθησης, και ήταν 7.8 νέες περιπτώσεις/ 100 ανθρωποέτη. Ακόμα, σε αντιστοιχία με παλαιότερες μελέτες, όπου τα περισσότερα νευρολογικά συμβάματα εμφανίζονται νωρίς στην πορεία της νόσου [7,28,29], η προσβολή του ΚΝΣ ήταν επίσης ένα πρώιμο γεγονός στο συγκεκριμένο πληθυσμό, καθώς το 44% των ασθενών εμφάνισαν τις νευρολογικές εκδηλώσεις ταυτόχρονα με τη διάγνωση της νόσου.

Περίπου το 13% των νοσηλειών κατά τη διάρκεια της τριετίας οφείλονταν σε βλάβη από το ΚΝΣ, καθιστώντας τες το τρίτο συχνότερο αίτιο εισαγωγής ασθενούς στο νοσοκομείο. Συνεπώς, αν και σπάνια, η προσβολή του ΚΝΣ αντιστοιχεί σε ένα αξιοσημείωτο ποσοστό νοσηλειών στους ασθενείς με ΣΕΛ.

Μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση εντοπίστηκε ανάμεσα στην υψηλή ενεργότητα της νόσου και στις εκδηλώσεις από το ΚΝΣ ( $P<0.001$ ), σε συμφωνία με άλλες μελέτες [7,71,77]. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύθηκε μέσω της εκτίμησης των ασθενών με 2 διαφορετικούς δείκτες ενεργότητας νόσου (ECLAM και SLEDAI), καθώς και μέσω της επανάληψης της στατιστικής ανάλυσης μετά τον αποκλεισμό των νευρολογικών μεταβλητών από τους δείκτες. Ακόμα, στατιστικά σημαντική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ της προσβολής του ΚΝΣ και του δευτεροπαθούς APS ( $P=0.03$ ). Άλλες μελέτες έχουν επίσης προτείνει στο παρελθόν την ύπαρξη σχέσης μεταξύ νευρολογικών εκδηλώσεων του ΣΕΛ και συνύπαρξης δευτεροπαθούς APS [54,77,130,226].

Στον συγκεκριμένο πληθυσμό παρατηρήθηκαν 2 διακριτοί κλινικοί φαινότυποι προσβολής του ΚΝΣ. Ο πρώτος ήταν ο «διάχυτος», ο οποίος περιελάμβανε τις επιληπτικές κρίσεις και την ψύχωση. Ο δεύτερος ήταν ο «εστιακός» και περιελάμβανε την μυελοπάθεια και τα ΑΕΕ. Κατά την συσχέτιση δε των διακριτών νευρολογικών συνδρόμων με άλλα κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών, βρέθηκε ότι οι επιληπτικές κρίσεις εμφανίζονται σε ασθενείς με υψηλότερη ενεργότητα νόσου ( $P=0.02$  και  $P=0.07$ , για τους δείκτες ECLAM και SLEDAI αντίστοιχα), συγκριτικά με τις υπόλοιπες νευρολογικές εκδηλώσεις. Επιπλέον, οι ασθενείς που εμφάνισαν επιληπτικές κρίσεις διαγνώστηκαν με ΣΕΛ σε νεότερη ηλικία ( $P=0.08$ ), σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες [130], ενώ εμφάνισαν τις επιληπτικές κρίσεις αργότερα στην πορεία της νόσου ( $P=0.03$ ), σε αντίθεση με άλλες μελέτες, όπου οι επιληπτικές κρίσεις φάνηκε να είναι πρώιμο γεγονός [131]. Η σπειραματονεφρίτιδα υπήρχε πιο συχνά στους ασθενείς αυτούς, ενώ είχε την τάση να εμφανίζεται ταυτόχρονα με την έναρξη των επιληπτικών κρίσεων ( $P=0.03$ ). Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με μια προηγούμενη μελέτη, όπου οι επιληπτικές κρίσεις ήταν συχνή εκδήλωση σε ασθενείς με σπειραματονεφρίτιδα του ΣΕΛ [227].

Τρεις από τους 6 ασθενείς που εκδήλωσαν επιληπτικές κρίσεις είχαν χαρακτηριστική απεικόνιση στην MRI. Δύο εμφάνισαν Αναστρέψιμη Οπίσθια Λευκοεγκεφαλοπάθεια (RPLS) [48] και ένας είχε βλάβες προσομοιάζουσες αγγειίτιδα. Και οι 3 ασθενείς είχαν παρόμοια κλινικά χαρακτηριστικά: Πολύ υψηλή ενεργότητα νόσου, ενεργό σπειραματονεφρίτιδα με εικόνα νεφρωσικού συνδρόμου, καθώς και βελτίωση των συμπτωμάτων τους μετά τη χορήγηση ανοσοκατασταλτικής και αντιεπιληπτικής αγωγής. Σύμφωνα με προηγούμενες αναφορές, υπάρχουν 2 τύποι RPLS στον ΣΕΛ. Η «υπερτασική» RPLS, η οποία είναι

αναστρέψιμη με αντιυπερτασική και αντισπασμωδική αγωγή και συνυπάρχει με ανενεργό ΣΕΛ, και η «φλεγμονώδης» RPLS, η οποία εμφανίζεται σε ενεργό ΣΕΛ, απαιτεί ανοσοκατασταλτική θεραπεία και θα μπορούσε να θεωρηθεί νευρολογική εκδήλωση αυτής καθ' εαυτής της νόσου [48]. Τέλος, καθώς στους συγκεκριμένους ασθενείς οι επιληπτικές κρίσεις προηγήθηκαν της πλήρους εξέλιξης της νεφρικής προσβολής, είναι εξαιρετικά απίθανο αυτές να οφείλονται σε εγκεφαλοπάθεια στα πλαίσια του νεφρωσικού συνδρόμου.

Η μυελοπάθεια αντιθέτως συσχετίστηκε με χαμηλότερη ενεργότητα της νόσου και με την παρουσία των NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισωμάτων ( $P \leq 0.05$ ). Οι ασθενείς που εμφάνιζαν μυελοπάθεια και ήταν ταυτόχρονα θετικοί για NMO-IgG αντισώματα (2/4) είχαν σημειολογία που ανήκε στο φάσμα της Οπτικής Νευρομυελίτιδας [64]. Ο πρώτος είχε Οπτική Νευρομυελίτιδα και ο δεύτερος εγκάρσια μυελίτιδα με εκτεταμένες συνεχόμενες βλάβες (LETM). Οι παραπάνω οντότητες έχουν περιγραφεί ξανά στο παρελθόν στα πλαίσια συστηματικών αυτοανόσων νοσημάτων [52]. Επιπλέον, μια πρόσφατη μελέτη περιέγραψε 2 υπότυπους μυελίτιδας στον ΣΕΛ [50]. Ο πρώτος εκδηλώνεται με δυσλειτουργία της φαιάς ουσίας του νωτιαίου μυελού (NM), μη αναστρέψιμη παραπληγία, σύσταση του ENY που προσομοιάζει σε αυτήν τη οξείας βακτηριακής μηνιγγίτιδας, ενώ συνυπάρχει υψηλή ενεργότητα της νόσου. Ο δεύτερος υπότυπος αντιθέτως, εκδηλώνεται με δυσλειτουργία της λευκής ουσίας, ενώ περιλαμβάνει ασθενείς με χαμηλότερη ενεργότητα νόσου, οι οποίοι έχουν περισσότερες πιθανότητες να πληρούν τα κριτήρια για NMO. Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς με μυελίτιδα ανήκαν στην δεύτερη κατηγορία.

Τα ΑΕΕ εμφανίζονταν πιο συχνά σε ασθενείς με δευτεροπαθές APS ( $P = 0.06$ ) και μεγαλύτερο σκορ αθροιστικής βλάβης (SDI) ( $P = 0.03$ ). Το τροποποιημένο m-SDI δεν εμφάνισε συσχέτιση με

τα ΑΕΕ, οδηγώντας στην υπόθεση ότι τα ΑΕΕ αυτά καθ' εαυτά μπορεί να οδηγούν σε επιδείνωση της αθροιστικής βλάβης.

Η προσβολή του ΚΝΣ στον ΣΕΛ οφείλεται σε ποικίλους παθογενετικούς μηχανισμούς. Αυτοί περιλαμβάνουν την μικροαγγειοπάθεια, την επαγόμενη από αυτοαντισώματα κυτταρική βλάβη και την ενδοθηκική παραγωγή κυτταροκινών, οι οποίες αυξάνουν την διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, επιτρέποντας στα λευκοκύτταρα και στα αντισώματα να εισέλθουν στο ΚΝΣ [7]. Αυτοαντισώματα με ισχυρή κλινική συσχέτιση με τη νευρολογική προσβολή στον ΣΕΛ είναι τα αντιφωσφολιπιδικά (aPL), τα οποία υπήρχαν σε 8 από τους συνολικά 16 ασθενείς με προσβολή του ΚΝΣ, τα αντι-ριβωσωμικά (anti-RibP) (2/ 16 ασθενείς), και τα NMO-IgG/anti-AQP4 αντισώματα, σε 2 από τους 4 ασθενείς με μυελοπάθεια [7,60,64].

**Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη, παρά ορισμένους περιορισμούς (μονήρες ερευνητικό κέντρο, σχετικά βραχεία χρονική περίοδος παρακολούθησης), εστίασε στην βαριά προσβολή του ΚΝΣ που αποδίδεται με βεβαιότητα στον ΣΕΛ. Η κλινικά σοβαρή νευρολογική προσβολή φαίνεται να είναι σχετικά σπάνια στους ασθενείς με ΣΕΛ, ενώ συσχετίζεται με υψηλή ενεργότητα της νόσου και εκδηλώνεται με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, αναλόγως των ειδικών νευρολογικών συνδρόμων. Τέλος, δίνεται έμφαση στη σημασία της έγκαιρης διάγνωσης και εντατικής θεραπείας των μείζονων νευρολογικών εκδηλώσεων, εξ' αιτίας της επίπτωσης τους στην νοσηρότητα και τη θνητότητα του ΣΕΛ. Η πραγματοποίηση πολυκεντρικών, μακροχρόνιων μελετών θα ενισχύσει τα ανωτέρω συμπεράσματα.**

## 7.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ

Μετά την καθιέρωση των NMO-IgG/ anti-AQP4 αντισωμάτων ως διαγνωστικού δείκτη και παθογενετικού παράγοντα για την Οπτική Νευρομυελίτιδα, ένας μεγάλος αριθμός μεθόδων με διαφορετική ευαισθησία και ειδικότητα αναπτύχθηκε για την ανίχνευσή τους. Οι διαφοροποιήσεις αυτές καταδεικνύουν διαφορές στην φύση του αντιγόνου που χρησιμοποιείται σε κάθε μέθοδο ανίχνευσης. Η παλαιότερη χρονικά και πιο καθιερωμένη μέθοδος είναι ο έμμεσος ανοσοφθορισμός (IIF) σε τομές εγκεφάλου ποντικού, στις οποίες το αντιγόνο θεωρείται ότι βρίσκεται στη φυσική του μορφή [51].

Ορισμένες μελέτες αναφέρουν ότι τα αυτοαντισώματα κατευθύνονται ενάντια σε επιτόπους των εξωκυττάρων δομών της ακουαπορίνης με τρόπο εξαρτώμενο από την στερεοδιαμόρφωση του μορίου. Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές υποθέτουν ότι τα αντισώματα μπορούν να συνδεθούν με τα μόρια της ακουαπορίνης μόνο όταν αυτά είναι διαμορφωμένα σε ορθογώνιες συστοιχίες (orthogonal arrays of particles, OAPs) [198]. Σε άλλες πάλι μελέτες, έχει επιτευχθεί ο εντοπισμός γραμμικών δομών με αντιγονική δράση, με τη χρήση μεθόδων που αποδιατάσσουν τις πρωτεΐνες, όπως η ELISA και η Western Blot [199]. Συνεπώς, είναι πιθανό τόσο διαμορφωτικοί όσο και γραμμικοί επίτοποι να συμμετέχουν σε μια πολυκλωνική απάντηση ενάντια στο αντιγόνο της AQP4, όπως άλλωστε ισχύει και για την πλειοψηφία των αυτοαντισωμάτων [228].

Στην παρούσα μελέτη, προκειμένου να προσδιοριστεί η ειδικότητα των αυτοαντισωμάτων που προσδένονται στο μόριο της AQP4, χρησιμοποιήθηκαν αλληλοεπικαλυπτόμενα συνθετικά πεπτίδια, τα οποία κάλυπταν όλες τις εξωκυττάριας και ενδοκυττάριας δομές του μορίου. Πεπτίδια τέτοιου τύπου μπορούν να μιμηθούν αποτελεσματικά γραμμικούς και μερικώς

διαμορφωτικούς επιτόπους και χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν για την χαρτογράφηση της ειδικότητας των αυτοαντισωμάτων σε ποικίλα αυτοάνοσα νοσήματα, συμπεριλαμβανόμενων των anti-Sm [229], anti-U1 snRNP [230], anti-Ro/SSA [231], anti-La/SSB [232], των αντισωμάτων έναντι κιτρολλινοποιημένης  $\alpha$ -ενολάσης (anti-CCP) [233], και έναντι της αποκαρβοξυλάσης του γλουταμικού οξέος 65 (anti-GAD 65) [234].

Συντέθηκαν 11 πεπτίδια, ώστε να καλύπτουν όλες τις εξωκυττάρειες και ενδοκυττάρειες πιθανές θέσεις πρόσδεσης των anti-AQP4 αντισωμάτων. Κατά τον έλεγχο NMO-IgG θετικών ορών για αντισώματα έναντι των ανωτέρω πεπτιδίων, εντοπίστηκαν 3 κυρίαρχοι επίτοποι. Στο αμινοτελικό άκρο, την πρώτη ενδοκυττάρια αγκύλη και το καρβοξυ-τελικό άκρο της πρωτεΐνης. Οι οροί της ομάδας ελέγχου από άλλα συστηματικά αυτοάνοσα νοσήματα εκδήλωσαν σχεδόν μηδενική δραστικότητα έναντι των 3 επιτόπων. Η δραστικότητα αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί σε δραστικότητα έναντι πολλαπλών αντιγόνων, η οποία συχνά συναντάται σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα. Δεδομένου ότι το 42.9% των NMO-IgG θετικών ορών αναγνώριζε 1 τουλάχιστον από τα 3 πεπτίδια, φαίνεται ότι ένας μεγάλος αριθμός ειδικών αυτοαντισωμάτων στρέφεται ενάντια σε γραμμικούς επιτόπους του μορίου της AQP4. Οι δε δοκιμασίες αναστολής επιβεβαίωσαν την ειδικότητα της αντίδρασης.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το περισσότερο δραστικό από τα 3 πεπτίδια αντιστοιχεί στα πρώτα 22 αμινοξέα της AQP4, τα οποία υπάρχουν μόνο στην  $M_1$  και όχι στην  $M_{23}$  ισομορφή της πρωτεΐνης, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι και η  $M_1$  ισομορφή παρουσιάζει σαφείς αντιγονικές θέσεις. Το παραπάνω εύρημα συμφωνεί με τη μελέτη των Marnetto et al. [199], η οποία έδειξε, με τη μέθοδο Western Blot, ότι ο μείζων στόχος των anti-AQP4 αντισωμάτων στην Οπτική Νευρομυελίτιδα είναι η γραμμική AQP4- $M_1$  ισομορφή. Η

παρατήρηση σχετικά με την  $M_1$  ισομορφή έρχεται σε συμφωνία και με το πρόσφατο εύρημα για την ύπαρξη 2 διαφορετικών σημειακών μεταλλάξεων που έχουν σαν αποτέλεσμα την αντικατάσταση του αμινοξέος Arg19 (R19I and R19T) (missense mutation), και οι οποίες οδηγούν στην αύξηση του κινδύνου εμφάνισης Οπτικής Νευρομυελίτιδας. Τα συγκεκριμένα αμινοξέα εντοπίζονται στις πρώτες 22 θέσεις του αμινο-τελικού άκρου της πρωτεΐνης, οι οποίες υπάρχουν μόνο στην  $M_1$  ισομορφή [235]. Τέλος, η  $M_1$  ισομορφή της AQP4 φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην Οπτική Νευρομυελίτιδα, καθώς εκφράζεται κατά προτίμηση στο οπτικό νεύρο και το νωτιαίο μυελό, στις θέσεις δηλαδή προσβολής από τη νόσο [236].

Σε μια άλλη μελέτη ωστόσο, είναι η  $M_{23}$  ισομορφή που προτείνεται ως ο μείζων στόχος των anti-AQP4 αντισωμάτων [198]. Στη μελέτη αυτή, διαμορφωτικός επίτοπος, σχετιζόμενος με τη διάταξη των μορίων σε ορθογώνιες συστοιχίες (OAPs), εντοπίστηκε στην επιφάνεια ζώντων κυττάρων που είχαν επιμολυνθεί ώστε να εκφράζουν εκλεκτικά την  $M_{23}$  ισομορφή της AQP4. Δεδομένου ότι η ακουαπορίνη στη φυσική της μορφή απαρτίζεται από ετεροτετραμερή των  $M_1$  και  $M_{23}$  ισομορφών, τα οποία δημιουργούν ενδιάμεσου μεγέθους OAPs, η τεχνητή μεγέθυνση των OAPs μέσω της υπερέκφρασης της  $M_{23}$  ισομορφής μπορεί να αυξήσει την ένταση της πρόσδεσης των αυτοαντισωμάτων, λόγω της σύνδεσης των αντισωμάτων σε πάνω από μια αντιγονικές θέσεις ταυτόχρονα. Παρ' όλο που αυτή η ικανότητα βελτιώνει την διαγνωστική αξία της μεθόδου για την ανίχνευση των anti-AQP4 αντισωμάτων, δεν σημαίνει ότι στην πραγματικότητα τα anti-AQP4 συνδέουν μόνο την  $M_{23}$ -AQP4.

Και οι τρεις Β-κυτταρικοί επίτοποι που βρέθηκαν, εντοπίζονταν στις ενδοκυττάρειες περιοχές της πρωτεΐνης. Οι μηχανισμοί αναγνώρισης ενδοκυττάρειων δομών είναι περίπλοκοι, και σε μεγάλο βαθμό άγνωστοι. Πολλά αυτοαντισώματα τα οποία στρέφονται ενάντια σε



ενδοκυττάρια αντιγόνα, όπως τα anti-U1 RNP, anti-dsDNA, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-Hu και άλλα, έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στα κύτταρα *in vivo* [237-242]. Μια εναλλακτική εξήγηση είναι ότι η αυτοάνοση απόκριση επάγεται από την κυτταρική απόπτωση και την απελευθέρωση ενδοκυττάρων επιτόπων, ή την ενδοκυττάρωση και εν συνεχεία παρουσίαση αυτών. Στην περίπτωση της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, η περιγραφείσα πολυκλωνική απόκριση μπορεί να προκαλείται από την αστροκυτταρική βλάβη. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες κατέδειξαν ενδοκυττάρους CD4<sup>+</sup> T κυτταρικούς επιτόπους της AQP4, σε C57BL/6 και SJL/J ποντίκια [243,244], οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η βοήθεια των T κυττάρων είναι πιθανότατα απαραίτητη για την ανάπτυξη μιας ικανής ανοσιακής απόκρισης ενάντια σε ενδοκυττάρια τμήματα της πρωτεΐνης. Ένας από τους επιτόπους αυτούς μάλιστα, αντιστοιχεί στα αμινοξέα aa281–300, σε περιοχή παρακείμενη του B επιτόπου AQPpre8 [aa252-275] [245].

