

20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο
Νεφρολογίας



Ελληνική
Νεφρολογική
Εταιρεία



3-6 Μαΐου 2018

Μέγαρο Διεθνές Συνεδριακό Κέντρο Αθηνών, Αθήνα

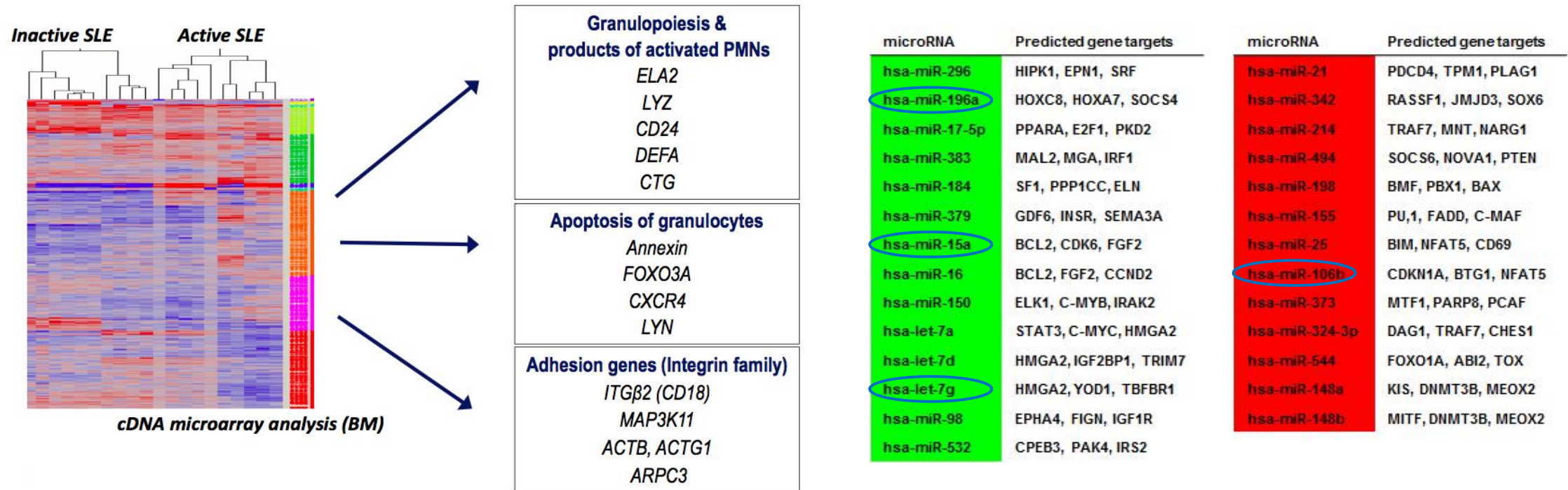
Η ΟΔΟΣ REDD1/ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΡΥΘΜΙΖΕΙ ΤΗΝ
ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΩΝ ΠΑΓΙΔΩΝ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ (NETs)
ΠΡΟΚΑΛΩΝΤΑΣ ΘΡΟΜΒΟΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΙΝΩΣΗ
ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ-ΣΤΟΧΩΝ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΟΥ ΕΡΥΘΗΜΑΤΩΔΟΥΣ ΛΥΚΟΥ (ΣΕΛ)

Ε. Φράγκου, Α. Χρυσανθοπούλου, Κ. Καμπάς, Α. Μίτσιος, Σ. Αρελάκη, Η. Αγγελοπούλου,
Θ. Αραμπατζιόγλου, Χ. Γακιοπούλου, Γ. Μπερτσιάς, Λ. Δροσοπούλου, Ε. Τσιλιμπάρη,
Π. Βεργίνης, Κ. Ρίτης, Δ. Μπούμπας

5/5/2018

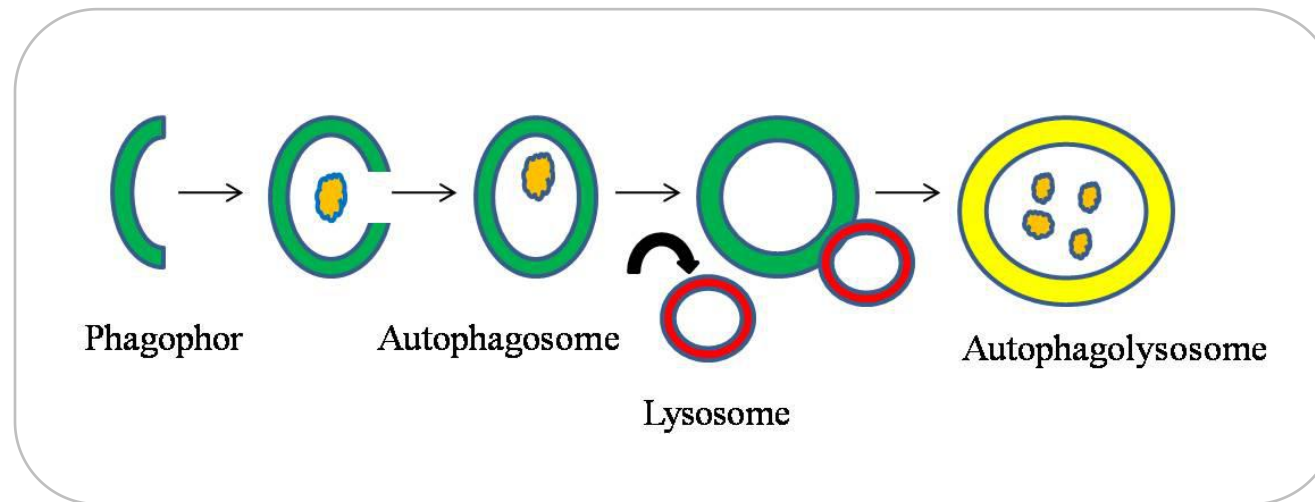
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ασθενείς με ενεργό ΣΕΛ χαρακτηρίζονται από
ισχυρή ταυτότητα ουδετεροφίλων και διαταραχή γονιδίων αυτοφαγίας



