



THE CYPRUS INSTITUTE OF
NEUROLOGY & GENETICS

Επιδράσεις πρωτεϊνών και αντισωμάτων
του ανοσοποιητικού συστήματος στην
παθοφυσιολογία της Πολλαπλής
Σκλήρυνσης.

Άννα Παφίτη

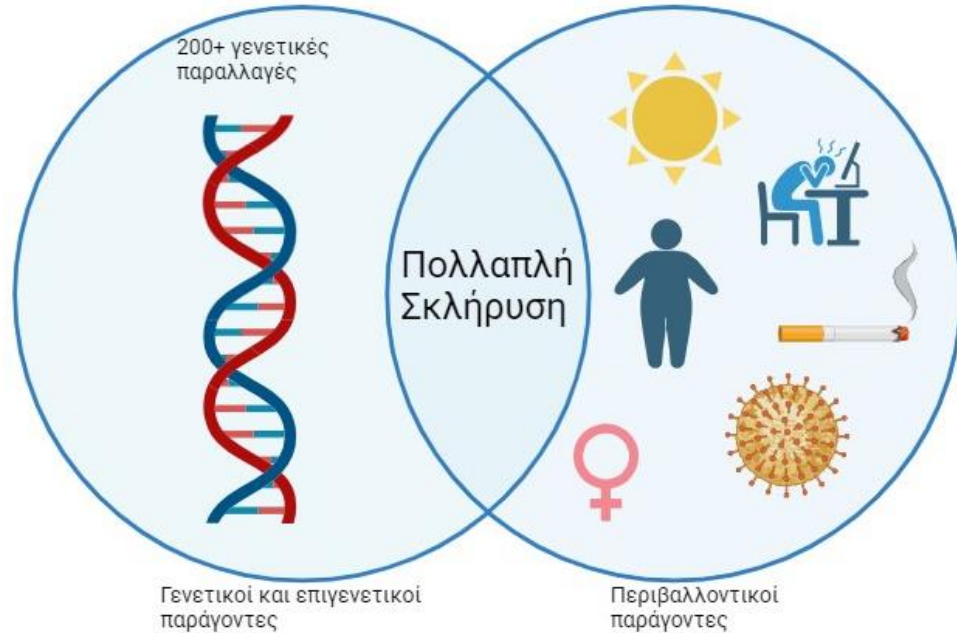
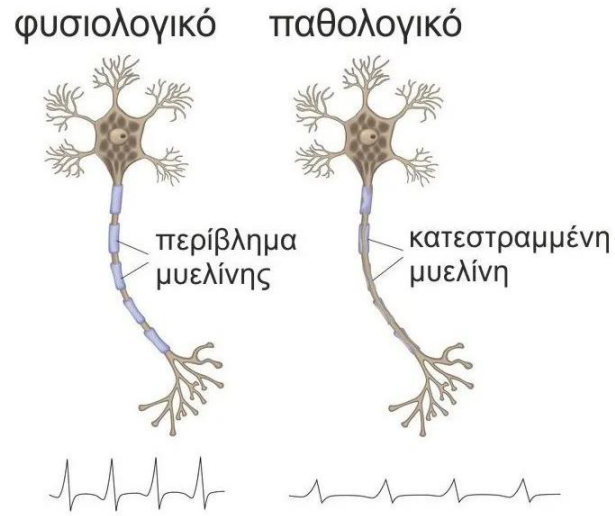
Υποψήφια Διδάκτωρ Μοριακής Ιατρικής

Τμήμα Νευροανοσολογίας

Περιεχόμενο

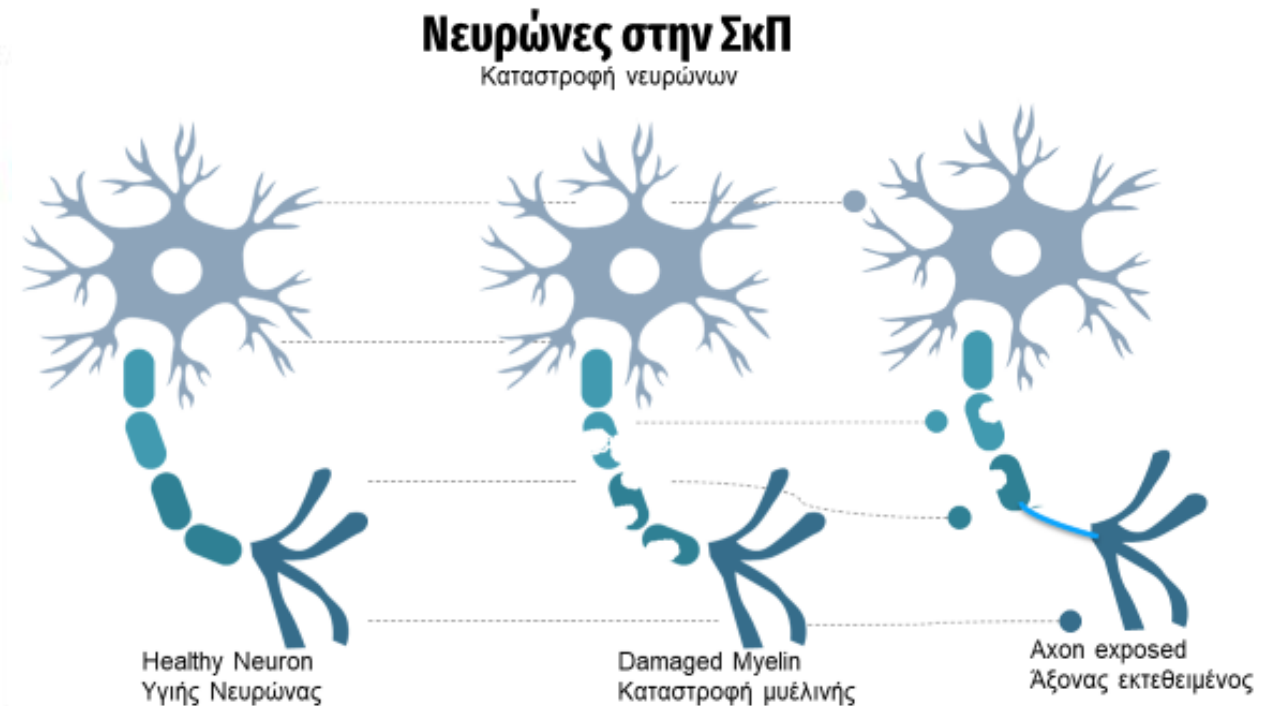
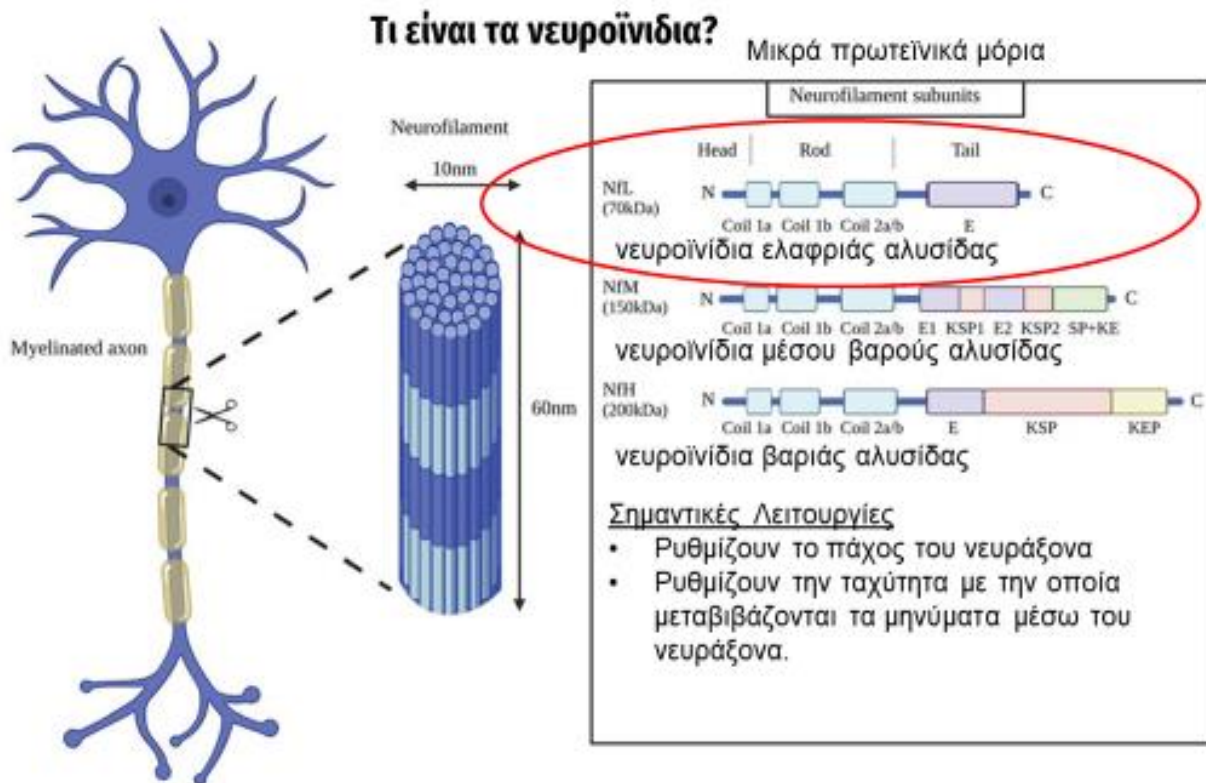
- Βιοδείκτες στην Πολλαπλής Σκλήρυνσης: Νευροϊνίδια Ελαφράς Αλυσίδας.
- Σύστημα συμπληρώματος
- Σύστημα πήξης αίματος
- Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος

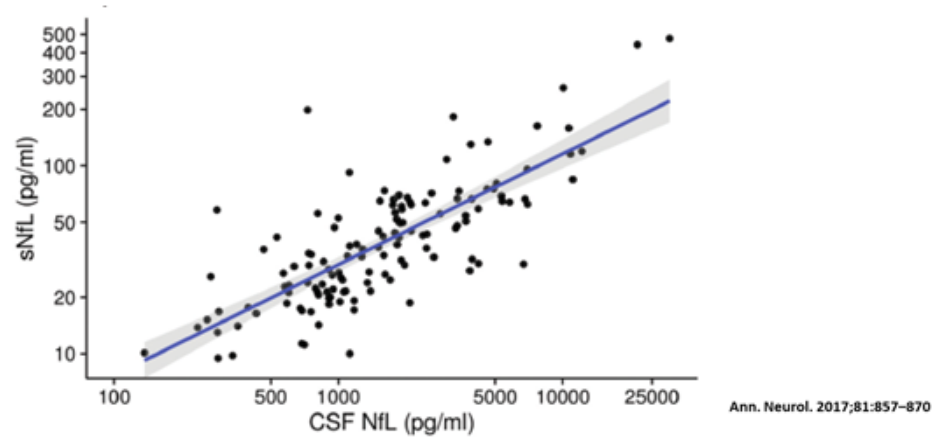
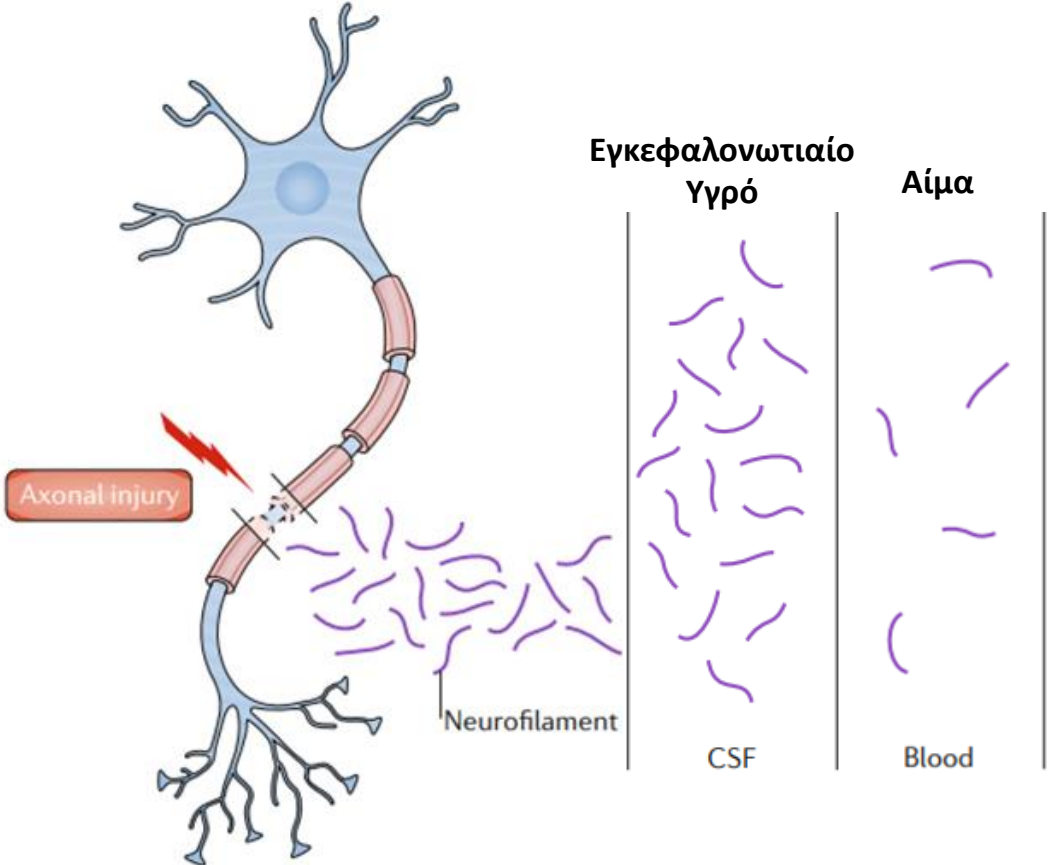
Πολλαπλή Σκλήρυνση