Σε αντίθεση με την παρούσα εργασία, οι Hinson et al. [194], βασιζόμενοι στην παρατήρηση ότι τα anti-AQP4 αντισώματα συνδέονται στην επιφάνεια κυττάρων διαμολυσμένων με AQP4 εν απουσία συνθηκών που να επιτρέπουν τη μεμβρανική διαπερατότητα, πρότειναν την ύπαρξη εξωκυττάρων επιτόπων. Ορισμένες ακόμα έρευνες επικεντρώθηκαν στη μελέτη των εξωκυττάρων περιοχών της AQP4. Οι Taní et al. [206] προκάλεσαν σημειακές μεταλλάξεις στις εξωκυττάρια δομές της M<sub>23</sub> ισομορφής AQP4 ποντικού, και στη συνέχεια συνέκριναν την ένταση του ανοσοφθορισμού της μεταλλαγμένης M<sub>23</sub> με την ανθρώπινη AQP4 στη φυσική μορφή της, καθώς και με την AQP4 ποντικού και επίμυος. Το συμπέρασμα της μελέτης ήταν ότι η τρίτη εξωκυττάρια αγκύλη της πρωτεΐνης (E-loop) είναι μείζων αντιγονικός επίτοπος για τα anti-AQP4 αντισώματα.

Η αναζήτηση στις βάσεις δεδομένων πρωτεϊνών είχε ως αποτέλεσμα τον εντοπισμό 73% ομολογίας μεταξύ της AQP4 [aa257-271] και ενός 15-μερούς πεπτιδίου της πρωτεΐνης TAX1BP1. Η TAX1BP1 είναι μια ανθρώπινη πρωτεΐνη, η οποία συμμετέχει στον αναδιπλασιασμό του Human T-cell Leukemia Virus 1 (HTLV-1) [246,247]. Ο HTLV-1 είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της HTLV-1 σχετιζόμενης μυελοπάθειας ή τροπικής σπαστικής παραπάρεσης (HAM/TSP) [246], ενός νοσήματος που παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με την Οπτική Νευρομυελίτιδα. Η πιθανότητα συσχέτισης μεταξύ Οπτικής Νευρομυελίτιδας και λοίμωξης από HTLV-1 έχει προηγουμένως αναφερθεί από 2 ερευνητικές ομάδες, οι οποίες κατέδειξαν ενεργό HTLV-1 λοίμωξη σχετιζόμενη με εκτεταμένη εγκάρσια μυελίτιδα (LETM), ένα σύνδρομο του φάσματος της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, ταυτόχρονα με την παρουσία anti-AQP4 αντισωμάτων [248].

Οι NMO θετικοί οροί ελέγχθηκαν και για αντισώματα εναντίον δύο ομόλογων 15-μερών πεπτιδίων, τα οποία προέρχονταν από την AQP4 και την TAX1BP1 αντίστοιχα, και εμφάνισαν σε μεγάλο βαθμό κοινή δραστηριότητα για τα δύο πεπτίδια. Η ειδικότητα της αντίδρασης αξιολογήθηκε με δοκιμασίες ομόλογης και ετερόλογης αναστολής, και το αποτέλεσμα ήταν υψηλά επίπεδα αναστολής και για τα 2 πεπτίδια. Ωστόσο, το κατά πόσον αυτή η συσχέτιση έχει αιτιοπαθογενετικό υπόβαθρο ή είναι επιφανόμενο, μένει να αποδειχθεί.

Στο τελευταίο κομμάτι της έρευνας καταδείχθηκε ότι μια υποομάδα ασθενών με RRMS (13%) είναι θετικοί για αντισώματα εναντίον του καρβοξυ-τελικού άκρου της AQP4. Αντιθέτως, κανένας από τους ασθενείς με RRMS ή PMS δεν εμφάνισε αντισώματα έναντι των διαμορφωτικών επιτόπων της AQP4, όπως αυτοί ανιχνεύονται με κυτταροεξαρτώμενες μεθόδους (Cell Based Assays). Δύο πρόσφατες μελέτες πάνω στο συγκεκριμένο θέμα είχαν

αντικρουόμενα αποτελέσματα. Στην πρώτη, ένα ποσοστό ασθενών με κλασική MS ήταν θετικό για anti-AQP4 αντισώματα με μια κυτταροεξαρτώμενη μέθοδο (Cell Based Assay), αλλά σε μια μελέτη παρακολούθησης της ίδιας εθνικής ομάδας ασθενών [249], δεν δείχθηκε δραστικότητα των ορών έναντι της AQP4, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι το φάσμα της Οπτικής Νευρομυελίτιδας χρήζει καλύτερης αποσαφήνισης. Τα συμπεράσματα της παρούσας έρευνας υποστηρίζουν την άποψη ότι ακόμα και μεταξύ των καυκάσιων ασθενών με κλασική MS, μια υποομάδα παρουσιάζει ανοσολογική επικάλυψη με την Οπτική Νευρομυελίτιδα, και ειδικότερα όσον αφορά συγκεκριμένους αντιγονικούς επιτόπους του μορίου της AQP4.

Προκειμένου να ελεγχθεί κατά πόσον οι ασθενείς με MS και δραστικότητα κατά του πεπτιδίου AQP<sub>pp8</sub> εμφάνιζαν κλινική σημειολογία που να προσομοιάζει σε αυτήν της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, εξετάστηκαν αναδρομικά τα ιατρικά αρχεία των ασθενών αυτών. Ένα κοινό χαρακτηριστικό και των 6 ασθενών ήταν η οπτική νευρίτιδα ως πρώτη κλινική εκδήλωση της νόσου. Επιπλέον, είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον το γεγονός ότι 5 από τους 6 ασθενείς δεν είχαν ανταποκριθεί στη χορήγηση ανοσοτροποποιητικών θεραπειών, ενώ πέτυχαν ύφεση της νόσου τους μετά τη χορήγηση ανοσοκαταστολής, με καλή έκβαση στα 3 έως 8 έτη παρακολούθησης και EDSS score μεταξύ 0 και 2.5 και για τους 6 ασθενείς.

Είναι ακόμα ασαφής ο τρόπος με τον οποίο οι ενδοκυττάριοι αυτοί επιτόποι συμμετέχουν στην παθογένεση, τόσο της Οπτικής Νευρομυελίτιδας, όσο και της Πολλαπλής Σκλήρυνσης. Στις περιοχές βλάβης της Οπτικής Νευρομυελίτιδας εντοπίζονται παράγωγα ενεργοποίησης του συμπληρώματος εντός των αστροκυττάρων και των μακροφάγων, εικόνα που θυμίζει έντονα τις βλάβες τύπου II της MS [250]. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι στις περιοχές βλάβης της MS παρατηρείται, ανεξάρτητη από αντισώματα, απώλεια AQP4 [251], υποδηλώνοντας ότι η βλάβη

των αστροκυττάρων χαρακτηρίζει κάποιους ασθενείς με MS [252]. Είναι επίσης πιθανό, όπως προαναφέρθηκε, τα κατεστραμμένα αστροκύτταρα στις περιπτώσεις αυτές να απελευθερώνουν κρυπτικούς επιτόπους, οι οποίοι αναγνωρίζονται από το ανοσολογικό σύστημα, όπως άλλωστε συμβαίνει και σε άλλα αυτοάνοσα νοσήματα, όπως τον ΣΕΛ [228]. Ακόμα, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι στην Οπτική Νευρομυελίτιδα, τόσο οι Β όσο και οι Τ ενδοκυττάρια επίτοποι μπορεί να εκτίθενται περιοδικά, μετά από αστροκυτταρική βλάβη, οδηγώντας σε υποτροπές της νόσου. Συνεπώς, δεδομένου ότι τα αίτια που προκαλούν τις εξάρσεις στην Πολλαπλή Σκλήρυνση είναι εν πολλοίς άγνωστα, ο προτεινόμενος μηχανισμός απελευθέρωσης αντιγονικών περιοχών, μετά από αστροκυτταρική βλάβη, μπορεί να ισχύει και για την MS.

Πρέπει να τονιστεί ότι οι ανωτέρω παρατηρήσεις αφορούν αποκλειστικά στην RRMS, αφού κανένας από τους ασθενείς με PMS ή άλλο αυτοάνοσο νόσημα, δεν αναγνώρισε με ειδικό τρόπο τον καρβοξυ-τελικό επίτοπο. Τέλος, οι θετικοί ασθενείς με RRMS δεν παρουσίασαν πολυδραστικότητα, καθώς δεν αναγνώριζαν άλλους σχετικούς επιτόπους, όπως τον MOG. Σε κάθε περίπτωση απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να αποσαφηνιστεί η παθογενετική σημασία των αντισωμάτων αυτών.