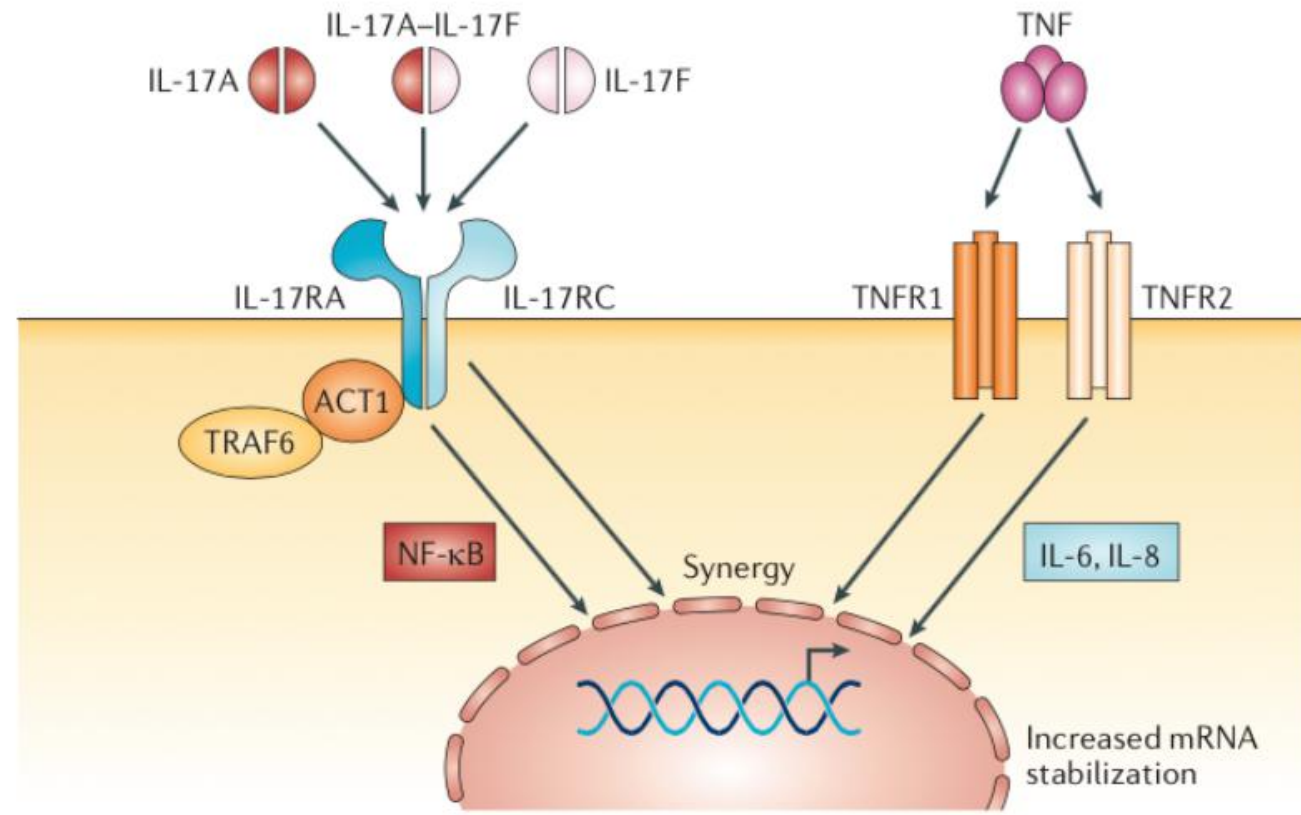
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- **Αυτοφαγία: ομοιοστατικός καταβολικός μηχανισμός**
- Το κύτταρο διασπά τα συστατικά του σε συνθήκες κυτταρικού στρες
- Συμμετέχει σε κυτταρικές διεργασίες: κυτταρικός κύκλος, ρύθμιση ενέργειας, **ανοσιακή απάντηση**



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η **ιντερλευκίνη-17 (IL-17)** είναι μία προ-φλεγμονώδης κυτοκίνη που εμπλέκεται στην **παθογένεια του ΣΕΛ και της νεφρίτιδας λύκου**

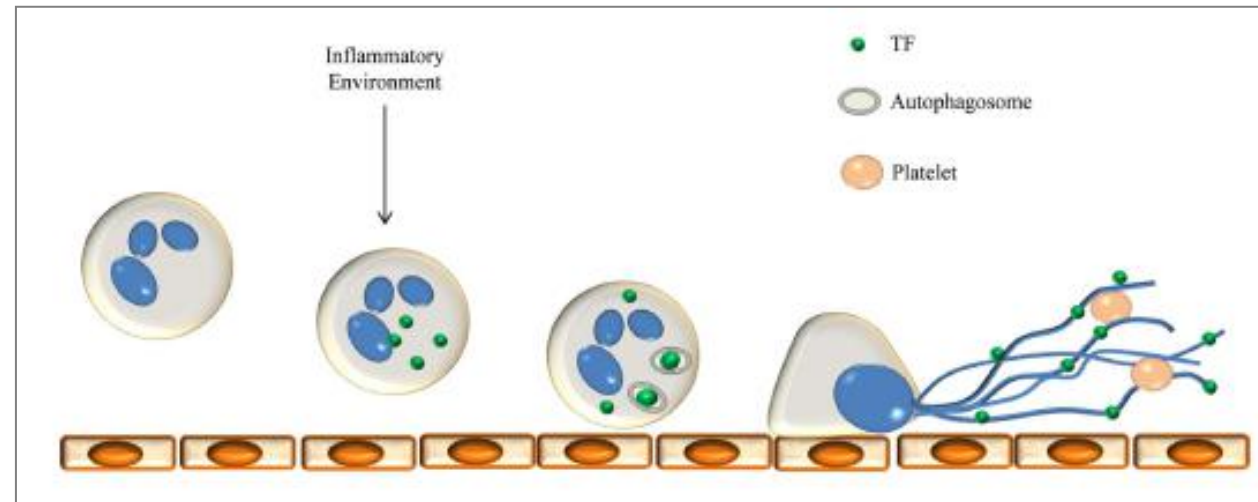


ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιστικός παράγοντας (TF) είναι ο κυριότερος *in vivo* ενεργοποιητής της πήξης

Μέσω άξονα TF-θρομβίνης: **καταρράκτης πήξης**

Μέσω ενεργοποίησης PAR: **φλεγμονή**



Στα ουδετερόφιλα:

Ενδοκυττάρια εντόπιση TF

Εξωκυττάρια μεταφορά TF με τα **NETs**

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

η διερεύνηση του μοριακού μηχανισμού
απελευθέρωσης εξωκυττάριων παγίδων ουδετεροφίλων (NETs)
και της βλάβης τελικών οργάνων-στόχων (νεφρού και δέρματος) στο ΣΕΛ.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