Βιοδείκτες στη Σκλήρυνση Κατά Πλάκας: Νευροϊνίδια Ελαφράς Αλυσίδας.

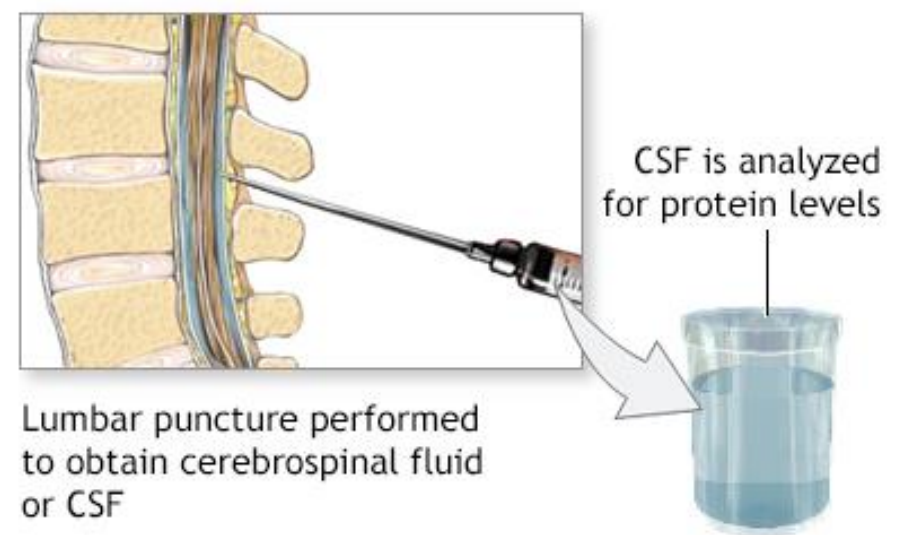
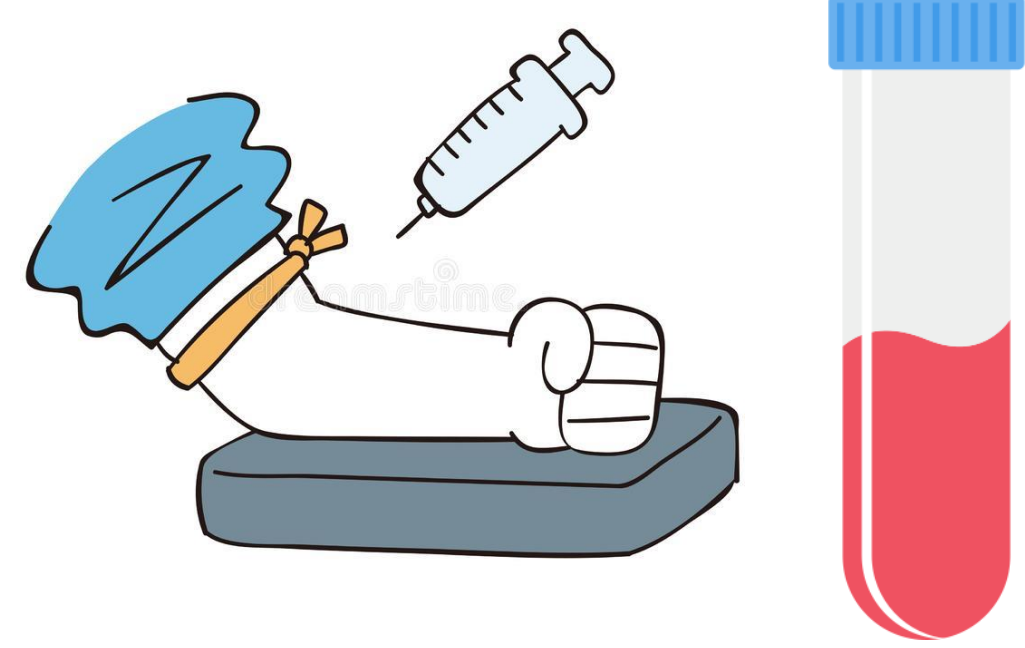
- Οι βιοδείκτες λειτουργούν ως μια **αντικειμενική μέτρηση** που μπορεί να αποτυπώσει, οποτεδήποτε, τι συμβαίνει μέσα σε ένα οργανισμό. Μπορούν να λειτουργήσουν ως **πρώιμες προειδοποιήσεις για νόσο**.





CSF, cerebrospinal fluid; NfL, neurofilament light chain; sNfL, serum neurofilament light chain; Gray band: 95% confidence interval.

Ann. Neurol. 2017;81:857-870



Lumbar puncture performed to obtain cerebrospinal fluid or CSF

Οσφυονωτιαία παρακέντηση

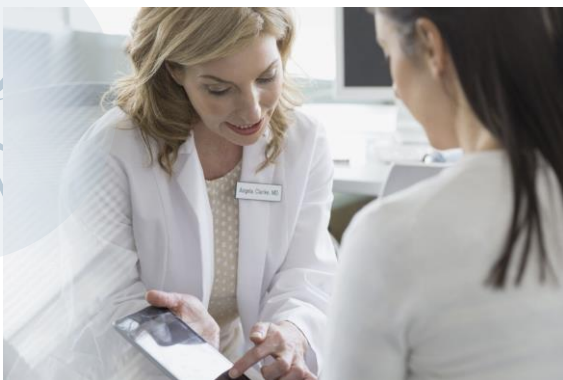
Νευροϊνίδια, γιατί είναι σημαντικά?

Αποτελεσματικότητα θεραπείας



Τα περισσότερα από τα νεότερα φάρμακα που χρησιμοποιούμε σήμερα στη θεραπεία της Πολλαπλής Σκλήρυνσης μειώνουν τα επίπεδα των αυξημένων νευροϊνιδίων στο αίμα σε σημαντικό βαθμό.

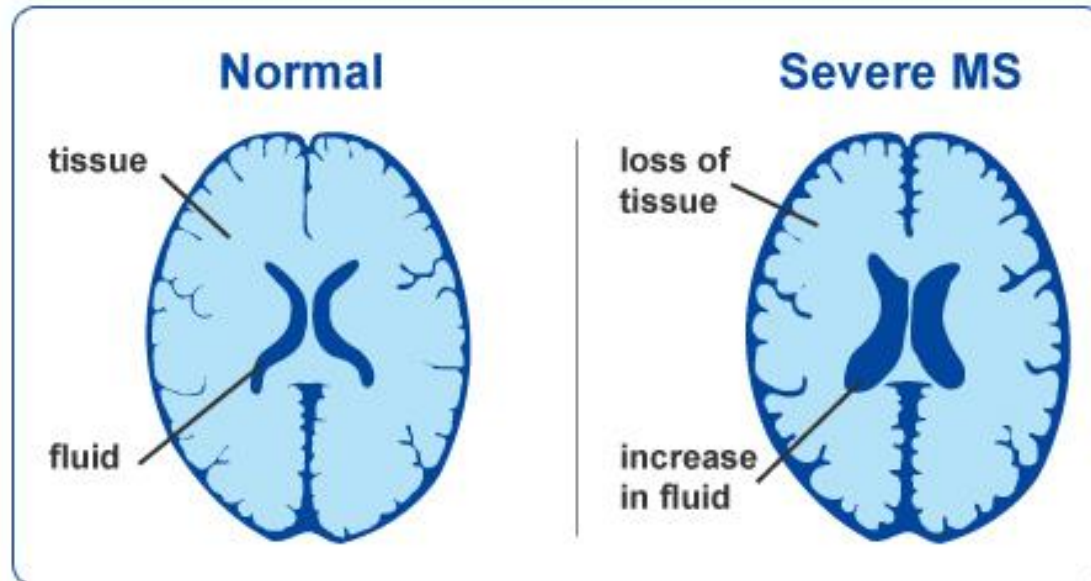
Διάγνωση



Τα νευροϊνίδια είναι αυξημένα στο αίμα των ασθενών με Πολλαπλή Σκλήρυνση σε σχέση με αντίστοιχα υγιή άτομα.

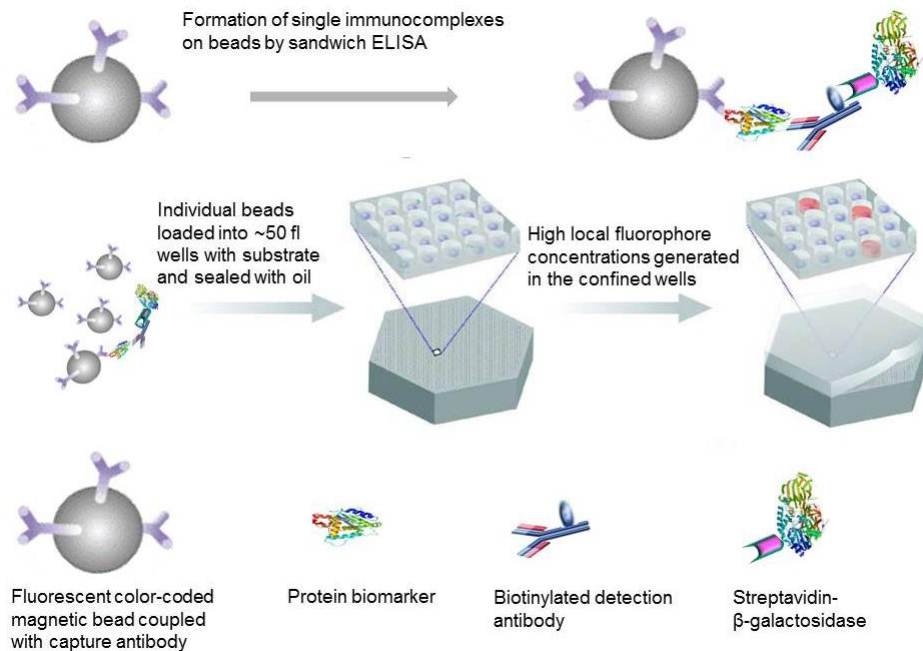
Δραστηριότητα ασθένειας

Χαμηλή συγκέντρωση συσχετίζεται με μειωμένη δραστηριότητα της νόσου στη Μαγνητική Τομογραφία, όπως επίσης και με τη μείωση των υποτροπών και της προόδου της αναπηρίας των ασθενών. Οι ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα νευροϊνιδίων στο αίμα στη διάγνωση έχουν και τις μεγαλύτερες πιθανότητες η νόσος να προχωρήσει γρηγορότερα.