**Συμπερασματικά, στην παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε η πρώτη χαρτογράφηση των Β-κυτταρικών επιτόπων του αυτοαντιγόνου AQP4. Ένα ποσοστό των anti-AQP4 αντισωμάτων στρέφεται κατά ορισμένων γραμμικών επιτόπων, οι οποίοι εντοπίζονται στις ενδοκυττάρια περιοχές του μορίου. Η μελέτη δεν αναλύει τον πιθανό παθογενετικό ρόλο των ανωτέρω αντισωμάτων, αλλά θέτει ερωτήματα σχετικά με την επαγωγή της ανοσιακής απόκρισης.**

Ένας από τους 3 επίτοπους μάλιστα, παρουσιάζει υψηλή ομολογία με την ανθρώπινη πρωτεΐνη TAX1BP1, η οποία εμπλέκεται στην παθογένεση της τροπικής σπαστικής παραπάρεσης (HAM/TSP), ενός νοσήματος που μοιράζεται κοινά κλινικά χαρακτηριστικά με την Οπτική Νευρομυελίτιδα. Τέλος, φαίνεται ότι και μια ομάδα ασθενών με RRMS εμφανίζει δραστικότητα έναντι ενός εκ των 3 επιτόπων, που εντοπίζεται στο καρβοξυ-τελικό άκρο της πρωτεΐνης, θέτοντας ερωτήματα για πιθανά συγκλίνοντες μηχανισμούς της Οπτικής Νευρομυελίτιδας και της Πολλαπλής Σκλήρυνσης. Μελλοντικές μελέτες θα έχουν ως στόχο τη διερεύνηση της παθογενετικής σημασίας των συγκεκριμένων αντισωμάτων.

## 8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Sofat N, Malik O, Higgins CS (2006) Neurological involvement in patients with rheumatic disease. *QJM* 99: 69-79.
2. Ontaneda D, Hyland M, Cohen JA (2012) Multiple sclerosis: new insights in pathogenesis and novel therapeutics. *Annu Rev Med* 63: 389-404.
3. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG (2006) Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 66: 1485-1489.
4. Joseph SA, Tsao CY (2002) Guillain-Barre syndrome. *Adolesc Med* 13: 487-494.
5. Calabrese LH (2013) L36. Evidence-based clinical science and art in the diagnosis of central nervous system vasculitis. *Presse Med* 42: 600-602.
6. Alexopoulos H, Dalakas MC (2010) A critical update on the immunopathogenesis of Stiff Person Syndrome. *Eur J Clin Invest* 40: 1018-1025.
7. Bertsias GK, Boumpas DT (2010) Pathogenesis, diagnosis and management of neuropsychiatric SLE manifestations. *Nat Rev Rheumatol* 6: 358-367.
8. Iorio R, Lennon VA (2012) Neural antigen-specific autoimmune disorders. *Immunol Rev* 248: 104-121.
9. Babbe H, Roers A, Waisman A, Lassmann H, Goebels N, et al. (2000) Clonal expansions of CD8(+) T cells dominate the T cell infiltrate in active multiple sclerosis lesions as shown by micromanipulation and single cell polymerase chain reaction. *J Exp Med* 192: 393-404.
10. Dalakas MC (2008) B cells as therapeutic targets in autoimmune neurological disorders. *Nat Clin Pract Neurol* 4: 557-567.
11. Bhat R, Steinman L (2009) Innate and adaptive autoimmunity directed to the central nervous system. *Neuron* 64: 123-132.
12. Steinman L (2009) A molecular trio in relapse and remission in multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 9: 440-447.
13. Krumbholz M, Theil D, Derfuss T, Rosenwald A, Schrader F, et al. (2005) BAFF is produced by astrocytes and up-regulated in multiple sclerosis lesions and primary central nervous system lymphoma. *J Exp Med* 201: 195-200.
14. Thangarajh M, Masterman T, Hillert J, Moerk S, Jonsson R (2007) A proliferation-inducing ligand (APRIL) is expressed by astrocytes and is increased in multiple sclerosis. *Scand J Immunol* 65: 92-98.
15. Alter A, Duddy M, Hebert S, Biernacki K, Prat A, et al. (2003) Determinants of human B cell migration across brain endothelial cells. *J Immunol* 170: 4497-4505.
16. Pittock SJ, Lucchinetti CF, Parisi JE, Benarroch EE, Mokri B, et al. (2005) Amphiphysin autoimmunity: paraneoplastic accompaniments. *Ann Neurol* 58: 96-107.
17. Wilkinson PC, Zeromski J (1965) Immunofluorescent detection of antibodies against neurones in sensory carcinomatous neuropathy. *Brain* 88: 529-583.
18. Efthimiou P, Blanco M (2009) Pathogenesis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and potential biomarkers. *Mod Rheumatol* 19: 457-468.
19. Zaccagni H, Fried J, Cornell J, Padilla P, Brey RL (2004) Soluble adhesion molecule levels, neuropsychiatric lupus and lupus-related damage. *Front Biosci* 9: 1654-1659.

20. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, et al. (1990) Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 347: 151-156.
21. Lindstrom JM, Seybold ME, Lennon VA, Whittingham S, Duane DD (1998) Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis: prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. 1975. *Neurology* 51: 933 and 936 pages following.
22. Hoch W, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, et al. (2001) Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 7: 365-368.
23. D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR (2007) Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 369: 587-596.
24. (1999) The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum* 42: 599-608.
25. Ainiala H, Hietaharju A, Loukkola J, Peltola J, Korpela M, et al. (2001) Validity of the new American College of Rheumatology criteria for neuropsychiatric lupus syndromes: a population-based evaluation. *Arthritis Rheum* 45: 419-423.
26. Ainiala H, Loukkola J, Peltola J, Korpela M, Hietaharju A (2001) The prevalence of neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus. *Neurology* 57: 496-500.
27. Hanly JG, Urowitz MB, Sanchez-Guerrero J, Bae SC, Gordon C, et al. (2007) Neuropsychiatric events at the time of diagnosis of systemic lupus erythematosus: an international inception cohort study. *Arthritis Rheum* 56: 265-273.
28. Hanly JG, Urowitz MB, Su L, Bae SC, Gordon C, et al. (2010) Prospective analysis of neuropsychiatric events in an international disease inception cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 69: 529-535.
29. Bertsias GK, Ioannidis JP, Aringer M, Bollen E, Bombardieri S, et al. (2010) EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus with neuropsychiatric manifestations: report of a task force of the EULAR standing committee for clinical affairs. *Ann Rheum Dis* 69: 2074-2082.
30. Hanly JG (2008) The neuropsychiatric SLE SLICC inception cohort study. *Lupus* 17: 1059-1063.
31. Unterman A, Nolte JE, Boaz M, Abady M, Shoenfeld Y, et al. (2011) Neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum* 41: 1-11.
32. Hanly JG, McCurdy G, Fougere L, Douglas JA, Thompson K (2004) Neuropsychiatric events in systemic lupus erythematosus: attribution and clinical significance. *J Rheumatol* 31: 2156-2162.
33. De Marcaida JA, Reik L, Jr. (1999) Disorders that mimic central nervous system infections. *Neurol Clin* 17: 901-941.
34. Bosnic D, Cerovec M, Anic B, Mayer M, Sentic M, et al. (2008) [Cryptococcal meningitis as a diagnostic problem in a patient with SLE--case report]. *Lijec Vjesn* 130: 136-140.
35. McCaffrey LM, Petelin A, Cunha BA (2011) Systemic lupus erythematosus (SLE) cerebritis versus *Listeria monocytogenes* meningoencephalitis in a patient with systemic lupus erythematosus on chronic corticosteroid therapy: The diagnostic importance of cerebrospinal fluid (CSF) of lactic acid levels. *Heart Lung*.

36. Luyendijk J, Steens SC, Ouwendijk WJ, Steup-Beekman GM, Bollen EL, et al. (2011) Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: lessons learned from magnetic resonance imaging. *Arthritis Rheum* 63: 722-732.
37. Abreu MR, Jakosky A, Folgerini M, Brenol JC, Xavier RM, et al. (2005) Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: correlation of brain MR imaging, CT, and SPECT. *Clin Imaging* 29: 215-221.
38. Katsumata Y, Harigai M, Kawaguchi Y, Fukasawa C, Soejima M, et al. (2010) Diagnostic reliability of magnetic resonance imaging for central nervous system syndromes in systemic lupus erythematosus: a prospective cohort study. *BMC Musculoskelet Disord* 11: 13.
39. Csepány T, Bereczki D, Kollar J, Sikula J, Kiss E, et al. (2003) MRI findings in central nervous system systemic lupus erythematosus are associated with immunoserological parameters and hypertension. *J Neurol* 250: 1348-1354.
40. Cauli A, Montaldo C, Peltz MT, Nurchis P, Sanna G, et al. (1994) Abnormalities of magnetic resonance imaging of the central nervous system in patients with systemic lupus erythematosus correlate with disease severity. *Clin Rheumatol* 13: 615-618.
41. Sibbitt WL, Jr., Schmidt PJ, Hart BL, Brooks WM (2003) Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) imaging in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 30: 1983-1989.
42. Ainiälä H, Dastidar P, Loukkola J, Lehtimäki T, Korpela M, et al. (2005) Cerebral MRI abnormalities and their association with neuropsychiatric manifestations in SLE: a population-based study. *Scand J Rheumatol* 34: 376-382.
43. Goh YP, Naidoo P, Ngian GS (2013) Imaging of systemic lupus erythematosus. Part I: CNS, cardiovascular, and thoracic manifestations. *Clin Radiol* 68: 181-191.
44. Petropoulos H, Sibbitt WL, Jr., Brooks WM (1999) Automated T2 quantitation in neuropsychiatric lupus erythematosus: a marker of active disease. *J Magn Reson Imaging* 9: 39-43.
45. Shah R, Bag AK, Chapman PR, Cure JK (2010) Imaging manifestations of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Radiol* 65: 431-439.
46. Molloy ES, Calabrese LH (2008) Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with rheumatic diseases: are patients with systemic lupus erythematosus at particular risk? *Autoimmun Rev* 8: 144-146.
47. Palazzo E, Yahia SA (2012) Progressive multifocal leukoencephalopathy in autoimmune diseases. *Joint Bone Spine* 79: 351-355.
48. Fujieda Y, Kataoka H, Odani T, Otomo K, Kato M, et al. (2011) Clinical features of reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in patients with systemic lupus erythematosus. *Mod Rheumatol* 21: 276-281.
49. Primavera A, Audenino D, Mavilio N, Cocito L (2001) Reversible posterior leukoencephalopathy syndrome in systemic lupus and vasculitis. *Ann Rheum Dis* 60: 534-537.
50. Birnbaum J, Petri M, Thompson R, Izbudak I, Kerr D (2009) Distinct subtypes of myelitis in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 60: 3378-3387.



51. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, et al. (2004) A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 364: 2106-2112.
52. Pittock SJ, Lennon VA, de Seze J, Vermersch P, Homburger HA, et al. (2008) Neuromyelitis optica and non organ-specific autoimmunity. *Arch Neurol* 65: 78-83.
53. DeGiorgio LA, Konstantinov KN, Lee SC, Hardin JA, Volpe BT, et al. (2001) A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat Med* 7: 1189-1193.
54. Padovan M, Castellino G, Bortoluzzi A, Caniatti L, Trotta F, et al. (2010) Factors and comorbidities associated with central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a retrospective cross-sectional case-control study from a single center. *Rheumatol Int*.
55. Appenzeller S, Cendes F, Costallat LT (2004) Epileptic seizures in systemic lupus erythematosus. *Neurology* 63: 1808-1812.
56. Sanna G, Bertolaccini ML, Cuadrado MJ, Laing H, Khamashta MA, et al. (2003) Neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus: prevalence and association with antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 30: 985-992.
57. Zandman-Goddard G, Chapman J, Shoenfeld Y (2007) Autoantibodies involved in neuropsychiatric SLE and antiphospholipid syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 36: 297-315.
58. Hanly JG, Hong C, Smith S, Fisk JD (1999) A prospective analysis of cognitive function and anticardiolipin antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 42: 728-734.
59. Abdel-Nasser AM, Ghaleb RM, Mahmoud JA, Khairy W, Mahmoud RM (2008) Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric and other manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 27: 1377-1385.
60. Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, et al. (2000) The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis* 59: 99-104.
61. Haddouk S, Marzouk S, Jallouli M, Fourati H, Frigui M, et al. (2009) Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 48: 953-957.
62. Karassa FB, Afeltra A, Ambrozic A, Chang DM, De Keyser F, et al. (2006) Accuracy of anti-ribosomal P protein antibody testing for the diagnosis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: an international meta-analysis. *Arthritis Rheum* 54: 312-324.
63. Wandinger KP, Stangel M, Witte T, Venables P, Charles P, et al. (2010) Autoantibodies against aquaporin-4 in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and primary Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 62: 1198-1200.
64. Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinshenker BG (2007) The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 6: 805-815.
65. Huerta PT, Kowal C, DeGiorgio LA, Volpe BT, Diamond B (2006) Immunity and behavior: antibodies alter emotion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 678-683.

66. Kowal C, DeGiorgio LA, Nakaoka T, Hetherington H, Huerta PT, et al. (2004) Cognition and immunity; antibody impairs memory. *Immunity* 21: 179-188.
67. Appenzeller S, Carnevalle AD, Li LM, Costallat LT, Cendes F (2006) Hippocampal atrophy in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 65: 1585-1589.
68. Kozora E, West SG, Maier SF, Filley CM, Arciniegas DB, et al. (2010) Antibodies against N-methyl-D-aspartate receptors in patients with systemic lupus erythematosus without major neuropsychiatric syndromes. *J Neurol Sci* 295: 87-91.
69. Lapteva L, Nowak M, Yarboro CH, Takada K, Roebuck-Spencer T, et al. (2006) Anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies, cognitive dysfunction, and depression in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 54: 2505-2514.
70. Yoshio T, Onda K, Nara H, Minota S (2006) Association of IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 54: 675-678.
71. Mikdashi J, Handwerker B (2004) Predictors of neuropsychiatric damage in systemic lupus erythematosus: data from the Maryland lupus cohort. *Rheumatology (Oxford)* 43: 1555-1560.
72. Kampylafka EI, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Panagiotakos DB, Vlachoyiannopoulos PG, et al. (2013) Incidence and prevalence of major central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a 3-year prospective study of 370 patients. *PLoS One* 8: e55843.
73. Andrade RM, Alarcon GS, Gonzalez LA, Fernandez M, Apte M, et al. (2008) Seizures in patients with systemic lupus erythematosus: data from LUMINA, a multiethnic cohort (LUMINA LIV). *Ann Rheum Dis* 67: 829-834.
74. Tomietto P, Annese V, D'Agostini S, Venturini P, La Torre G, et al. (2007) General and specific factors associated with severity of cognitive impairment in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 57: 1461-1472.
75. Bujan S, Ordi-Ros J, Paredes J, Mauri M, Matas L, et al. (2003) Contribution of the initial features of systemic lupus erythematosus to the clinical evolution and survival of a cohort of Mediterranean patients. *Ann Rheum Dis* 62: 859-865.
76. Mikdashi J, Krumholz A, Handwerker B (2005) Factors at diagnosis predict subsequent occurrence of seizures in systemic lupus erythematosus. *Neurology* 64: 2102-2107.
77. Govoni M, Bombardieri S, Bortoluzzi A, Caniatti L, Casu C, et al. (2011) Factors and comorbidities associated with first neuropsychiatric event in systemic lupus erythematosus: does a risk profile exist? A large multicentre retrospective cross-sectional study on 959 Italian patients. *Rheumatology (Oxford)*.
78. Karassa FB, Ioannidis JP, Boki KA, Touloumi G, Argyropoulou MI, et al. (2000) Predictors of clinical outcome and radiologic progression in patients with neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 109: 628-634.
79. Mok MY, Chan EY, Fong DY, Leung KF, Wong WS, et al. (2005) Antiphospholipid antibody profiles and their clinical associations in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 32: 622-628.
80. McLaurin EY, Holliday SL, Williams P, Brey RL (2005) Predictors of cognitive dysfunction in patients with systemic lupus erythematosus. *Neurology* 64: 297-303.

81. Chambers SA, Allen E, Rahman A, Isenberg D (2009) Damage and mortality in a group of British patients with systemic lupus erythematosus followed up for over 10 years. *Rheumatology (Oxford)* 48: 673-675.
82. Jonsen A, Bengtsson AA, Nived O, Ryberg B, Sturfelt G (2002) Outcome of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus within a defined Swedish population: increased morbidity but low mortality. *Rheumatology (Oxford)* 41: 1308-1312.
83. Petri M, Genovese M (1992) Incidence of and risk factors for hospitalizations in systemic lupus erythematosus: a prospective study of the Hopkins Lupus Cohort. *J Rheumatol* 19: 1559-1565.
84. Bernatsky S, Clarke A, Gladman DD, Urowitz M, Fortin PR, et al. (2006) Mortality related to cerebrovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 15: 835-839.
85. Kasitanon N, Louthrenoo W, Sukitawut W, Vichainun R (2002) Causes of death and prognostic factors in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Asian Pac J Allergy Immunol* 20: 85-91.
86. Jennekens FG, Kater L (2002) The central nervous system in systemic lupus erythematosus. Part 2. Pathogenetic mechanisms of clinical syndromes: a literature investigation. *Rheumatology (Oxford)* 41: 619-630.
87. Moore PM, Richardson B (1998) Neurology of the vasculitides and connective tissue diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 65: 10-22.
88. Brooks WM, Sibbitt WL, Jr., Kornfeld M, Jung RE, Bankhurst AD, et al. (2010) The histopathologic associates of neurometabolite abnormalities in fatal neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 62: 2055-2063.
89. Devinsky O, Petito CK, Alonso DR (1988) Clinical and neuropathological findings in systemic lupus erythematosus: the role of vasculitis, heart emboli, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Neurol* 23: 380-384.
90. Hanly JG, Walsh NM, Sangalang V (1992) Brain pathology in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 19: 732-741.
91. Sibbitt WL, Jr., Brooks WM, Kornfeld M, Hart BL, Bankhurst AD, et al. (2010) Magnetic resonance imaging and brain histopathology in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum* 40: 32-52.
92. Hanly JG, Urowitz MB, Su L, Bae SC, Gordon C, et al. (2011) Autoantibodies as biomarkers for the prediction of neuropsychiatric events in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 70: 1726-1732.
93. Matus S, Burgos PV, Bravo-Zehnder M, Kraft R, Porras OH, et al. (2007) Antiribosomal-P autoantibodies from psychiatric lupus target a novel neuronal surface protein causing calcium influx and apoptosis. *J Exp Med* 204: 3221-3234.
94. Aranow C, Diamond B, Mackay M (2010) Glutamate receptor biology and its clinical significance in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 36: 187-201, x-xi.
95. Kowal C, Degiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, et al. (2006) Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 19854-19859.
96. Lauvsnes MB, Omdal R (2012) Systemic lupus erythematosus, the brain, and anti-NR2 antibodies. *J Neurol* 259: 622-629.