A. Απομόνωση ορού και ουδετεροφίλων - μελέτες διέγερσης και αναστολής

Άτομα *	Υγιείς εθελοντές	Ασθενείς με ενεργό ΣΕΛ	Ασθενείς με ΣΕΛ υπό υδροξυχλωροκίνη
ΣΥΝΟΛΟ	15	21	11
ΦΥΛΟ			
Άνδρες	10 (67%)	1 (4.8%)	0 (0%)
Γυναίκες	5 (33%)	20 (95.2%)	11 (100%)
ΜΕΣΗ ΗΛΙΚΙΑ (έτη)	30.4	28.35	29.29
SELENA-SLEDAI SCORE	-	>6	<5

* Ασθενείς που ελάμβαναν αντι-αιμοπεταλιακά ή αντιπηκτικά φάρμακα αποκλείστηκαν από τη μελέτη

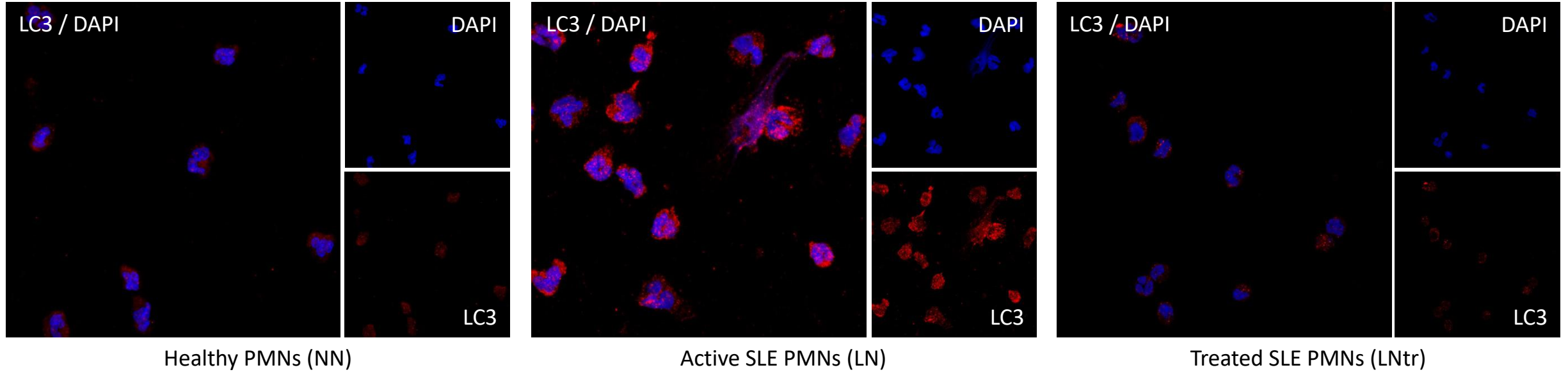
B. Βιοψίες νεφρού από 10 ασθενείς με υπερπλαστική Νεφρίτιδα Λύκου (τάξη III, IV)

Γ. Καλλιέργεια ανθρώπινων ποδοκυττάρων και δερματικών ινοβλαστών

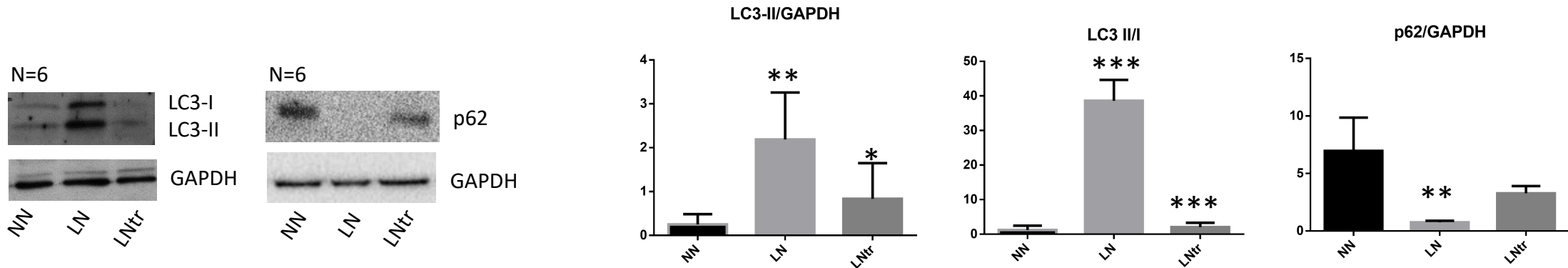
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟ ΣΕΛ ΕΚΦΡΑΖΟΥΝ ΑΥΞΗΜΕΝΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑΣ

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για LC3/DAPI) σε *ex vivo* PMNs