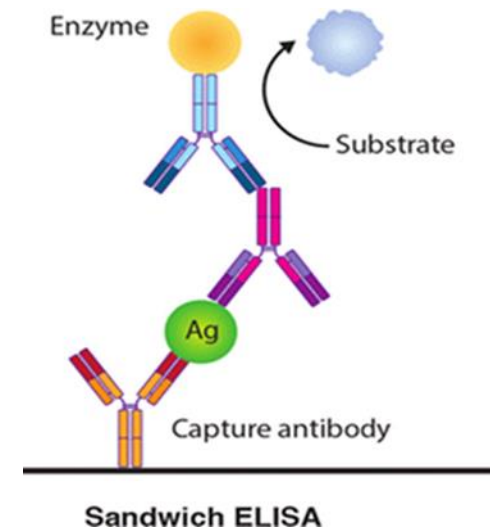


Είναι σημαντικό για τους βιοδείκτες να έχουν έναν εφικτό και αξιόπιστο τρόπο ποσοτικοποίησης που δεν ποικίλλει από εργαστήριο σε εργαστήριο.

SIMOA advanced Technology



ELISA (Ανοσοενζυματική μέθοδος)



Article

A Comparison of Two Analytical Approaches for the Quantification of Neurofilament Light Chain, a Biomarker of Axonal Damage in Multiple Sclerosis

Anna Pafiti ^{1,2}, George Krashias ^{1,3}, John Tzartos ^{4,5}, Socrates Tzartos ⁵, Christos Stergiou ⁵, Eftychia Gaglia ⁶, Irene Smoleski ⁶, Christina Christodoulou ^{1,3}, Marios Pantzaris ^{1,2} and Anastasia Lambrianides ^{1,2,*}

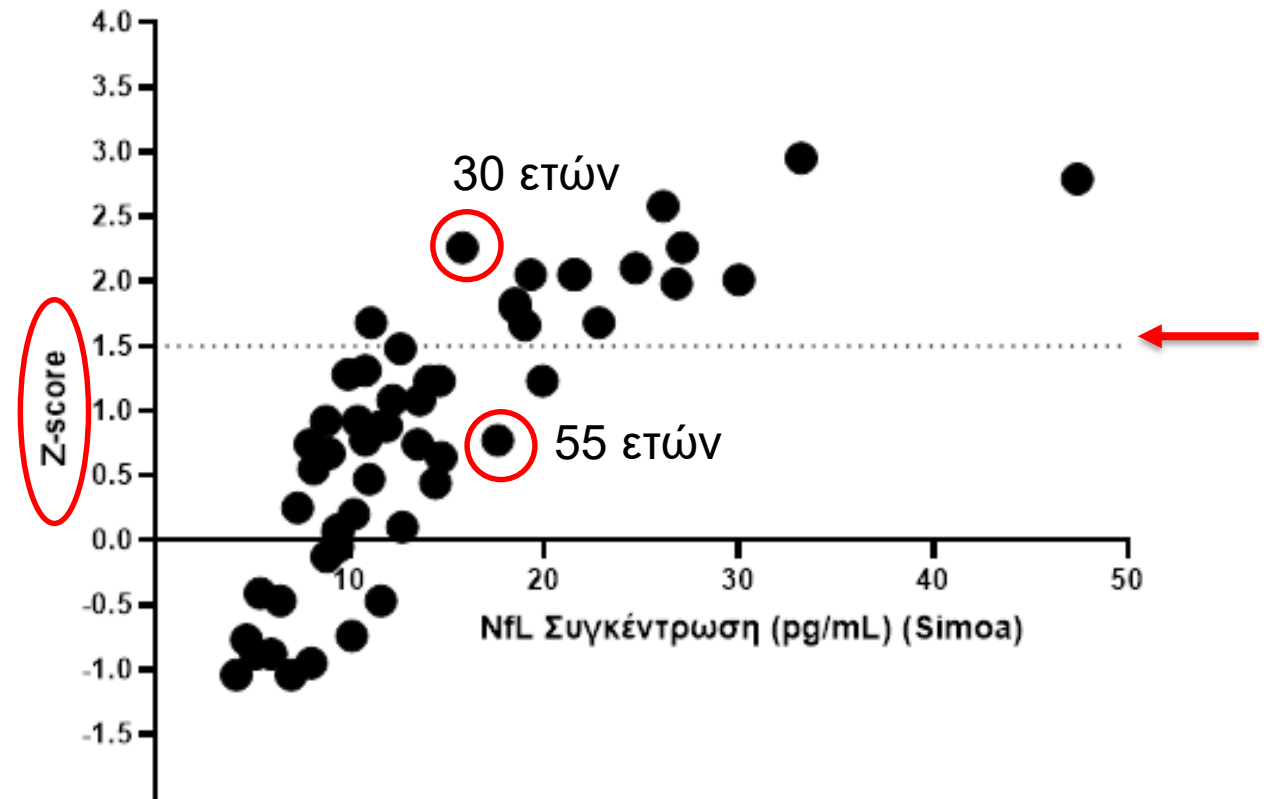
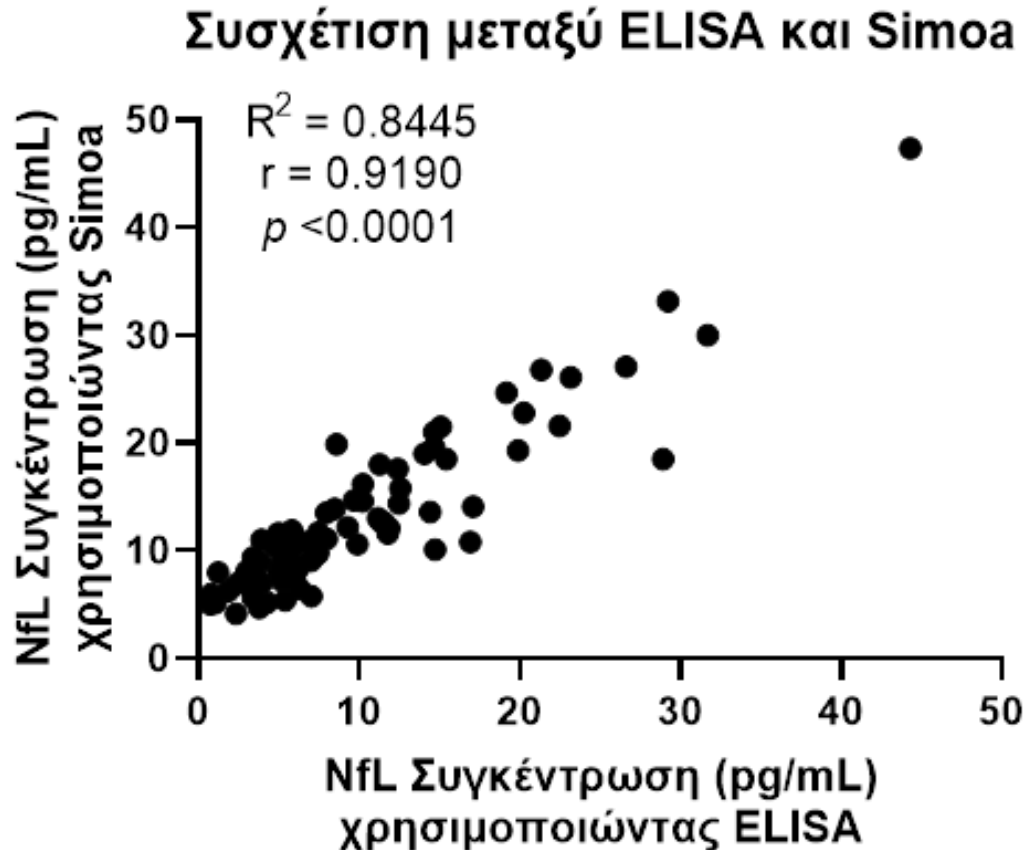
- ¹ Postgraduate School, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia 2371, Cyprus; pafitia@cing.ac.cy (A.P.); georgek@cing.ac.cy (G.K.); cchristo@cing.ac.cy (C.C.); pantzar@cing.ac.cy (M.P.)
² Neuroimmunology Department, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia 2371, Cyprus
³ Department of Molecular Virology, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia 2371, Cyprus
⁴ B' Neurology Department, School of Medicine, National and Kapodistrian University of Athens, "Attikon" University Hospital, 10676 Athens, Greece; jtzartos@gmail.com
⁵ Tzartos NeuroDiagnostics, 3, Eslin Street, 11523 Athens, Greece; stzartos@gmail.com (S.T.); cstergiou@neurodiagnostics.gr (C.S.)
⁶ Clinical Sciences, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia 2371, Cyprus; eftychia@cing.ac.cy (E.G.); irenesm@cing.ac.cy (I.S.)
 * Correspondence: nancy1@cing.ac.cy; Tel.: +357-2239-2885

Δείκτης Μάζας Σώματος

$$B.M.I = \frac{\text{βάρος}}{\text{ύψος}^2}$$



Z-scores των ασθενών με Σκλήρυνση Κατά Πλάκας



Εικόνα 1: Συσχέτιση μεταξύ ELISA και Simoa. (NfL; νευροϊνίδια ελαφράς αλυσίδας)

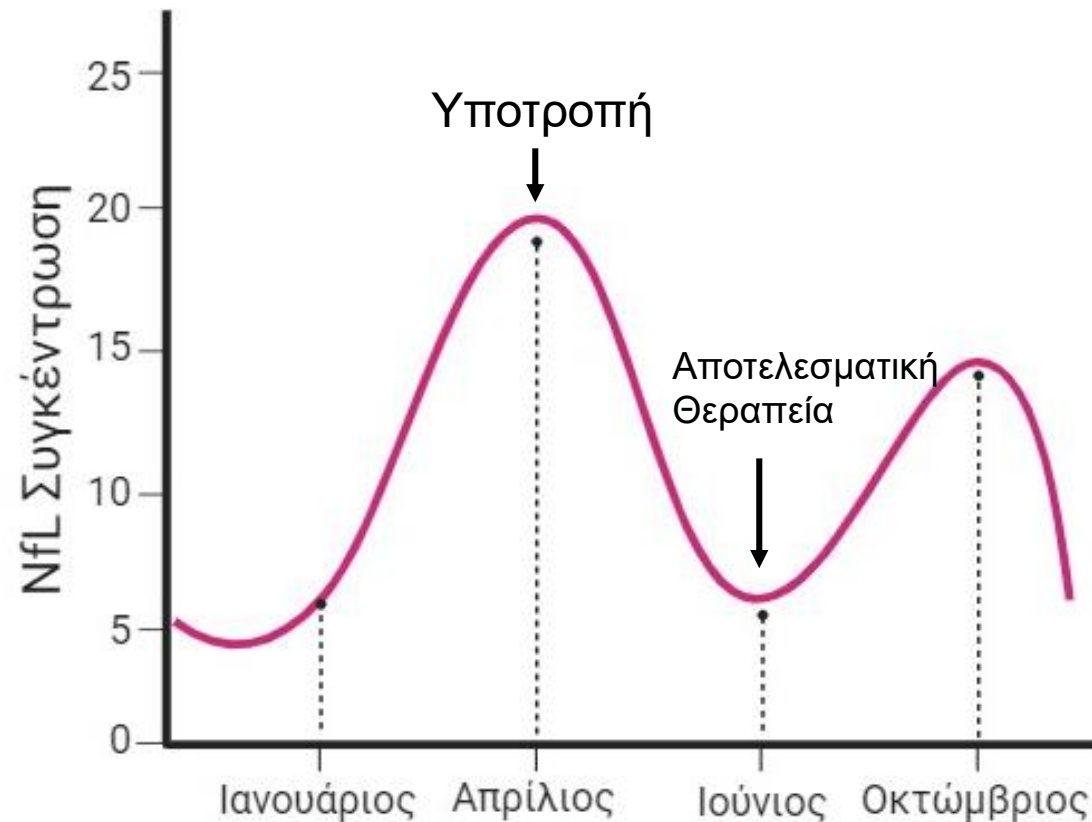
Εικόνα 2: Z-scores σε σύγκριση με συγκεντρώσεις νευροϊνιδίων σε άτομα με Σκλήρυνση Κατά Πλάκας. (NfL; νευροϊνίδια ελαφράς αλυσίδας)

Νευροϊνίδια, γιατί είναι σημαντικά?