97. Arinuma Y, Yanagida T, Hirohata S (2008) Association of cerebrospinal fluid anti-NR2 glutamate receptor antibodies with diffuse neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 58: 1130-1135.
98. Emmer BJ, van der Grond J, Steup-Beekman GM, Huizinga TW, van Buchem MA (2006) Selective involvement of the amygdala in systemic lupus erythematosus. *PLoS Med* 3: e499.
99. Okamoto H, Kobayashi A, Yamanaka H (2010) Cytokines and chemokines in neuropsychiatric syndromes of systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2010: 268436.
100. Santer DM, Yoshio T, Minota S, Moller T, Elkon KB (2009) Potent induction of IFN-alpha and chemokines by autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus. *J Immunol* 182: 1192-1201.
101. Andrews BS, Eisenberg RA, Theofilopoulos AN, Izui S, Wilson CB, et al. (1978) Spontaneous murine lupus-like syndromes. Clinical and immunopathological manifestations in several strains. *J Exp Med* 148: 1198-1215.
102. Alexander JJ, Quigg RJ (2007) Systemic lupus erythematosus and the brain: what mice are telling us. *Neurochem Int* 50: 5-11.
103. Gulinello M, Putterman C (2011) The MRL/lpr mouse strain as a model for neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2011: 207504.
104. Alexander JJ, Bao L, Jacob A, Kraus DM, Holers VM, et al. (2003) Administration of the soluble complement inhibitor, Crry-Ig, reduces inflammation and aquaporin 4 expression in lupus cerebritis. *Biochim Biophys Acta* 1639: 169-176.
105. Sakic B, Maric I, Koeberle PD, Millward JM, Szechtman H, et al. (2000) Increased TUNEL staining in brains of autoimmune Fas-deficient mice. *J Neuroimmunol* 104: 147-154.
106. Zameer A, Hoffman SA (2003) Increased ICAM-1 and VCAM-1 expression in the brains of autoimmune mice. *J Neuroimmunol* 142: 67-74.
107. Zhou G, Fujio K, Sadakata A, Okamoto A, Yu R, et al. (2004) Identification of systemically expanded activated T cell clones in MRL/lpr and NZB/W F1 lupus model mice. *Clin Exp Immunol* 136: 448-455.
108. Alexander JJ, Jacob A, Bao L, Macdonald RL, Quigg RJ (2005) Complement-dependent apoptosis and inflammatory gene changes in murine lupus cerebritis. *J Immunol* 175: 8312-8319.
109. Sakic B, Szechtman H, Denburg JA, Gorny G, Kolb B, et al. (1998) Progressive atrophy of pyramidal neuron dendrites in autoimmune MRL-lpr mice. *J Neuroimmunol* 87: 162-170.
110. Sherman GF, Morrison L, Rosen GD, Behan PO, Galaburda AM (1990) Brain abnormalities in immune defective mice. *Brain Res* 532: 25-33.
111. Adachi M, Watanabe-Fukunaga R, Nagata S (1993) Aberrant transcription caused by the insertion of an early transposable element in an intron of the Fas antigen gene of lpr mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 1756-1760.
112. Nagata N, Taketani S, Nakagawa T, Hosaka N, Hisha H, et al. (1994) Increased cell surface expression of a newly identified heterodimer on activated blastic T cells. *Cell Immunol* 153: 516-526.
113. Ballok DA (2007) Neuroimmunopathology in a murine model of neuropsychiatric lupus. *Brain Res Rev* 54: 67-79.

114. Ballok DA, Millward JM, Sakic B (2003) Neurodegeneration in autoimmune MRL-lpr mice as revealed by Fluoro Jade B staining. *Brain Res* 964: 200-210.
115. Sled JG, Spring S, van Eede M, Lerch JP, Ullal S, et al. (2009) Time course and nature of brain atrophy in the MRL mouse model of central nervous system lupus. *Arthritis Rheum* 60: 1764-1774.
116. Shoenfeld Y, Nahum A, Korczyn AD, Dano M, Rabinowitz R, et al. (2003) Neuronal-binding antibodies from patients with antiphospholipid syndrome induce cognitive deficits following intrathecal passive transfer. *Lupus* 12: 436-442.
117. Rhiannon JJ (2008) Systemic lupus erythematosus involving the nervous system: presentation, pathogenesis, and management. *Clin Rev Allergy Immunol* 34: 356-360.
118. Barile-Fabris L, Ariza-Andraca R, Olguin-Ortega L, Jara LJ, Fraga-Mouret A, et al. (2005) Controlled clinical trial of IV cyclophosphamide versus IV methylprednisolone in severe neurological manifestations in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 64: 620-625.
119. Stojanovich L, Stojanovich R, Kostich V, Dzijolich E (2003) Neuropsychiatric lupus favourable response to low dose i.v. cyclophosphamide and prednisolone (pilot study). *Lupus* 12: 3-7.
120. Bartolucci P, Brechignac S, Cohen P, Le Guern V, Guillevin L (2007) Adjunctive plasma exchanges to treat neuropsychiatric lupus: a retrospective study on 10 patients. *Lupus* 16: 817-822.
121. Milstone AM, Meyers K, Elia J (2005) Treatment of acute neuropsychiatric lupus with intravenous immunoglobulin (IVIG): a case report and review of the literature. *Clin Rheumatol* 24: 394-397.
122. Neuwelt CM (2003) The role of plasmapheresis in the treatment of severe central nervous system neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Ther Apher Dial* 7: 173-182.
123. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, et al. (2007) Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis* 66: 470-475.
124. Narvaez J, Rios-Rodriguez V, de la Fuente D, Estrada P, Lopez-Vives L, et al. (2011) Rituximab Therapy in Refractory Neuropsychiatric Lupus: Current Clinical Evidence. *Semin Arthritis Rheum*.
125. D'Cruz DP, Mellor-Pita S, Joven B, Sanna G, Allanson J, et al. (2004) Transverse myelitis as the first manifestation of systemic lupus erythematosus or lupus-like disease: good functional outcome and relevance of antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 31: 280-285.
126. Ruiz-Irastorza G, Hunt BJ, Khamashta MA (2007) A systematic review of secondary thromboprophylaxis in patients with antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum* 57: 1487-1495.
127. Sanna G, Bertolaccini ML, Khamashta MA (2008) Neuropsychiatric involvement in systemic lupus erythematosus: current therapeutic approach. *Curr Pharm Des* 14: 1261-1269.
128. Gonzalez-Duarte A, Cantu-Brito CG, Ruano-Calderon L, Garcia-Ramos G (2008) Clinical description of seizures in patients with systemic lupus erythematosus. *Eur Neurol* 59: 320-323.

129. Hanly JG, Urowitz MB, Su L, Gordon C, Bae SC, et al. (2012) Seizure disorders in systemic lupus erythematosus results from an international, prospective, inception cohort study. *Ann Rheum Dis* 71: 1502-1509.
130. Costallat LT, Coimbra AM (1994) Systemic lupus erythematosus: clinical and laboratory aspects related to age at disease onset. *Clin Exp Rheumatol* 12: 603-607.
131. Joseph FG, Lammie GA, Scolding NJ (2007) CNS lupus: a study of 41 patients. *Neurology* 69: 644-654.
132. Kovacs B, Lafferty TL, Brent LH, DeHoratius RJ (2000) Transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: an analysis of 14 cases and review of the literature. *Ann Rheum Dis* 59: 120-124.
133. Lu X, Gu Y, Wang Y, Chen S, Ye S (2008) Prognostic factors of lupus myelopathy. *Lupus* 17: 323-328.
134. Mok CC, Lau CS, Chan EY, Wong RW (1998) Acute transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: clinical presentation, treatment, and outcome. *J Rheumatol* 25: 467-473.
135. Suzuki Y (2002) Transverse myelitis in systemic lupus erythematosus. *Intern Med* 41: 327-328.
136. Armstrong DJ, McCarron MT, Wright GD (2006) SLE-associated transverse myelitis successfully treated with Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody). *Rheumatol Int* 26: 771-772.
137. Katsiari CG, Giavri I, Mitsikostas DD, Yiannopoulou KG, Sfikakis PP (2011) Acute transverse myelitis and antiphospholipid antibodies in lupus. No evidence for anticoagulation. *Eur J Neurol* 18: 556-563.
138. Cohen D, Berger SP, Steup-Beekman GM, Bloemenkamp KW, Bajema IM (2010) Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *BMJ* 340: c2541.
139. Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, Denburg J, Hirsh J, et al. (2003) A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med* 349: 1133-1138.
140. Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V, Schinco P, Wisloff F, et al. (2005) A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome (WAPS). *J Thromb Haemost* 3: 848-853.
141. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, et al. (1995) The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *N Engl J Med* 332: 993-997.
142. Chau SY, Mok CC (2003) Factors predictive of corticosteroid psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Neurology* 61: 104-107.
143. Appenzeller S, Cendes F, Costallat LT (2008) Acute psychosis in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 28: 237-243.
144. Pego-Reigosa JM, Isenberg DA (2008) Psychosis due to systemic lupus erythematosus: characteristics and long-term outcome of this rare manifestation of the disease. *Rheumatology (Oxford)* 47: 1498-1502.
145. Mok CC, Lau CS, Wong RW (2003) Treatment of lupus psychosis with oral cyclophosphamide followed by azathioprine maintenance: an open-label study. *Am J Med* 115: 59-62.