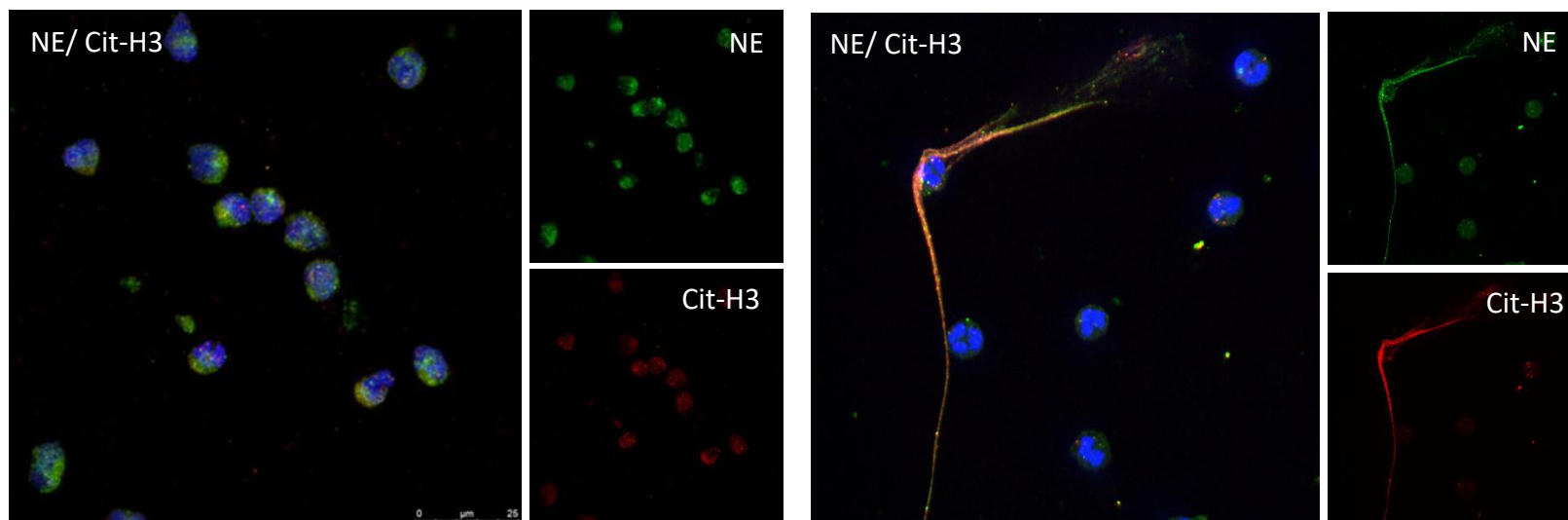


B. Ανοσοαποτύπωση για LC3 και p62 σε *ex vivo* PMNs



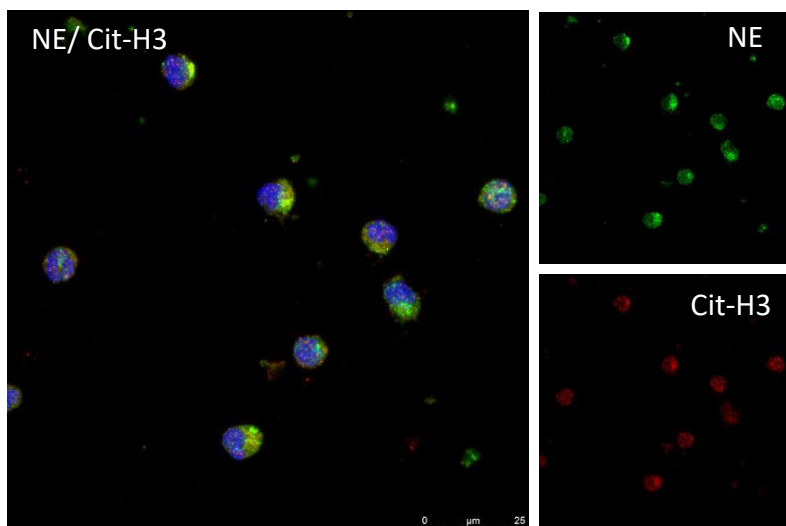
ΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟ ΣΕΛ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΝΕΤΩΣΗ, Η ΟΠΟΙΑ ΕΠΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για NE/cit-H3/DAPI)