Τα νευροϊνίδια μπορούν να προβλέψουν νέα υποτροπή και νέες πλάκες απομυελίνωσης πριν ακόμη εμφανιστούν στο MRI.

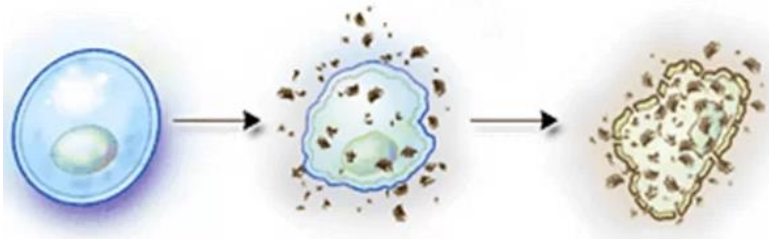


Επομένως, τα νευροϊνίδια πρέπει να αποτελούν μέρος του κλινικού ελέγχου του ασθενούς, μαζί με τις υπόλοιπες αιματολογικές εξετάσεις.

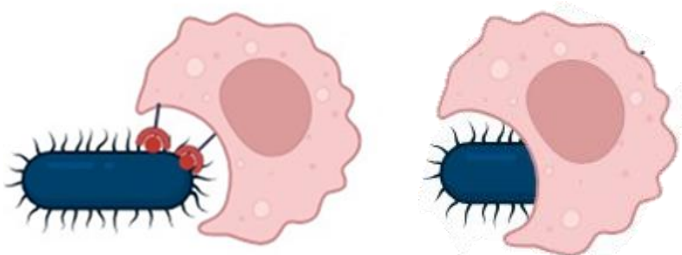


Σύστημα συμπληρώματος

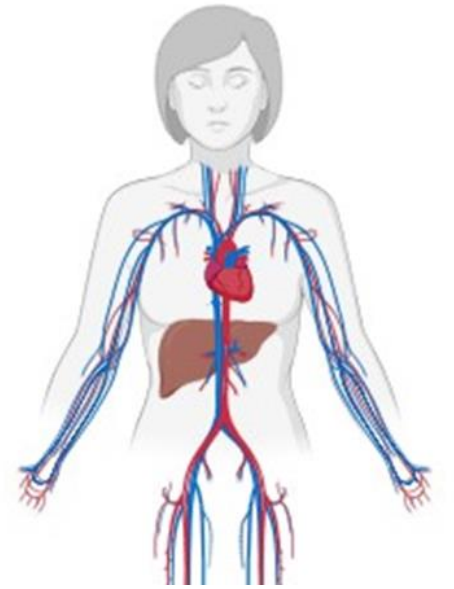
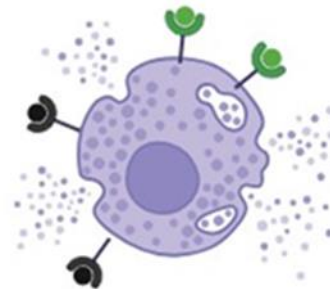
- Σύστημα πρωτεϊνών που σχετίζεται με την ανοσία και την άμυνα του οργανισμού.
 - C1, C2, C3, C4, C5.....
- Υπάρχουν στον ορό του αίματος ως ανενεργά προέζυμα, μέχρι να ενεργοποιηθούν.
 - Τα ξένα κύτταρα (βακτήρια) έχουν στην επιφάνειά τους μόρια που ενεργοποιούν το σύστημα συμπληρώματος.
- Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος οδηγεί σε:
 - **Άμεση καταστροφή κυττάρων**



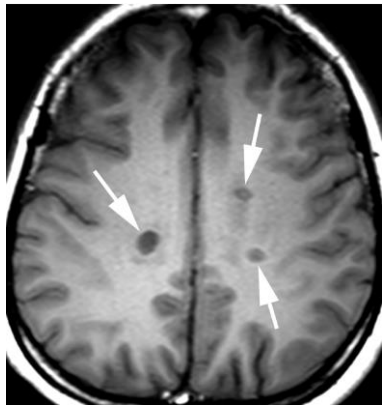
- **Οψωνισμός και φαγοκυττάρωση**



- **Ενεργοποίηση φλεγμονής**



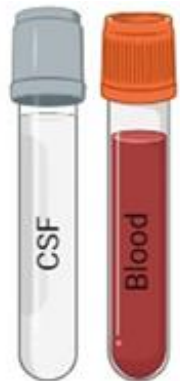
Σύστημα συμπληρώματος και Πολλαπλή Σκλήρυνση



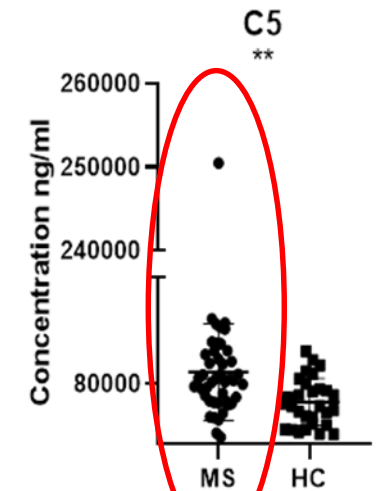
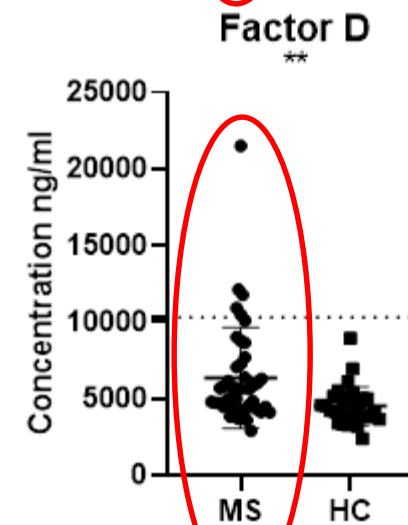
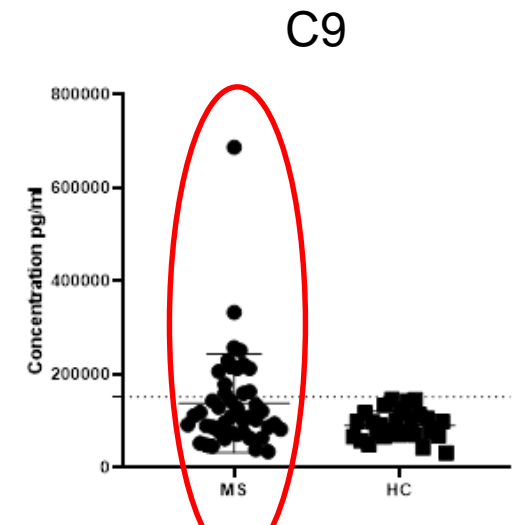
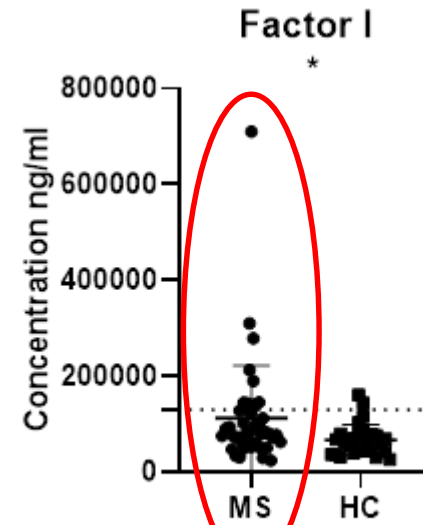
Καταθέσεις πρωτεϊνών συμπληρώματος σε και γύρω από τις απομυελινωτικές πλάκες.



Σε μοντέλα ποντικών της ΠΣ έχει διαπιστωθεί ότι η εξάντληση ή η αναστολή των πρωτεϊνών του συμπληρώματος βελτιώνει τα συμπτώματα.



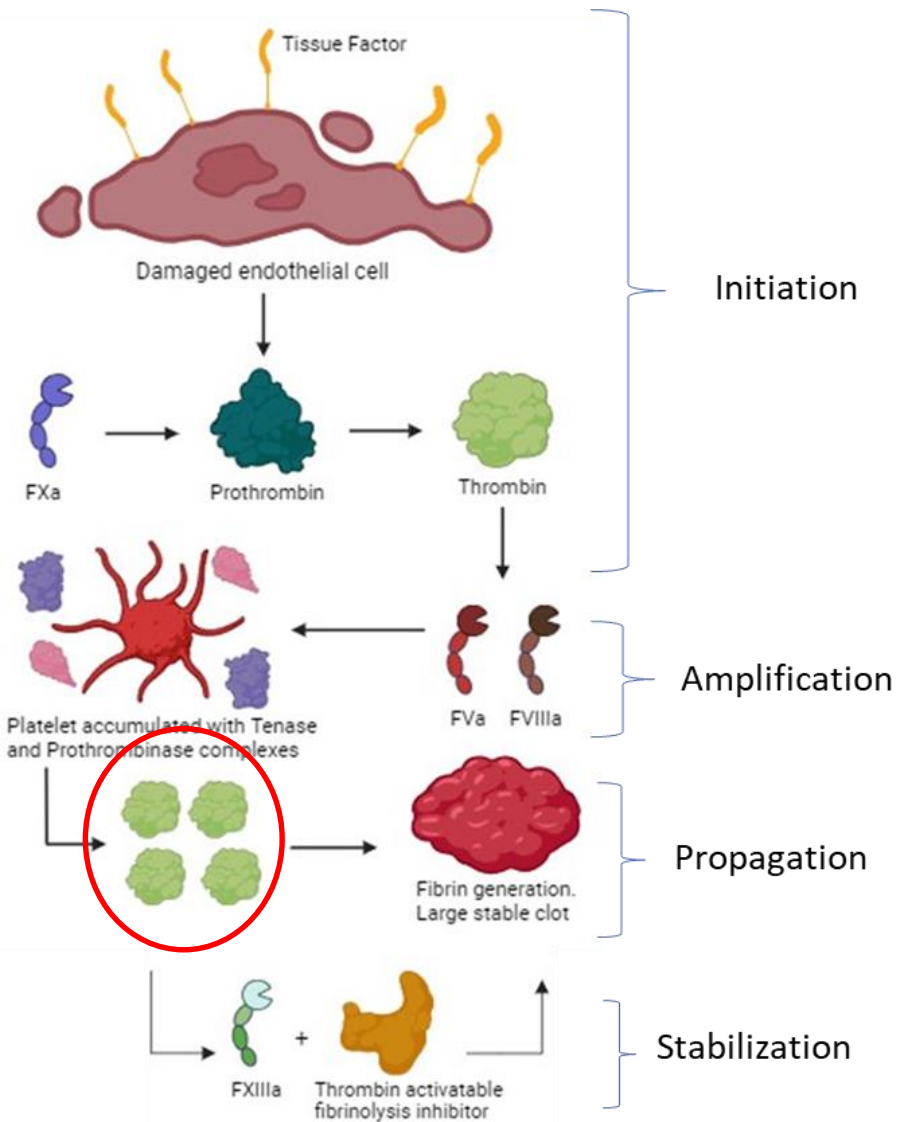
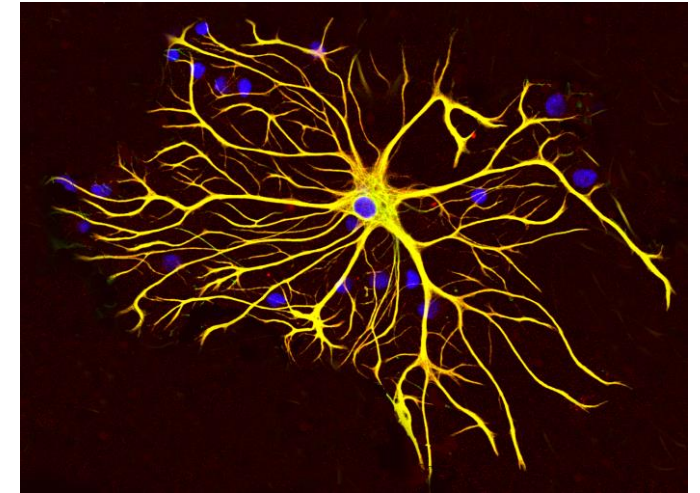
Τα επίπεδα των πρωτεϊνών του συμπληρώματος είναι υψηλότερα σε ασθενείς με ΠΣ σε σχέση με υγιείς ελέγχους, και αυτά τα επίπεδα συνδέονται με τη δραστηριότητα της νόσου.



