**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα αυτοάνοσα νευρολογικά νοσήματα είναι σπάνια νοσήματα με μεγάλη ετερογένεια στον κλινικό φαινότυπο των ασθενών. Η χρήση ειδικών βιοδεικτών είναι σημαντικό εργαλείο στην διάγνωση των ασθενειών αυτών. Από τις πιο καλά μελετημένες αυτοάνοσες διαταραχές είναι αυτές που επάγωνται από αυτοαντισώματα. Τα αυτοαντισώματα έχουν παθογόνο ρόλο κυρίως όταν στοχεύουν σε αντιγόνα της κυτταρικής μεμβράνης, όπως είναι ο νικοτινικός υποδοχέας της ακετυλοχολίνης (nAChR) και η MOG γλυκοπρωτεΐνη. Η παρούσα μελέτη στοχεύει στην ανάπτυξη και χρήση βελτιωμένων τεχνικών ανίχνευσης δυνητικά παθογόνων αντισωμάτων έναντι του α3 και α4 νευρωνικού nAChR και της MOG γλυκοπρωτεΐνης, ειδικών για αυτοάνοσες νευρολογικές νόσους όπως η αυτοάνοση αυτόνομη γαγγλιονοπάθεια (AAG), η αυτοάνοση εγκεφαλίτιδα (AES) και η νόσος με αντισώματα έναντι της γλυκοπρωτεΐνης της μυελίνης των ολιγοδενδροκυττάρων (MOGAD). Οι νευρωνικοί nAChRs διακρίνονται σε πολλούς υπότυπους και εμπλέκονται σε πολλές λειτουργίες όπως η μνήμη, η μάθηση, ο έλεγχος της κίνησης και η αναλγησία. Η απώλεια ή δυσλειτουργία τους σχετίζεται με πολλές νευρολογικές και νευροψυχιατρικές ασθένειες. Τα αντισώματα έναντι των α3-nAChRs, μπορεί να έχουν παθογόνες ιδιότητες με αποτέλεσμα την αλλοίωση της συναπτικής μετάδοσης στο συμπαθητικό, το παρασυμπαθητικό και τα εντερικά γάγγλια. Τέτοια αντισώματα έχουν βρεθεί σε ασθενείς με AAG, ωστόσο χαμηλά επίπεδα αντισωμάτων έναντι των α3-nAChRs, ανιχνεύονται τόσο στην AAG όσο και σε διάφορα νευρολογικά νοσήματα με άγνωστες κλινικές και θεραπευτικές επιπτώσεις. Η χρήση της δοκιμασίας ραδιοανοσοκαθίζησης (RIPA), είναι η μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως για την ανοσολογική διάγνωση της AAG, ωστόσο η ειδικότητά της είναι περιορισμένη καθώς το 50% περίπου των ασθενών με χαμηλά επίπεδα α3- nAChR αντισωμάτων παρουσιάζουν μια ποικιλία διαταραχών εκτός της AAG. Για τον λόγο αυτό αναπτύξαμε δοκιμασία κυτταρικού ανοσοφθορισμού (CBA) με την οποία ανιχνεύονται ειδικά μόνο τα δυνητικά παθογόνα αντισώματα για την AAG. Η χρήση μοριακών συνοδών NACHO και RIC3, η αφαίρεση αλληλουχιών-ετικέτα από τους υποδοχείς (myc flag και GFP) καθώς και η προσθήκη νικοτίνης, βοήθησαν στην αύξηση της έκφρασης του α3-nAChR με αποτέλεσμα το CBA που αναπτύξαμε να ανιχνεύει τα αντισώματα έναντι των εκτεθειμένων στην επιφάνεια των κυττάρων επίτοπων με μεγάλη ευαισθησία. Μελετήσαμε ορούς 55 ασθενών από την Ελλάδα, «ύποπτους» για βλάβη στο αυτόνομο σύστημα και 13 ασθενείς από την Ιταλία, διαγνωσμένοι με αυτόνομη ανεπάρκεια και θετικοί για αντι-α3 nAChR αντισώματα με την RIPA. Επίσης ελέγχθηκαν οροί από 52 ασθενείς με αντι-VGCC ή αντι-Hu αντισώματα και 2628 ως μάρτυρες με διάφορες νευροάνοσες ασθένειες. Από τους 25 θετικούς ασθενείς για αντι-α3 nAChR αντισώματα με την RIPA, οι 15 βρέθηκαν θετικοί με το CBA που αναπτύξαμε και επιβεβαιώνονται και κλινικά ότι ανήκουν στην AAG, ενώ οι υπόλοιποι είχαν άλλες νευρολογικές ασθένειες. Επιπλέον, αντισώματα έναντι του α4β2-nAChR, είναι υποψήφια αυτοαντιγόνα στο σύνδρομο αυτοάνοσης εγκεφαλοπάθειας (AES), ένα φάσμα νευρολογικών ασθενειών που χαρακτηρίζεται από ταχεία έναρξη με ψυχικές διαταραχές, διαταραχές μνήμης και επιληπτικές κρίσεις. Βασιζόμενοι στο α3β2-nAChR CBA, βελτιώσαμε την μέθοδο ανίχνευσης των δυνητικά παθογόνων αντισωμάτων του α4β2-nAChR, για την ταυτοποίηση αυτοαντισωμάτων σε «ορφανές» περιπτώσεις AES. Ελέγξαμε 1752 ορούς ασθενών από την Ελλάδα, την Τουρκία και την Ιταλία που ζήτησαν έλεγχο για AES και 1203 ορούς ασθενών «ελέγχου» με άλλες νευροψυχιατρικές ασθένειες. 3 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί για αντισώματα έναντι του α4β2-nAChR. Τα ειδικά κλινικά χαρακτηριστικά των 3 θετικών ασθενών συμπίπτει με το φάσμα της AES.

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης αυτής, ασχοληθήκαμε με την μελέτη ανίχνευσης των αντισωμάτων κατά της MOG σε ασθενείς με απομυελινωτικά νοσήματα του κεντρικού νευρικού συστήματος, με στόχο την βελτίωση της τεχνικής ανίχνευσης τους και την εντόπιση τους μόνο σε ασθενείς που ανήκουν στην MOGAD. Η MOGAD είναι μια φλεγμονώδη απομυελινωτική νόσος στην οποία ο έλεγχος των αντι-MOG αντισωμάτων είναι ένα σημαντικό εργαλείο στην εργαστηριακή διάγνωση της. Ωστόσο, επειδή αντι-MOG αντισώματα ανιχνεύονται και σε άλλες απομυελινωτικές νόσους, είναι σημαντική η ύπαρξη ενός πολύ ειδικού και ευαίσθητου CBA για την αποφυγή ψευδώς θετικών ή αρνητικών αποτελεσμάτων. Διερευνώντας το κλινικό και ακτινολογικό φάσμα 21 ασθενών θετικών για IgG1 αντι-MOG, που εντοπίστηκαν σε μία ελληνική ομάδα 426 ασθενών, «ύποπτοι» για MOGAD, και συγκρίνοντας τα τρία πιο κοινά χρησιμοποιούμενα CBA για την ανίχνευση των αντι-MOG (live IgG-CBA, live IgG1-CBA και εμπορικό CBA), καταλήξαμε ότι το live IgG1-CBA υπερισχύει σε ειδικότητα έναντι των άλλων. Οι 21 MOG-θετικοί ασθενείς με το live IgG1-CBA χαρακτηρίστηκαν σε βάθος και είχαν τα κλινικά και ακτινολογικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με MOGAD.