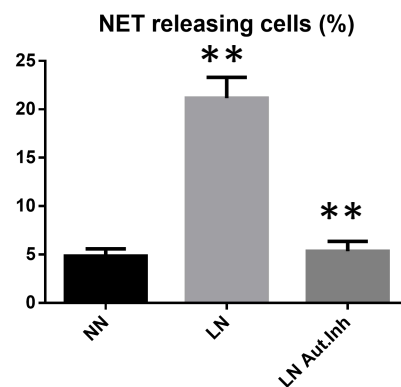


Healthy PMNs

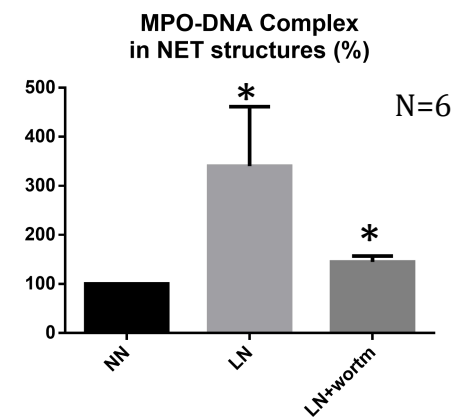
Active SLE PMNs



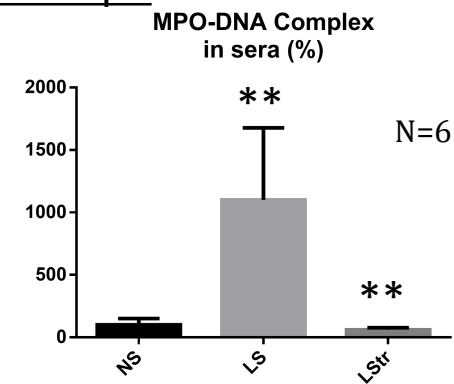
Active SLE PMNs + Autophagy Inhibitor



B. MPO-DNA complex ELISA σε υπερκείμενα καλλιέργειας

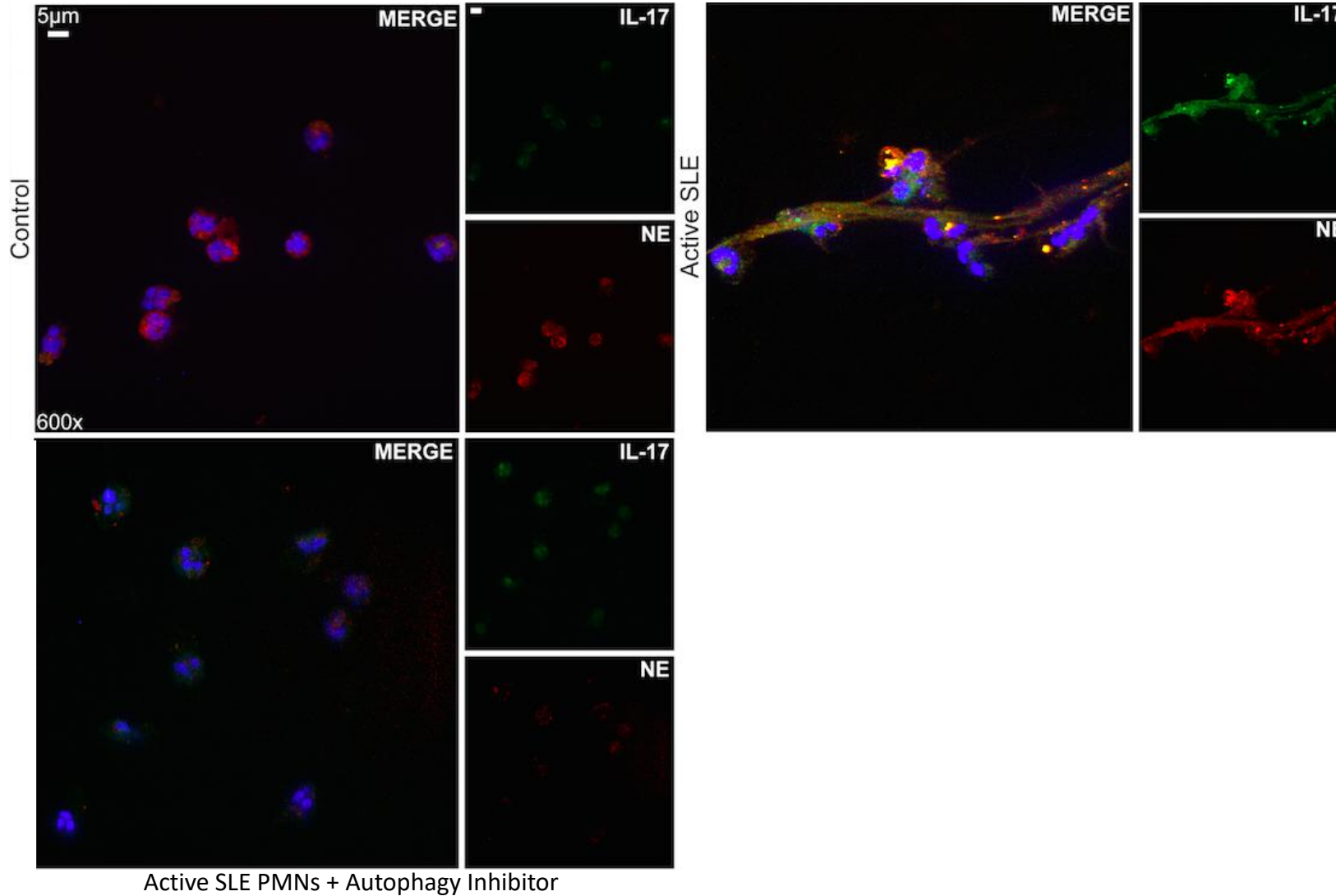


Γ. MPO-DNA complex ELISA στον ορό



Η ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ IL-17 ΣΤΑ NETS

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για IL-17/DAPI)

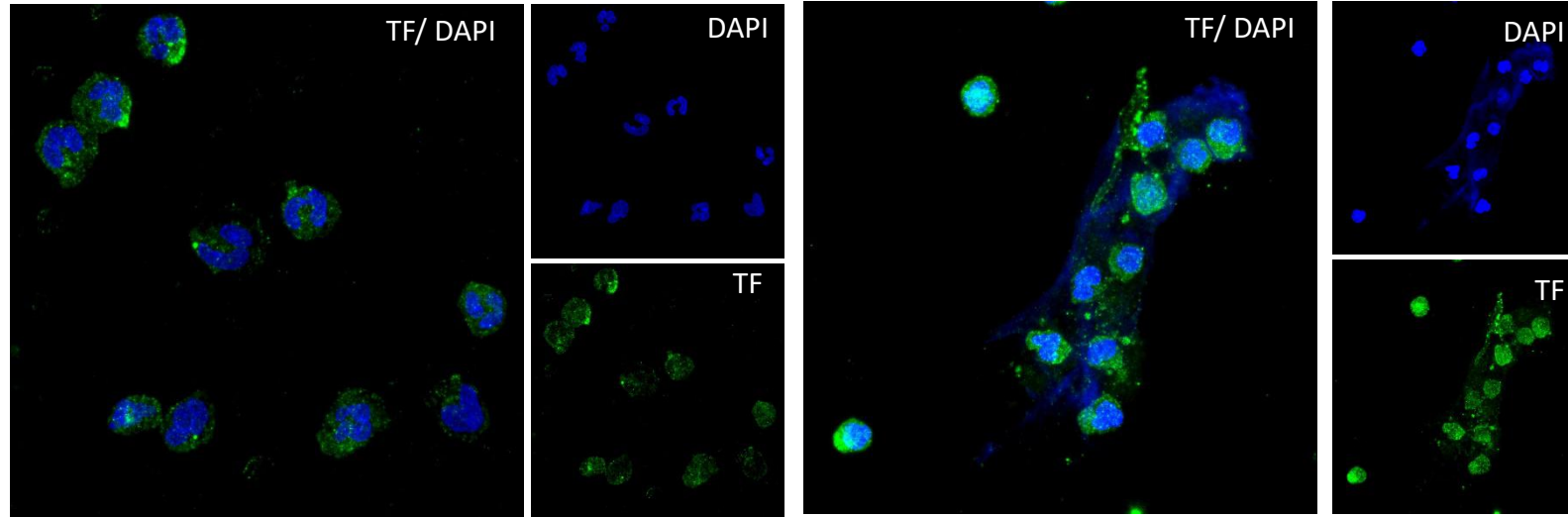


B. Ανοσοαποτύπωση για IL-17 σε υπερκείμενα καλλιέργειας



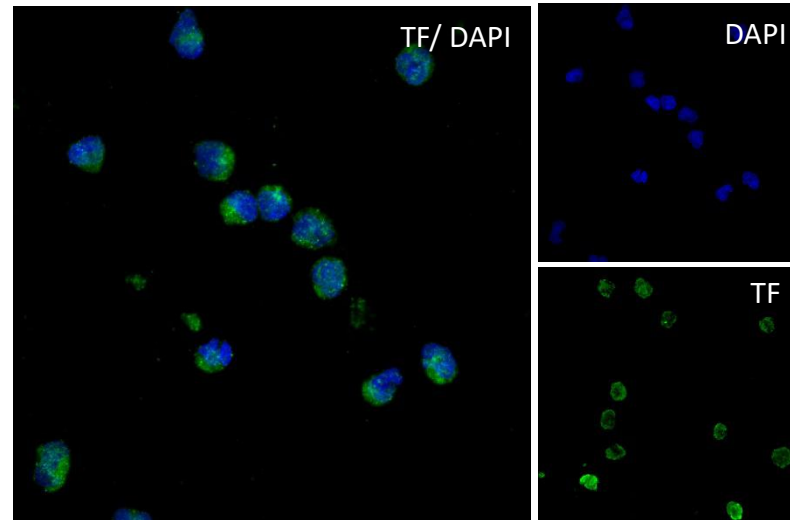
Η ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΔΡΑΣΤΙΚΟΥ ΤF ΣΤΑ ΝΕΤs, ΟΔΗΓΩΝΤΑΣ ΣΕ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για TF/DAPI)