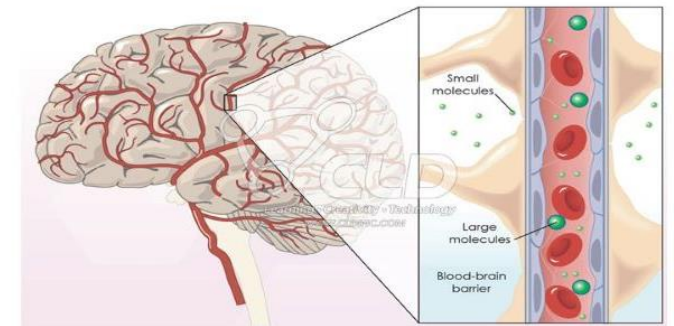
Σύστημα πήξης αίματος

Υψηλός κίνδυνος αγγειακής θρόμβωσης κατά την πρώιμη εμφάνιση της Πολλαπλής Σκλήρυνσης.

- Παράγοντας ιστού (TF), υψηλά εκφραζόμενος στις αστροκύτταρες
 - Βλάβη του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) → Έκθεση του TF → Ενεργοποίηση της πήξης
- Αύξηση της συγκέντρωσης της θρομβίνης
 - Οι αστροκύτταρες γίνονται αντιδραστικές, χάνουν τη νευροπροστατευτική και υποστηρικτική τους λειτουργία
 - Απελευθέρωση ROS, IL-1b και TNFα
 - Βλάβη του BBB



Αιματοεγκεφαλικός Φραγμός



Σύστημα πήξης αίματος



Antibodies to blood coagulation components are implicated in patients with multiple sclerosis

Maria S. Hadjiagapiou^a, George Krashias^{a,c}, Elie Deeba^{a,c}, Christina Christodoulou^c, Marios Pantzaris^{a,b}, Anastasia Lambrianides^{a,b,*}

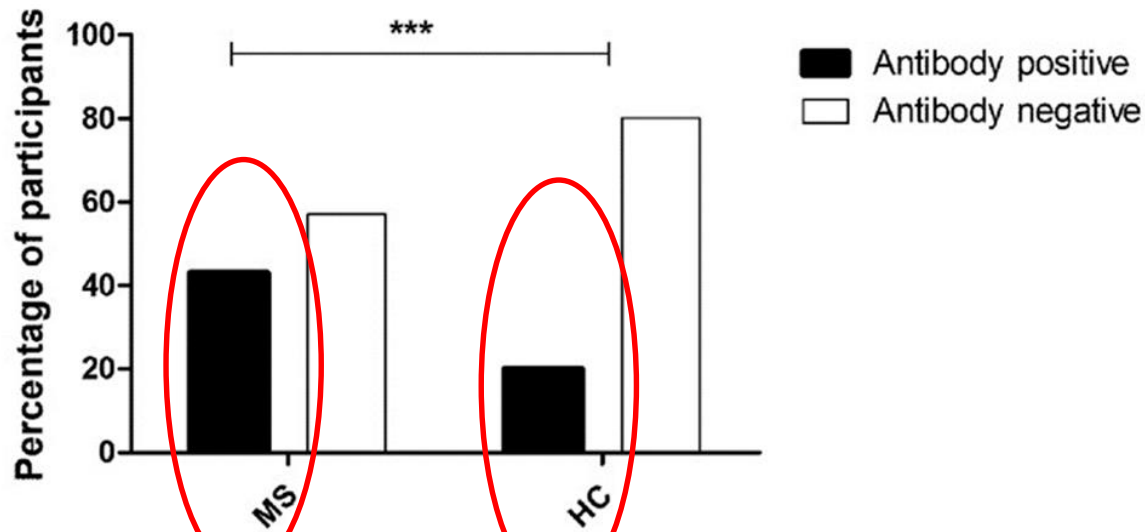
^a Postgraduate School, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia, Cyprus
^b Department of Neuroimmunology, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia, Cyprus
^c Department of Molecular Virology, The Cyprus Institute of Neurology and Genetics, Nicosia, Cyprus



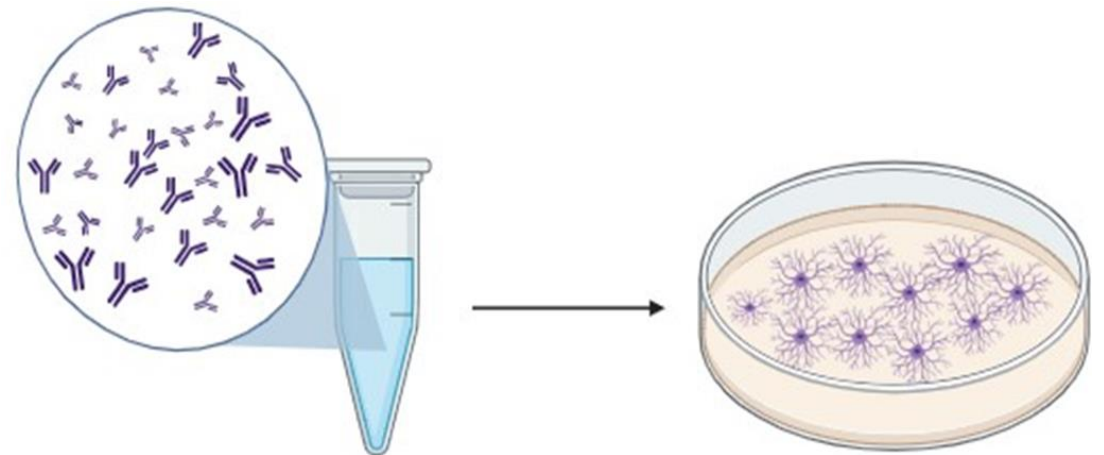
Article

A Preclinical Investigation on the Role of IgG Antibodies against Coagulant Components in Multiple Sclerosis

Maria S. Hadjiagapiou¹, George Krashias², Elie Deeba² , Christina Christodoulou², Marios Pantzaris¹ and Anastasia Lambrianides^{1,*}



Αντισώματα κατά των παραγόντων πήξης σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας (MS) έναντι υγιών ατόμων (HC).



Ενεργοποίηση των αστροκυττάρων με τη χρήση αντισωμάτων από ασθενείς.

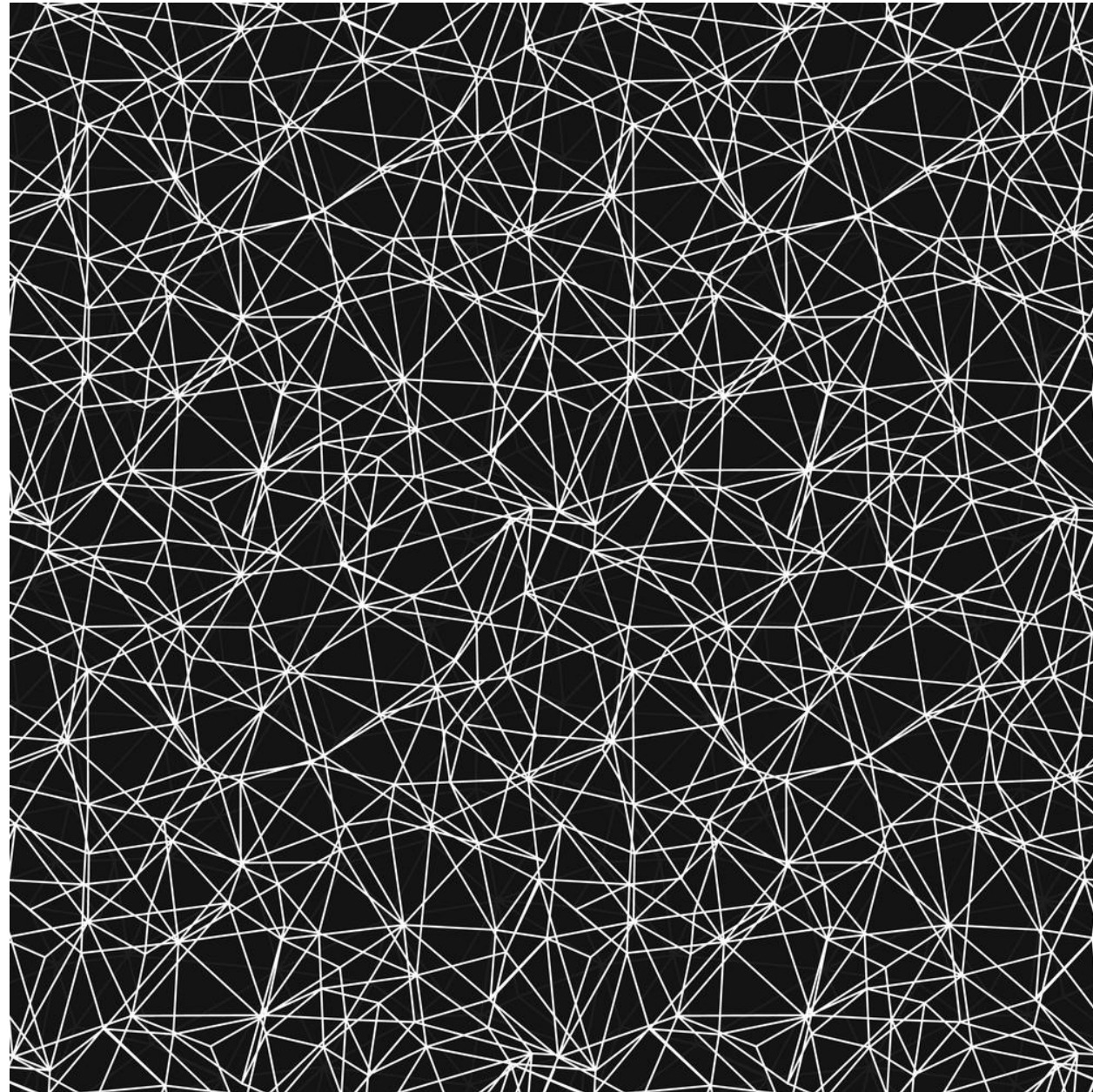
Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος

“In the study of biological processes, the accumulation of information is often accelerated by a narrow point of view. The fastest way to investigate the body’s defences against injury is to look individually at such isolated questions as how the blood clots and how complement works. **We must constantly remind ourselves that such distinctions are man-made.** In life, as in the legal cliché, the devices through which the body protects itself **forms a seamless web, unwrinkled by our artificialities**”

Δρ. Oscar Ratnoff, 1969.

Πρωτοπόρος στον καθορισμό του μηχανισμού με τον οποίο ενεργοποιείται η πήξη και ρυθμίζεται το σύστημα συμπλήρωσης.

Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος



Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα που δείχνουν την αλληλεπίδραση των δυο συστημάτων

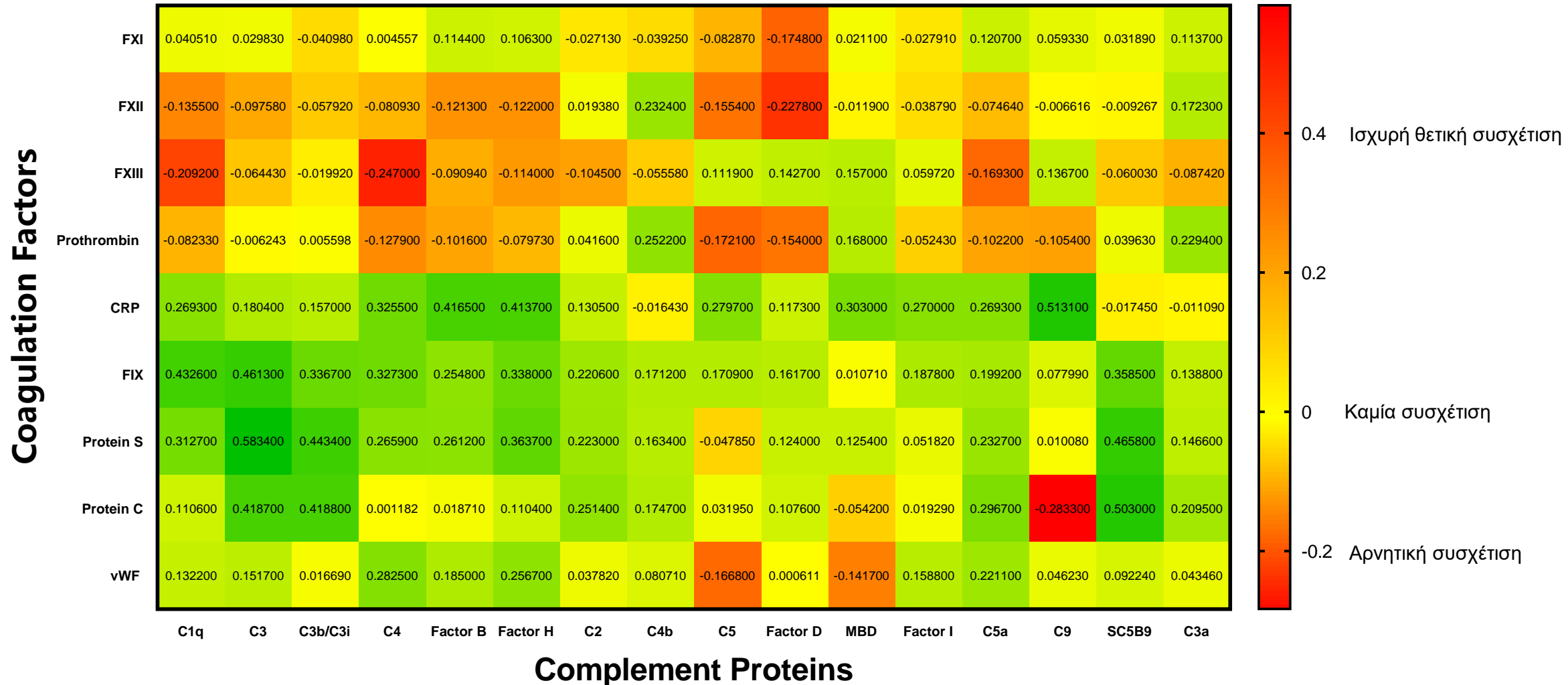
	Factor	Coagulation function	Complement function
AT	Antithrombin	Serine protease inhibitor that neutralizes coagulation enzymes (e.g., thrombin, factor Xa)	Neutralizes CP and LP complement enzymes C1s and MASP2
C1-INH	C1 esterase inhibitor	Neutralizes factor XIIa, factor XIa, kallikrein; activity enhanced by heparin	Major serine protease inhibitor to regulate CP and LP by neutralizing C1s, C1r and MASP1 and 2; activity enhanced by polyphosphate
C3a, C5a		Binds to cognate G-protein coupled receptors (GPCR) and activates endothelial cells and platelets (and others) to promote inflammation, coagulation, release of cytokines, and expression of tissue factor	Anaphylatoxins that recruit inflammatory cells
C3, C5		C3 binds to fibrin and augments clot stability; contributes to platelet activation. C5 helps trigger monocyte tissue factor procoagulant function	Major component of complement
C4a		Ligand for PAR1 and PAR4 on endothelial cells, inducing their activation and reducing barrier function	Relatively weak recruitment of inflammatory cells
sC5b-9	Sublytic C5b-9	Sublytic membrane attack complex; promotes membrane flipping to support prothrombinase assembly; triggers exposure of functional tissue factor; induces secretion/release of microparticles, VWF, interleukin-6, interleukin-8, P-selectin	Sublytic membrane attack complex
C5b-7		Terminal complex that binds to membrane of target cells and in myelomonocytic cells, induces tissue factor activation via oxidizing protein disulfide isomerase; induces	
FH	Factor H	Reduces ULWVF to smaller forms; binds to thrombomodulin	Major solution phase negative regulator of alternative pathway
FXIIa	Factor XIIa	Trigger of contact pathway to trigger intrinsic pathway of coagulation and activation of prekallikrein to kallikrein	Activates C1r and thus may initiate CP
Kallikrein		Activates HMWK to generate bradykinin; activates factor XII	Cleaves/activates several complement proteins (e.g., FB, C3, C5)
MASP1	MBL-associated serine protease 1	Cleaves fibrinogen to generate fibrin monomers; activates factor XII to cross-link fibrin; activates prothrombin to thrombin; activates PAR4 on endothelial cells; activates TAFI; activates HMWK to bradykinin; induces release of interleukin-6 and interleukin-8	Lectin pathway enzyme that autoactivates and activates MASP2 and cleaves C2
MASP2	MBL-associated serine protease 2	Activates prothrombin and factor XII; cleaves fibrinogen to generate fibrin monomers	Lectin pathway enzyme that autoactivates and which cleaves C2 and C4
MASP3	MBL-associated serine protease 3	not fully defined	Activator of pro-factor D to factor D
Plasmin		Major fibrinolytic	Complex roles in cleaving/activating C3 and C5
P-selectin		Promotes platelet adhesion/aggregation; recruits leukocytes	Receptor for C3b and assembly of the AP
polyP	Polyphosphate	Anionic surface for contact activation of coagulation; promotes coagulation via several pathways; complex effects on fibrin clot assembly and fibrinolysis	Inhibits complement by destabilizing C5b6 and augmenting C1-INH function
TAFIa	Activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor	Fibrinolysis inhibitor	Inactivates C3a and C5a and pro-inflammatory bradykinin and osteopontin
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor	Inhibits tissue factor-factor VIIa-factor Xa coagulation pathway	Interferes with MASP2 cleavage and activation of C4 and C2
Thrombin		Major procoagulant enzyme	Cleaves C3, C5; possible participation in activating pro-factor D
TM	Thrombomodulin	Cofactor for thrombin activation of protein C and TAFI to limit thrombin generation and fibrinolysis,	Required to generate TAFIa which cleaves/inactivates C3a and C5a; enhances FV/FH inactivation of C3b
ULWVF	Ultra-large von Willebrand factor	Multimeric strings support platelet adhesion/aggregation	Activating surface for assembly of alternative pathway convertase
VWF	von Willebrand factor	Support platelet adhesion/aggregation	Cofactor for FI inactivation of C3b

CP, classical; FB, factor B; FH, factor H; FI, factor I; HMWK, high molecular weight kininogen; LP, lectin; PAR, protease activated receptor; TAFI, thrombin activated fibrinolysis inhibitor; ULWVF, ultra large multimeric form; VWF, von Willebrand factor.

Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα που δείχνουν την αλληλεπίδραση των δυο συστημάτων

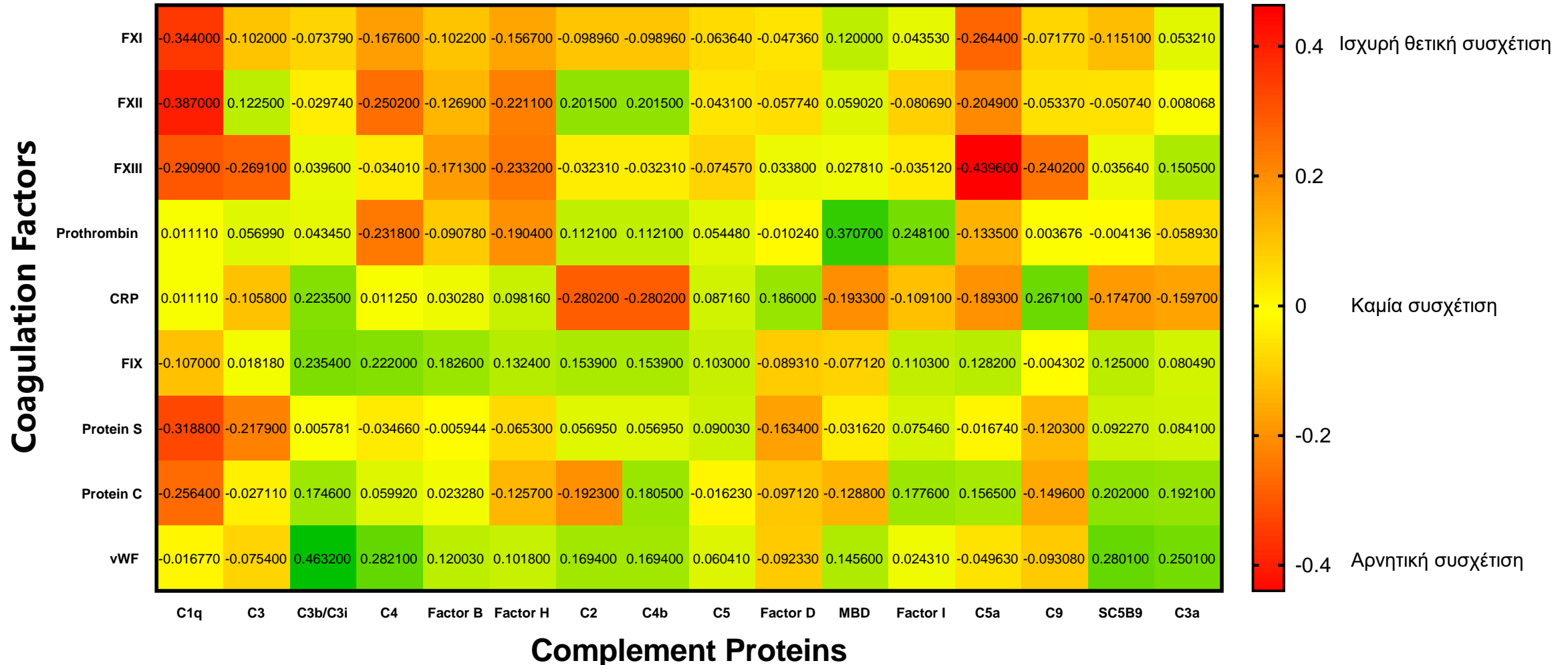
Correlations in Complement Proteins and Coagulation Factors concentrations in Multiple Sclerosis patients



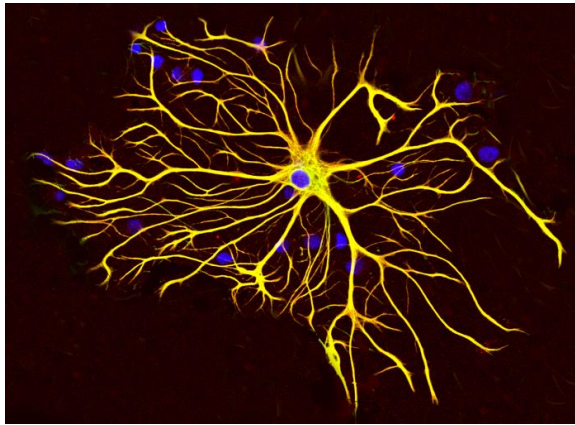
Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος

Υπάρχουν πολλά παραδείγματα που δείχνουν την αλληλεπίδραση των δυο συστημάτων

Correlations in Complement Proteins and Coagulation Factors concentrations in Healthy Controls



Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος- Μελλοντικές Έρευνες.