146. Bruyn GW, Padberg G (1984) Chorea and systemic lupus erythematosus. A critical review. *Eur Neurol* 23: 278-290.
147. Baizabal-Carvallo JF, Alonso-Juarez M, Koslowski M (2011) Chorea in systemic lupus erythematosus. *J Clin Rheumatol* 17: 69-72.
148. Khamashta MA, Gil A, Anciones B, Lavilla P, Valencia ME, et al. (1988) Chorea in systemic lupus erythematosus: association with antiphospholipid antibodies. *Ann Rheum Dis* 47: 681-683.
149. Orzechowski NM, Wolanskyj AP, Ahlskog JE, Kumar N, Moder KG (2008) Antiphospholipid antibody-associated chorea. *J Rheumatol* 35: 2165-2170.
150. Mitsikostas DD, Sfikakis PP, Goadsby PJ (2004) A meta-analysis for headache in systemic lupus erythematosus: the evidence and the myth. *Brain* 127: 1200-1209.
151. Kozora E, Arciniegas DB, Filley CM, West SG, Brown M, et al. (2008) Cognitive and neurologic status in patients with systemic lupus erythematosus without major neuropsychiatric syndromes. *Arthritis Rheum* 59: 1639-1646.
152. Petri M, Naqibuddin M, Carson KA, Sampedro M, Wallace DJ, et al. (2008) Cognitive function in a systemic lupus erythematosus inception cohort. *J Rheumatol* 35: 1776-1781.
153. Kane RL, Roebuck-Spencer T, Short P, Kabat M, Wilken J (2007) Identifying and monitoring cognitive deficits in clinical populations using Automated Neuropsychological Assessment Metrics (ANAM) tests. *Arch Clin Neuropsychol* 22 Suppl 1: S115-126.
154. Kozora E, West SG, Kotzin BL, Julian L, Porter S, et al. (1998) Magnetic resonance imaging abnormalities and cognitive deficits in systemic lupus erythematosus patients without overt central nervous system disease. *Arthritis Rheum* 41: 41-47.
155. Menon S, Jameson-Shortall E, Newman SP, Hall-Craggs MR, Chinn R, et al. (1999) A longitudinal study of anticardiolipin antibody levels and cognitive functioning in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 42: 735-741.
156. Hay EM, Huddy A, Black D, Mbaya P, Tomenson B, et al. (1994) A prospective study of psychiatric disorder and cognitive function in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 53: 298-303.
157. Petri M, Naqibuddin M, Sampedro M, Omdal R, Carson KA (2011) Memantine in systemic lupus erythematosus: a randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Semin Arthritis Rheum* 41: 194-202.
158. Haupt M, Millen S, Janner M, Falagan D, Fischer-Betz R, et al. (2005) Improvement of coping abilities in patients with systemic lupus erythematosus: a prospective study. *Ann Rheum Dis* 64: 1618-1623.
159. Denburg SD, Carbotte RM, Denburg JA (1994) Corticosteroids and neuropsychological functioning in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 37: 1311-1320.
160. Hanly JG, Cassell K, Fisk JD (1997) Cognitive function in systemic lupus erythematosus: results of a 5-year prospective study. *Arthritis Rheum* 40: 1542-1543.
161. Hughes GR, Cuadrado MJ, Khamashta MA, Sanna G (2001) Headache and memory loss: rapid response to heparin in the antiphospholipid syndrome. *Lupus* 10: 778.
162. Katsumata Y, Harigai M, Kawaguchi Y, Fukasawa C, Soejima M, et al. (2007) Diagnostic reliability of cerebral spinal fluid tests for acute confusional state (delirium) in patients

- with systemic lupus erythematosus: interleukin 6 (IL-6), IL-8, interferon-alpha, IgG index, and Q-albumin. *J Rheumatol* 34: 2010-2017.
163. Omdal R, Loseth S, Torbergesen T, Koldingsnes W, Husby G, et al. (2001) Peripheral neuropathy in systemic lupus erythematosus--a longitudinal study. *Acta Neurol Scand* 103: 386-391.
  164. McCombe PA, McLeod JG, Pollard JD, Guo YP, Ingall TJ (1987) Peripheral sensorimotor and autonomic neuropathy associated with systemic lupus erythematosus. Clinical, pathological and immunological features. *Brain* 110 ( Pt 2): 533-549.
  165. Omdal R, Mellgren SI, Goransson L, Skjesol A, Lindal S, et al. (2002) Small nerve fiber involvement in systemic lupus erythematosus: a controlled study. *Arthritis Rheum* 46: 1228-1232.
  166. Tseng MT, Hsieh SC, Shun CT, Lee KL, Pan CL, et al. (2006) Skin denervation and cutaneous vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Brain* 129: 977-985.
  167. Hughes RA, Wijdicks EF, Barohn R, Benson E, Cornblath DR, et al. (2003) Practice parameter: immunotherapy for Guillain-Barre syndrome: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 61: 736-740.
  168. Giorgi D, Balacco Gabrieli C, Bonomo L (1999) The association of optic neuropathy with transverse myelitis in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 38: 191-192.
  169. Rosenbaum JT, Simpson J, Neuwelt CM (1997) Successful treatment of optic neuropathy in association with systemic lupus erythematosus using intravenous cyclophosphamide. *Br J Ophthalmol* 81: 130-132.
  170. Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR (2005) IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* 202: 473-477.
  171. Devic (1894) Myélite aiguë compliquée de névrite optique. *Bull Med* 8: 1033-1034.
  172. Gault (1894) De la neuromyéélite optique aiguë. Lyon.
  173. Kira J (2003) Multiple sclerosis in the Japanese population. *Lancet Neurol* 2: 117-127.
  174. Misu T, Fujihara K, Nakashima I, Miyazawa I, Okita N, et al. (2002) Pure optic-spinal form of multiple sclerosis in Japan. *Brain* 125: 2460-2468.
  175. Chan AY, Liu DT (2006) Devic's syndrome in systemic lupus erythematosus and probable antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 45: 120-121; author reply 121.
  176. Krishnan AV, Halmagyi GM (2004) Acute transverse myelitis in SLE. *Neurology* 62: 2087-.
  177. Mochizuki A, Hayashi A, Hisahara S, Shoji S (2000) Steroid-responsive Devic's variant in Sjogren's syndrome. *Neurology* 54: 1391-1392.
  178. Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, et al. (2006) Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 63: 390-396.
  179. Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG (1999) The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 53: 1107-1114.
  180. Vernant JC, Cabre P, Smadja D, Merle H, Caubarrere I, et al. (1997) Recurrent optic neuromyelitis with endocrinopathies: a new syndrome. *Neurology* 48: 58-64.
  181. Hummers LK, Krishnan C, Casciola-Rosen L, Rosen A, Morris S, et al. (2004) Recurrent transverse myelitis associates with anti-Ro (SSA) autoantibodies. *Neurology* 62: 147-149.



182. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG (2000) Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343: 938-952.
183. Ojeda E, Diaz-Cortes D, Rosales D, Duarte-Rey C, Anaya JM, et al. (2013) Prevalence and clinical features of multiple sclerosis in Latin America. *Clin Neurol Neurosurg* 115: 381-387.
184. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, et al. (2005) Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol* 58: 840-846.
185. Barkhof F, Filippi M, Miller DH, Scheltens P, Campi A, et al. (1997) Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *Brain* 120 ( Pt 11): 2059-2069.
186. Tintore M, Rovira A, Martinez MJ, Rio J, Diaz-Villoslada P, et al. (2000) Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 21: 702-706.
187. Chiappa KH (1988) Use of evoked potentials for diagnosis of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 6: 861-880.
188. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, et al. (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 47: 707-717.
189. Goverman J (2009) Autoimmune T cell responses in the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 9: 393-407.
190. Lucchinetti CF, Mandler RN, McGavern D, Bruck W, Gleich G, et al. (2002) A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica. *Brain* 125: 1450-1461.
191. Zhou D, Srivastava R, Nessler S, Grummel V, Sommer N, et al. (2006) Identification of a pathogenic antibody response to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 19057-19062.
192. Srivastava R, Aslam M, Kalluri SR, Schirmer L, Buck D, et al. (2012) Potassium channel KIR4.1 as an immune target in multiple sclerosis. *N Engl J Med* 367: 115-123.
193. Waters P, Vincent A (2008) Detection of anti-aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica: current status of the assays. *Int MS J* 15: 99-105.
194. Hinson SR, Pittcock SJ, Lucchinetti CF, Roemer SF, Fryer JP, et al. (2007) Pathogenic potential of IgG binding to water channel extracellular domain in neuromyelitis optica. *Neurology* 69: 2221-2231.
195. Hiroaki Y, Tani K, Kamegawa A, Gyobu N, Nishikawa K, et al. (2006) Implications of the aquaporin-4 structure on array formation and cell adhesion. *J Mol Biol* 355: 628-639.
196. Borgnia M, Nielsen S, Engel A, Agre P (1999) Cellular and molecular biology of the aquaporin water channels. *Annu Rev Biochem* 68: 425-458.
197. Lu M, Lee MD, Smith BL, Jung JS, Agre P, et al. (1996) The human AQP4 gene: definition of the locus encoding two water channel polypeptides in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 10908-10912.
198. Nicchia GP, Mastrototaro M, Rossi A, Pisani F, Tortorella C, et al. (2009) Aquaporin-4 orthogonal arrays of particles are the target for neuromyelitis optica autoantibodies. *Glia* 57: 1363-1373.