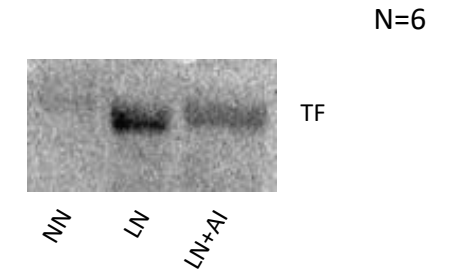
Healthy PMNs

Active SLE PMNs

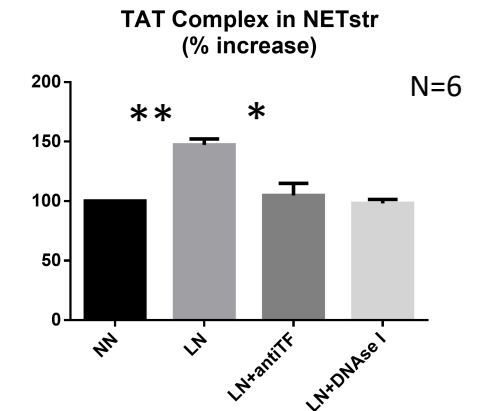
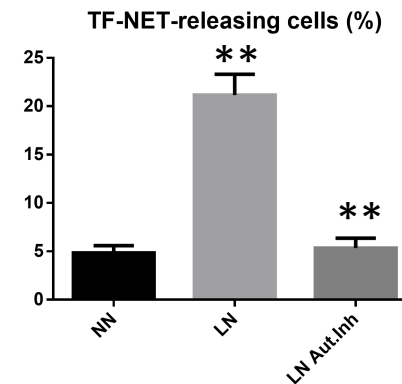


Active SLE PMNs + Autophagy Inhibitor

B. Ανοσοαποτύπωση για TF σε υπερκείμενα καλλιέργειας



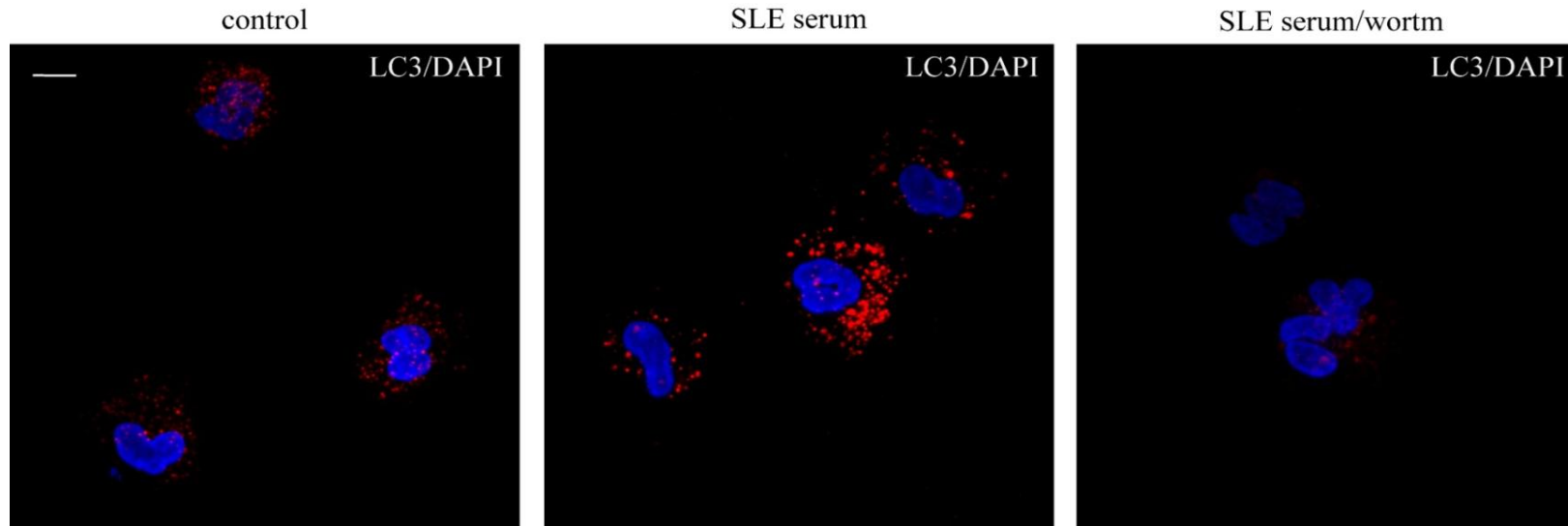
Γ. TAT Complex ELISA σε υπερκείμενα καλλιέργειας



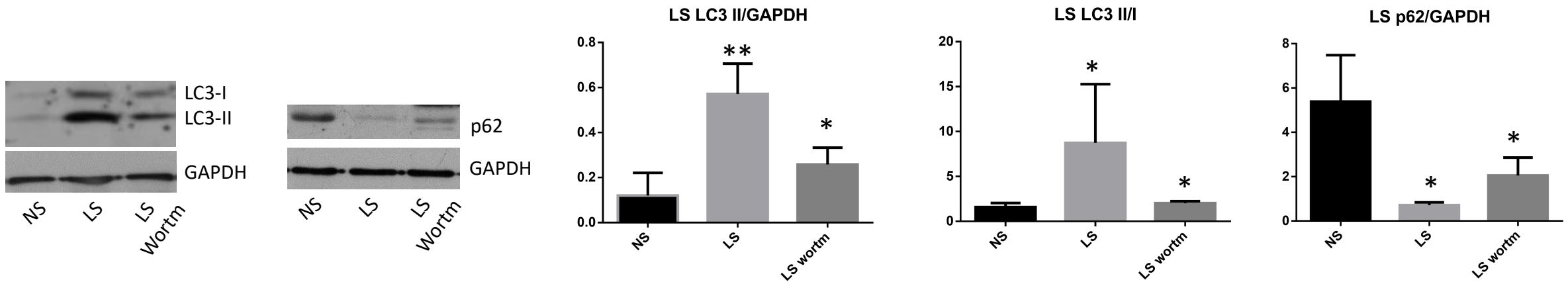
Τα φαινόμενα αποδίδονται σε εσωτερική κυτταρική διαταραχή;

Ο ΟΡΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΕΛ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΣΤΑ ΥΓΙΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για LC3/DAPI) σε *in vitro* PMNs