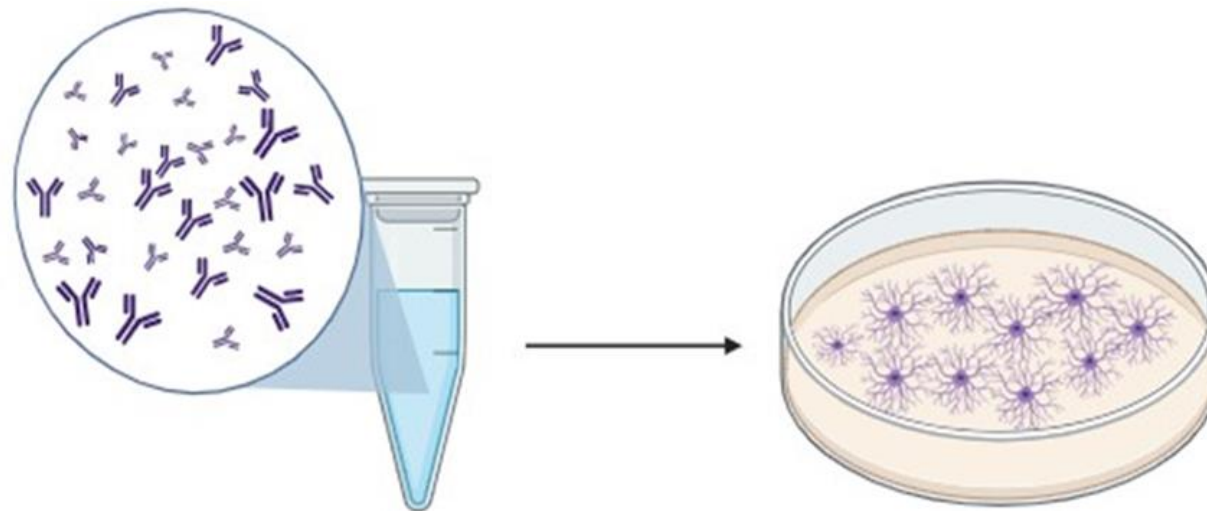
Αστροκύτταρα



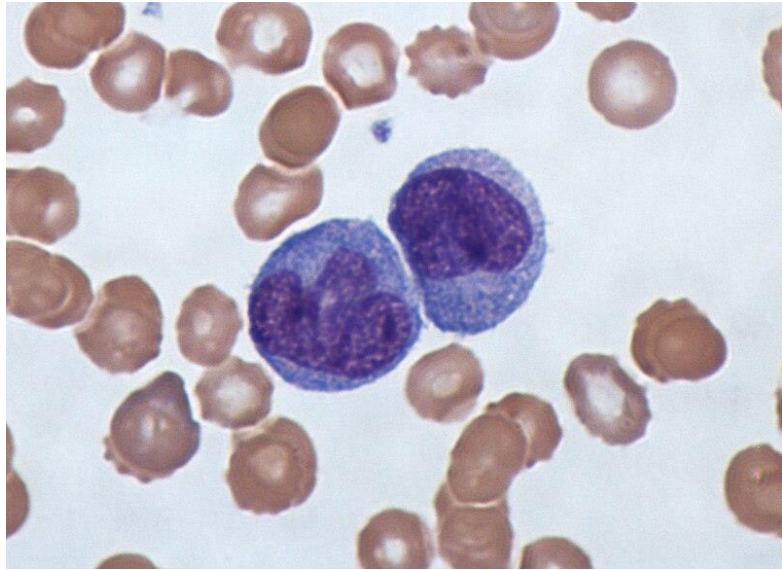
Μικρογλία



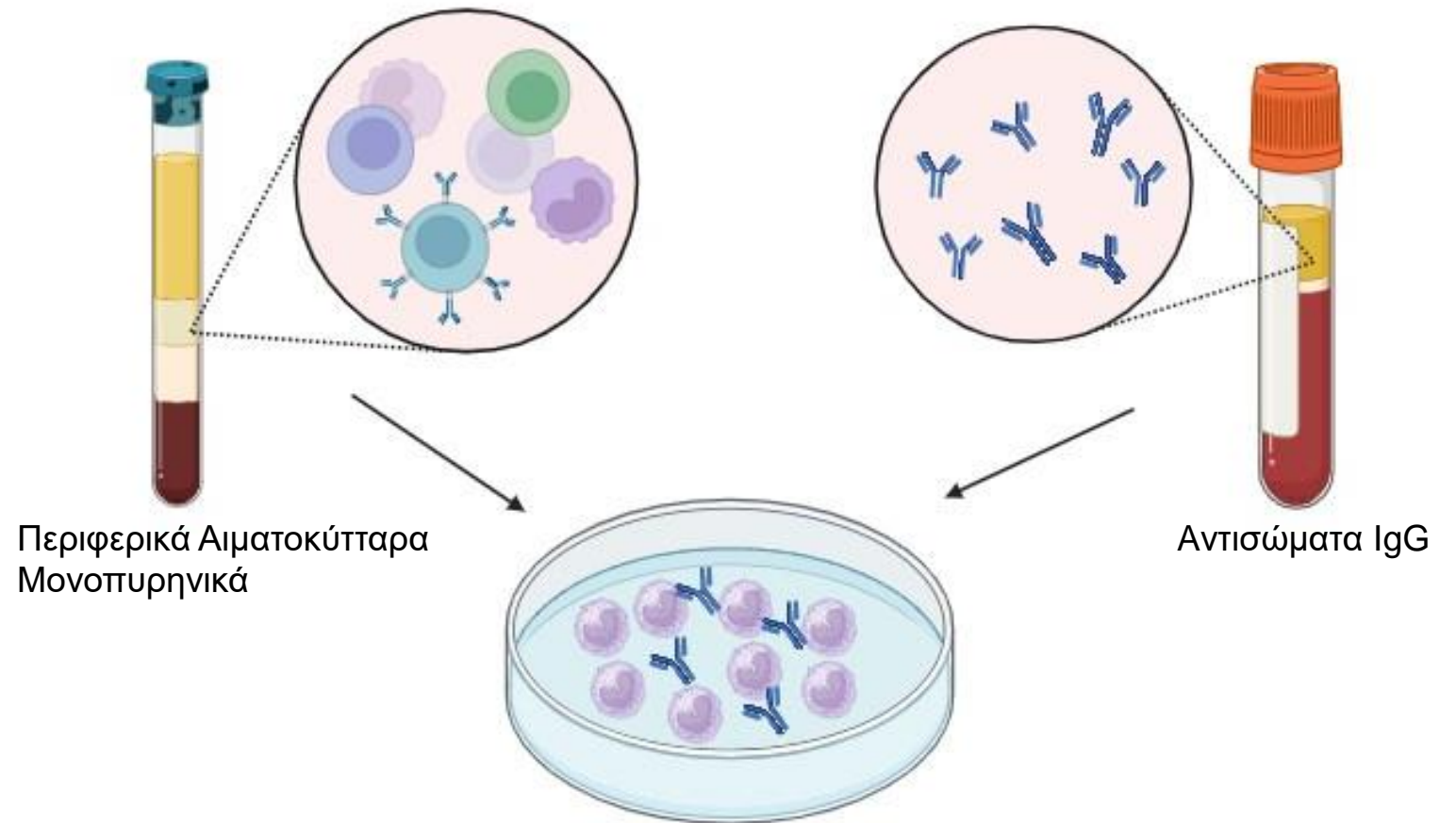
Ολιγοδενδροκύτταρα



Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος- Μελλοντικές Έρευνες.



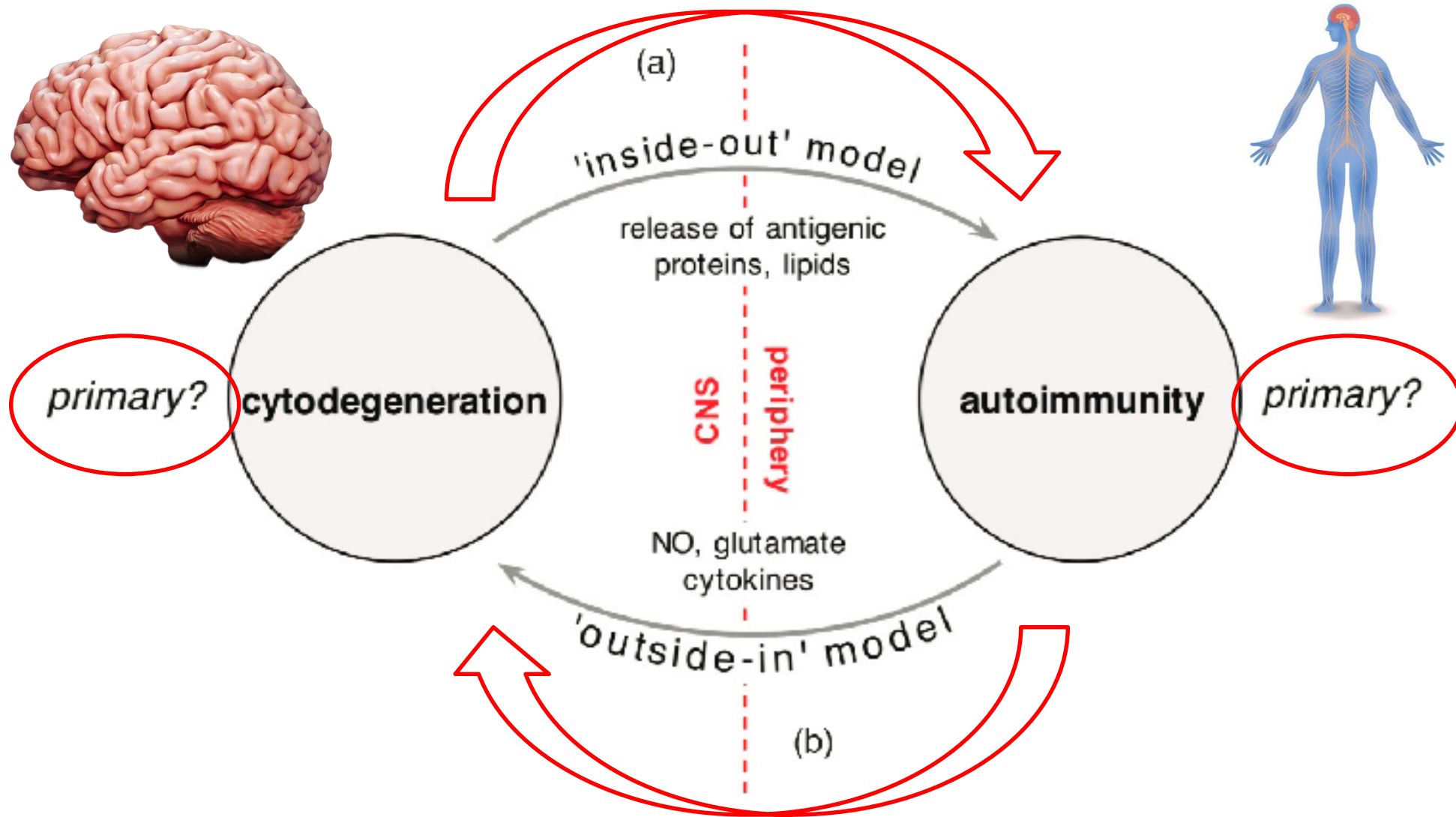
Μονοκύτταρα



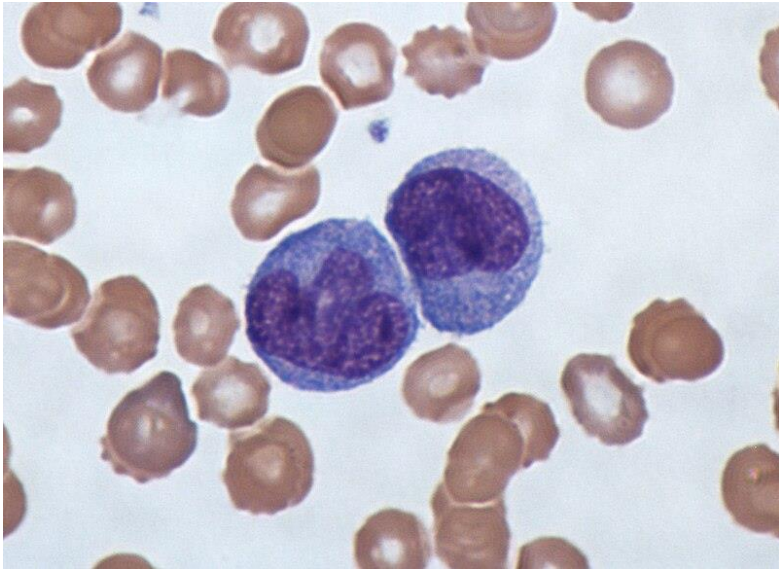
Περιφερικά Αιματοκύτταρα
Μονοπυρηνικά

Αντισώματα IgG

Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος- Μελλοντικές Έρευνες.



Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος- Μελλοντικές Έρευνες.