199. Marnetto F, Hellias B, Granieri L, Frau J, Patanella AK, et al. (2009) Western blot analysis for the detection of serum antibodies recognizing linear Aquaporin-4 epitopes in patients with Neuromyelitis Optica. *J Neuroimmunol*.
200. Vincent T, Saikali P, Cayrol R, Roth AD, Bar-Or A, et al. (2008) Functional consequences of neuromyelitis optica-IgG astrocyte interactions on blood-brain barrier permeability and granulocyte recruitment. *J Immunol* 181: 5730-5737.
201. Hinson SR, McKeon A, Lennon VA (2009) Neurological autoimmunity targeting aquaporin-4. *Neuroscience*.
202. Mandler RN, Ahmed W, Dencoff JE (1998) Devic's neuromyelitis optica: a prospective study of seven patients treated with prednisone and azathioprine. *Neurology* 51: 1219-1220.
203. Bradl M, Misu T, Takahashi T, Watanabe M, Mader S, et al. (2009) Neuromyelitis optica: pathogenicity of patient immunoglobulin in vivo. *Ann Neurol* 66: 630-643.
204. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, et al. (2009) Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 386: 623-627.
205. Saadoun S, Waters P, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, et al. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* 133: 349-361.
206. Tani T, Sakimura K, Tsujita M, Nakada T, Tanaka M, et al. (2009) Identification of binding sites for anti-aquaporin 4 antibodies in patients with neuromyelitis optica. *J Neuroimmunol* 211: 110-113.
207. Iorio R, Fryer JP, Hinson SR, Fallier-Becker P, Wolburg H, et al. (2013) Astrocytic autoantibody of neuromyelitis optica (NMO-IgG) binds to aquaporin-4 extracellular loops, monomers, tetramers and high order arrays. *J Autoimmun* 40: 21-27.
208. Pisani F, Mastrototaro M, Rossi A, Nicchia GP, Tortorella C, et al. (2011) Identification of two major conformational aquaporin-4 epitopes for neuromyelitis optica autoantibody binding. *J Biol Chem* 286: 9216-9224.
209. Papeix C, Vidal JS, de Seze J, Pierrot-Deseilligny C, Tourbah A, et al. (2007) Immunosuppressive therapy is more effective than interferon in neuromyelitis optica. *Mult Scler* 13: 256-259.
210. Wingerchuk DM, Weinshenker BG (2005) Neuromyelitis Optica. *Curr Treat Options Neurol* 7: 173-182.
211. Watanabe S, Nakashima I, Misu T, Miyazawa I, Shiga Y, et al. (2007) Therapeutic efficacy of plasma exchange in NMO-IgG-positive patients with neuromyelitis optica. *Mult Scler* 13: 128-132.
212. Bakker J, Metz L (2004) Devic's neuromyelitis optica treated with intravenous gamma globulin (IVIg). *Can J Neurol Sci* 31: 265-267.
213. Cree BA, Lamb S, Morgan K, Chen A, Waubant E, et al. (2005) An open label study of the effects of rituximab in neuromyelitis optica. *Neurology* 64: 1270-1272.
214. Weinstock-Guttman B, Ramanathan M, Lincoff N, Napoli SQ, Sharma J, et al. (2006) Study of mitoxantrone for the treatment of recurrent neuromyelitis optica (Devic disease). *Arch Neurol* 63: 957-963.

215. Tektonidou MG, Varsou N, Kotoulas G, Antoniou A, Moutsopoulos HM (2006) Cognitive deficits in patients with antiphospholipid syndrome: association with clinical, laboratory, and brain magnetic resonance imaging findings. *Arch Intern Med* 166: 2278-2284.
216. Carlomagno S, Migliaresi S, Ambrosone L, Sannino M, Sanges G, et al. (2000) Cognitive impairment in systemic lupus erythematosus: a follow-up study. *J Neurol* 247: 273-279.
217. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12: 189-198.
218. Mosca M, Bencivelli W, Vitali C, Carrai P, Neri R, et al. (2000) The validity of the ECLAM index for the retrospective evaluation of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 9: 445-450.
219. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, et al. (2005) Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 353: 2550-2558.
220. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, et al. (1996) The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39: 363-369.
221. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, et al. (2004) The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15: 241-250.
222. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, et al. (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 4: 295-306.
223. Miyachi K, Tan EM (1979) Antibodies reacting with ribosomal ribonucleoprotein in connective tissue diseases. *Arthritis Rheum* 22: 87-93.
224. Hochberg MC (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40: 1725.
225. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, et al. (2002) Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 61: 554-558.
226. Karassa FB, Ioannidis JP, Touloumi G, Boki KA, Moutsopoulos HM (2000) Risk factors for central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. *QJM* 93: 169-174.
227. Valentinov Monov S, Valentinova Monova D (2007) Neuropsychiatric lupus in patients with lupus glomerulonephritis. *Med Pregl* 60 Suppl 2: 70-73.
228. Routsias JG, Vlachoyiannopoulos PG, Tzioufas AG (2006) Autoantibodies to intracellular autoantigens and their B-cell epitopes: molecular probes to study the autoimmune response. *Crit Rev Clin Lab Sci* 43: 203-248.
229. Halimi H, Dumortier H, Briand JP, Muller S (1996) Comparison of two different methods using overlapping synthetic peptides for localizing linear B cell epitopes in the U1 snRNP-C autoantigen. *J Immunol Methods* 199: 77-85.
230. James JA, Harley JB (1992) Linear epitope mapping of an Sm B/B' polypeptide. *J Immunol* 148: 2074-2079.

231. Routsias JG, Tzioufas AG, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, Moutsopoulos HM (1996) Epitope mapping of the Ro/SSA60KD autoantigen reveals disease-specific antibody-binding profiles. *Eur J Clin Invest* 26: 514-521.
232. Tzioufas AG, Yiannaki E, Sakarellos-Daitsiotis M, Routsias JG, Sakarellos C, et al. (1997) Fine specificity of autoantibodies to La/SSB: epitope mapping, and characterization. *Clin Exp Immunol* 108: 191-198.
233. Lundberg K, Kinloch A, Fisher BA, Wegner N, Wait R, et al. (2008) Antibodies to citrullinated alpha-enolase peptide 1 are specific for rheumatoid arthritis and cross-react with bacterial enolase. *Arthritis Rheum* 58: 3009-3019.
234. Al-Bukhari TA, Radford PM, Bouras G, Davenport C, Trigwell SM, et al. (2002) Distinct antigenic features of linear epitopes at the N-terminus and C-terminus of 65 kDa glutamic acid decarboxylase (GAD65): implications for autoantigen modification during pathogenesis. *Clin Exp Immunol* 130: 131-139.
235. Matiello M S-KJ, Hebrink D, Kingsbury D, Lennon V, Weinschenker B (2009) Genetic analysis of Neuromyelitis optica : two different Arg19 mutations in the N-terminus of AQP4 suggest a molecular mechanism for susceptibility to NMO. *Multiple Sclerosis* 15: P262.
236. Saini H, Fernandez G, Kerr D, Levy M Differential expression of aquaporin-4 isoforms localizes with neuromyelitis optica disease activity. *J Neuroimmunol* 221: 68-72.
237. Alarcon-Segovia D, Llorente L, Ruiz-Arguelles A (1996) The penetration of autoantibodies into cells may induce tolerance to self by apoptosis of autoreactive lymphocytes and cause autoimmune disease by dysregulation and/or cell damage. *J Autoimmun* 9: 295-300.
238. Deng SX, Hanson E, Sanz I (2000) In vivo cell penetration and intracellular transport of anti-Sm and anti-La autoantibodies. *Int Immunol* 12: 415-423.
239. Ehrenstein MR, Katz DR, Griffiths MH, Papadaki L, Winkler TH, et al. (1995) Human IgG anti-DNA antibodies deposit in kidneys and induce proteinuria in SCID mice. *Kidney Int* 48: 705-711.
240. Hormigo A, Lieberman F (1994) Nuclear localization of anti-Hu antibody is not associated with in vitro cytotoxicity. *J Neuroimmunol* 55: 205-212.
241. Lisi S, Sisto M, Soleti R, Saponaro C, Scagliusi P, et al. (2007) Fcγ receptors mediate internalization of anti-Ro and anti-La autoantibodies from Sjogren's syndrome and apoptosis in human salivary gland cell line A-253. *J Oral Pathol Med* 36: 511-523.
242. Ruiz-Arguelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Alarcon-Segovia D (2003) Antibody penetration into living cells: pathogenic, preventive and immuno-therapeutic implications. *Curr Pharm Des* 9: 1881-1887.
243. Kalluri SR, Rothhammer V, Staszewski O, Srivastava R, Petermann F, et al. (2011) Functional characterization of aquaporin-4 specific T cells: towards a model for neuromyelitis optica. *PLoS One* 6: e16083.
244. Nelson P KM, Spencer C, Varrin-Doyer M, Patarroyo Juan C, Prodhomme T, Sobel R, Stroud R, Zamvil S (2010) Immunodominant T cell determinants of the autoantigen, aquaporin-4. 10th Course of the European School of Neuroimmunology: *Journal of Neuroimmunology*. pp. 1-219.

245. Kampylafka EI, Routsias JG, Alexopoulos H, Dalakas MC, Moutsopoulos HM, et al. (2011) Fine specificity of antibodies against AQP4: epitope mapping reveals intracellular epitopes. *J Autoimmun* 36: 221-227.
246. Gachon F, Peleraux A, Thebault S, Dick J, Lemasson I, et al. (1998) CREB-2, a cellular CRE-dependent transcription repressor, functions in association with Tax as an activator of the human T-cell leukemia virus type 1 promoter. *J Virol* 72: 8332-8337.
247. Jin DY, Teramoto H, Giam CZ, Chun RF, Gutkind JS, et al. (1997) A human suppressor of c-Jun N-terminal kinase 1 activation by tumor necrosis factor alpha. *J Biol Chem* 272: 25816-25823.
248. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, et al. (1986) HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* 1: 1031-1032.
249. Apiwattanakul M, Asawavichienjinda T, Pulkes T, Tantirittisak T, Hemachudha T, et al. (2012) Diagnostic utility of NMO/AQP4-IgG in evaluating CNS inflammatory disease in Thai patients. *J Neurol Sci* 320: 118-120.
250. Bruck W, Popescu B, Lucchinetti CF, Markovic-Plese S, Gold R, et al. (2012) Neuromyelitis optica lesions may inform multiple sclerosis heterogeneity debate. *Ann Neurol* 72: 385-394.
251. Matsuoka T, Suzuki SO, Suenaga T, Iwaki T, Kira J (2011) Reappraisal of aquaporin-4 astrocytopathy in Asian neuromyelitis optica and multiple sclerosis patients. *Brain Pathol* 21: 516-532.
252. Kira J (2011) Autoimmunity in neuromyelitis optica and opticospinal multiple sclerosis: astrocytopathy as a common denominator in demyelinating disorders. *J Neurol Sci* 311: 69-77.