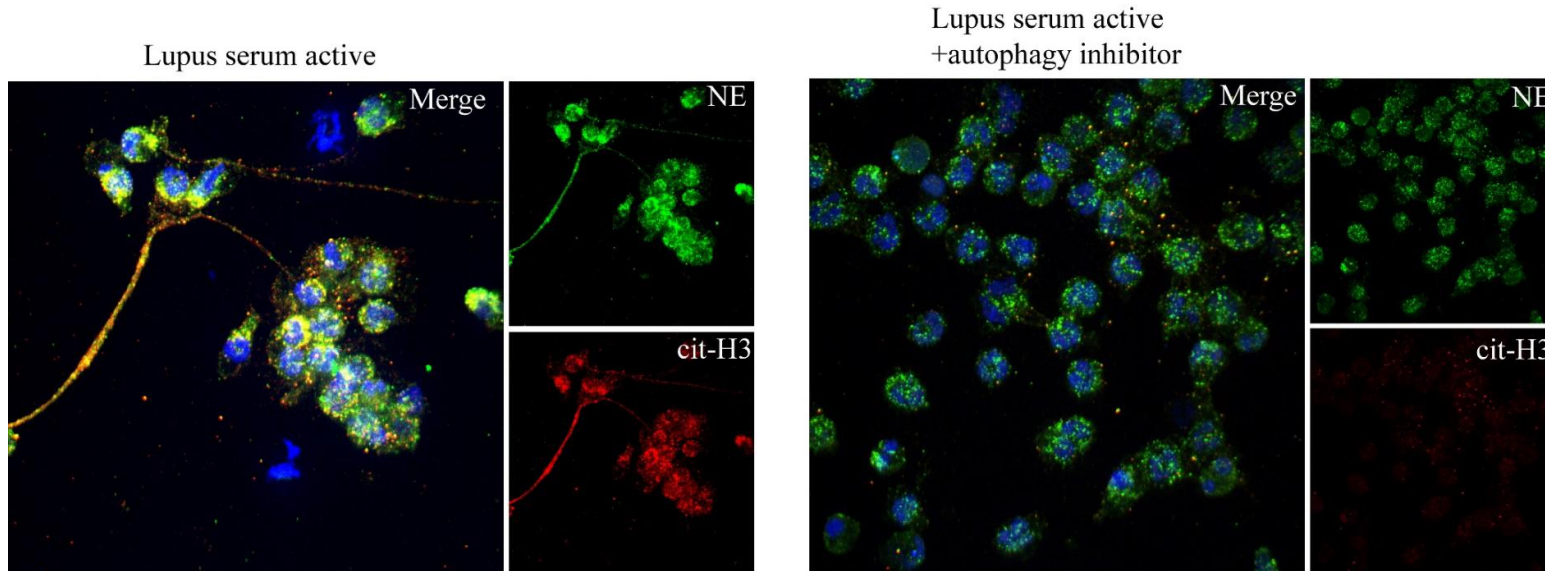
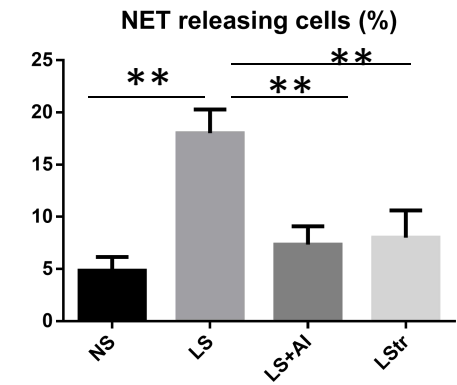
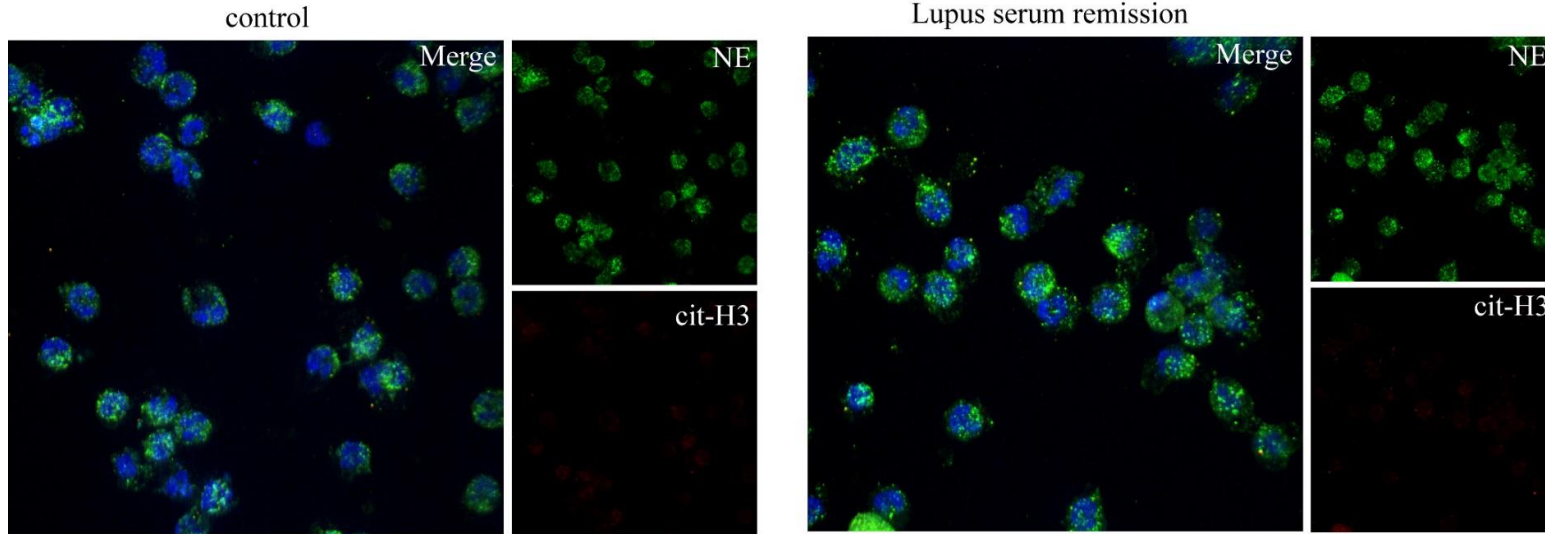