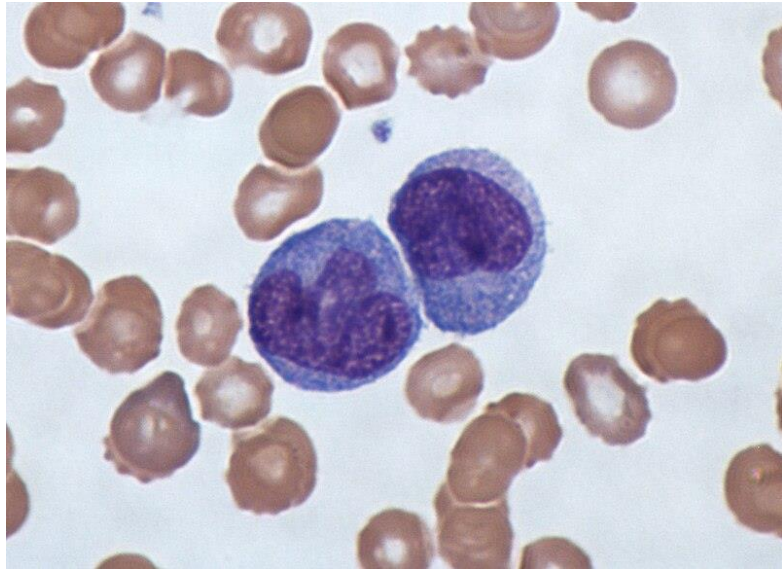
Μονοκύτταρα

Μετάβαση στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ): Έχει παρατηρηθεί ότι τα μονοκύτταρα εισβάλλουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα, συμβάλλοντας στη φλεγμονή και την απομυελινοπάθεια στην πολλαπλή σκλήρυνση.

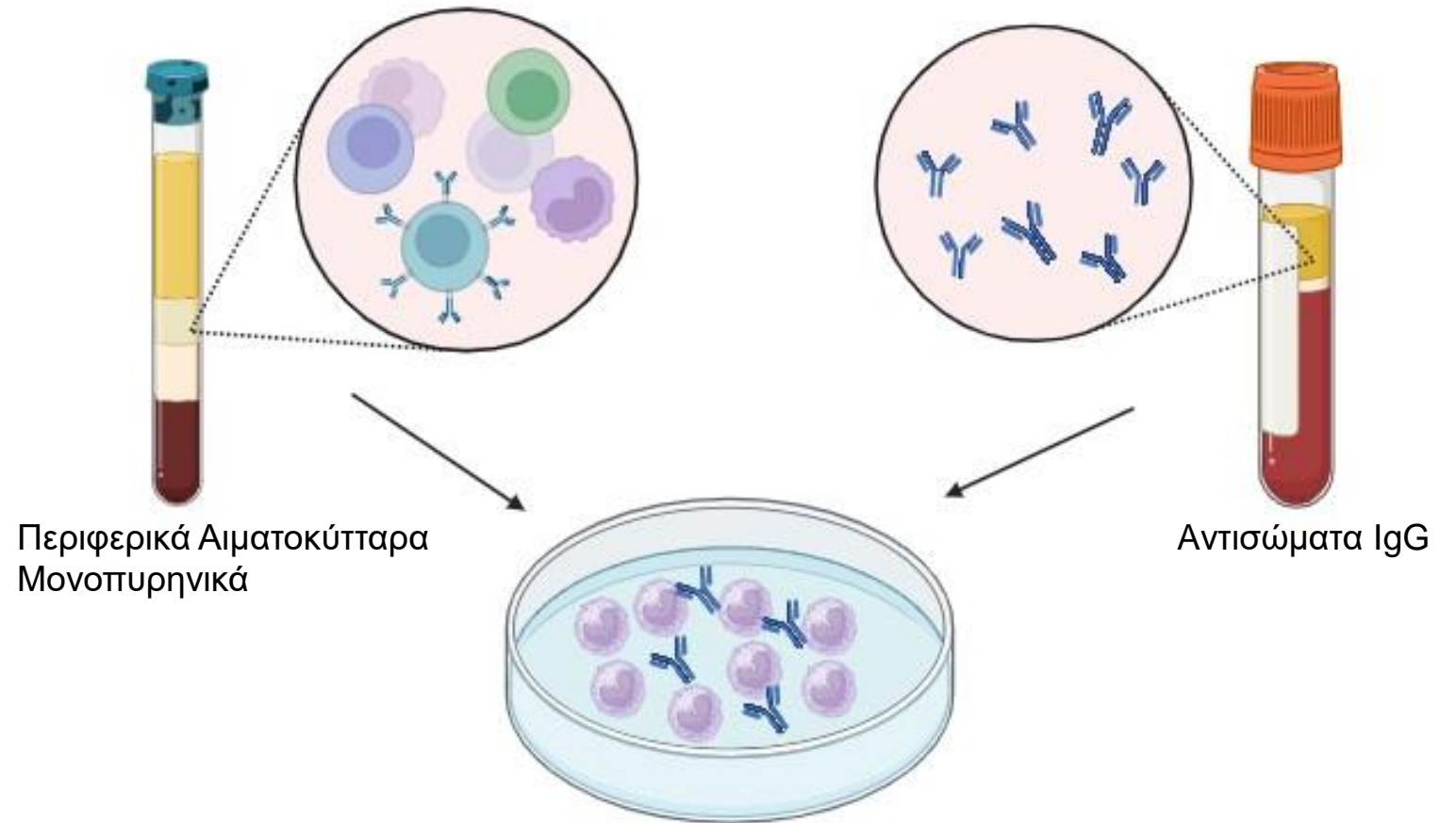
Διαφοροποίηση σε Μακροφάγα: Τα μονοκύτταρα μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μακροφάγα μέσα στο ΚΝΣ. Οι ενεργοποιημένοι μακροφάγοι συμβάλλουν στην ανοσοαπόκριση και ενδέχεται να συμβάλουν στην καταστροφή των ιστών στην πολλαπλή σκλήρυνση.

Παραγωγή Κυτταροκινών: Τα μονοκύτταρα και οι μακροφάγοι έχουν τη δυνατότητα να παράγουν διάφορες κυτταροκίνες που μπορούν να επηρεάσουν το φλεγμονώδες περιβάλλον στα εσωτερικά σημεία της πολλαπλής σκλήρυνσης.

Η αλληλεπίδραση των συστημάτων πήξης και συμπληρώματος- Μελλοντικές Έρευνες.



Μονοκύτταρα



Περιφερικά Αιματοκύτταρα
Μονοπυρηνικά

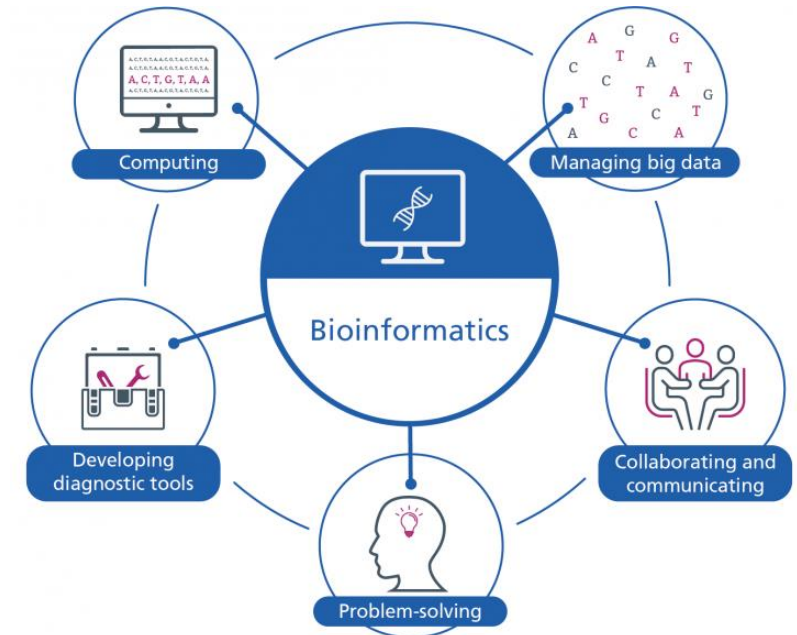
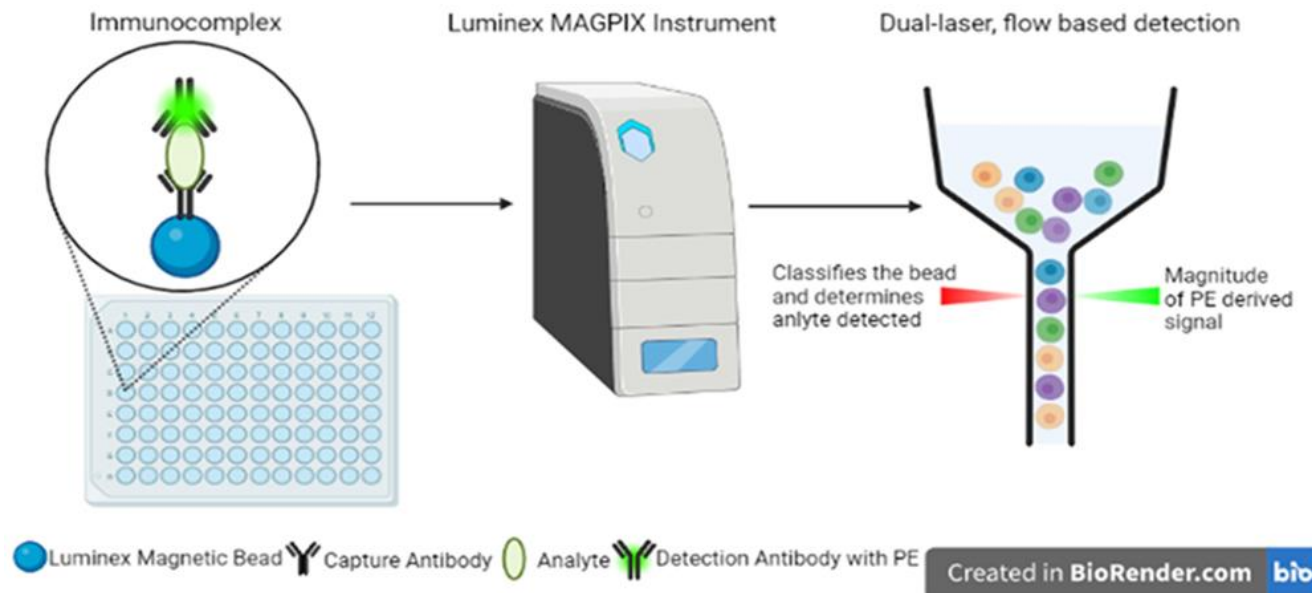
Αντισώματα IgG

Σύστημα συμπληρώματος και Πολλαπλή Σκλήρυνση-Μελλοντικές Έρευνες.

Προγνωστική αξία των πρωτεϊνών του συμπληρώματος στην Πολλαπλή Σκλήρυνση

IgG ολιγοκλωνικών δεσμών → Διάγνωση Πολλαπλή Σκλήρυνση
IgM είναι λιγότερο κοινά, αλλά βρίσκονται σε ασθενείς με ΠΣ.

- Αναμένεται ότι οι ασθενείς αυτοί θα έχουν χειρότερη πρόοδος της νόσου.
- Έχουν τη δυνατότητα να ενεργοποιούν το σύστημα συμπληρώματος.
- Υψηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης συμπληρώματος συνδέονται με υψηλότερη βαθμολογία αναπηρίας (EDSS) και δραστηριότητα της νόσου.



Ένα Μεγάλο
Ευχαριστώ !



Δρ. Μάριος Παντζαρήs
Δρ. Νάνσυ Λαμπριανίδη
Δρ. Χριστίνα Χριστοδούλου
Τμήμα Ιολογίας, Ινστιτούτο Νευρολογία και Γενετικής
Κύπρου
Ασθενείς / Εθελοντές

Θέλετε να λάβετε μέρος σε έρευνες για την πολλαπλή σκλήρυνση;



Υγιείς (ομάδα ελέγχου)

- Χωρίς:
 - Νευρολογικά
 - Αιματολογικά
 - Αυτοάνοσα
 - Καρδιολογικά