B. Ανοσοαποτύπωση για LC3 και p62

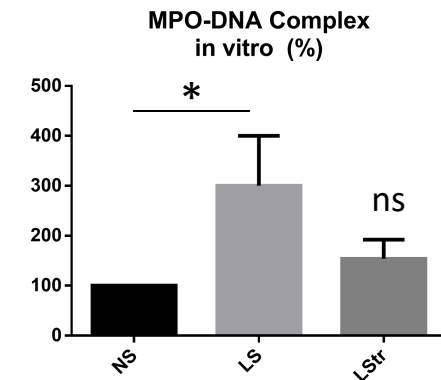


Ο ΟΡΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΕΛ ΕΠΑΓΕΙ ΤΗΝ ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ-ΑΠΟ-ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ NETs

A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για NE/citr-H3/DAPI) σε *in vitro* PMNs

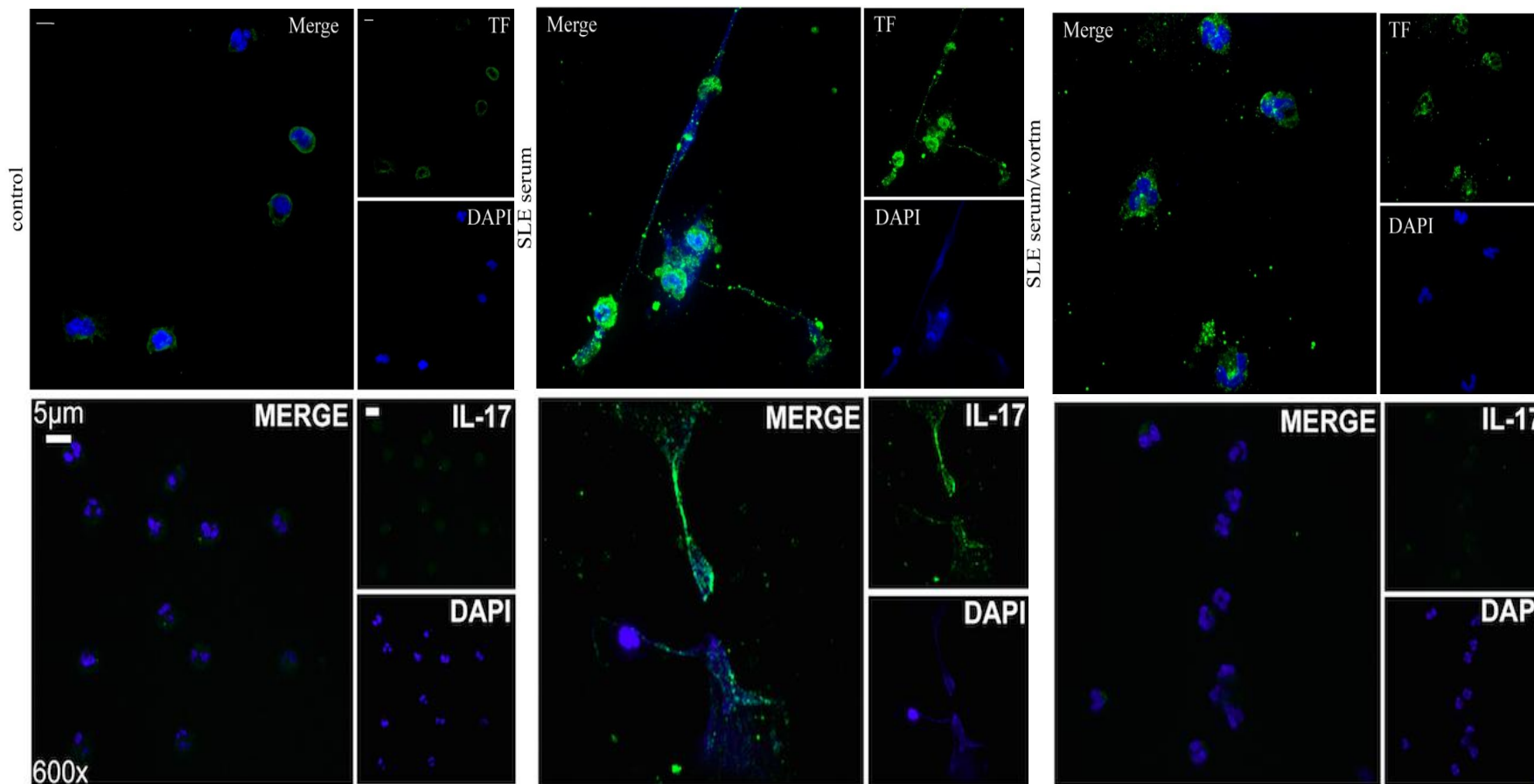


B. MPO-DNA Complex ELISA σε υπερκείμενα καλλιέργειας

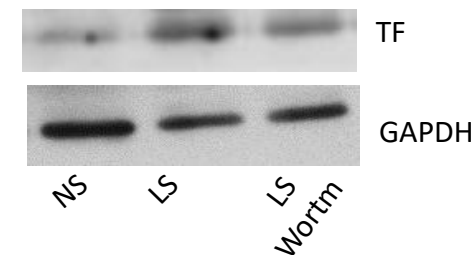


Ο ΟΡΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΕΛ ΟΔΗΓΕΙ ΣΕ ΑΥΤΟΦΑΓΙΑ ΚΑΙ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ NETs ΔΙΑΚΟΣΜΗΜΕΝΩΝ ΜΕ IL-17 ΚΑΙ TF

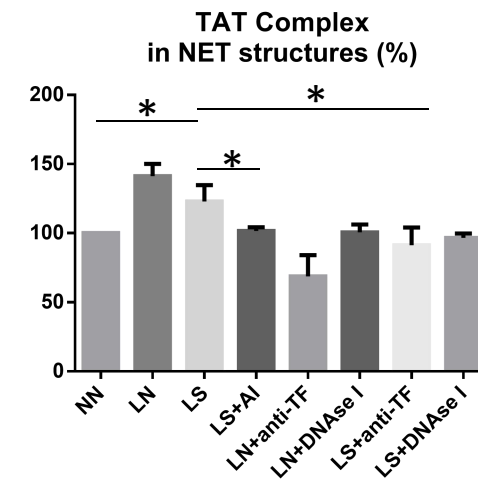
A. Συνεστιακή μικροσκόπηση (IF για TF/DAPI και TF/NE/DAPI) σε *in vitro* PMNs



B. Ανοσοαποτύπωση για TF σε πρωτεΐνες κυττάρων



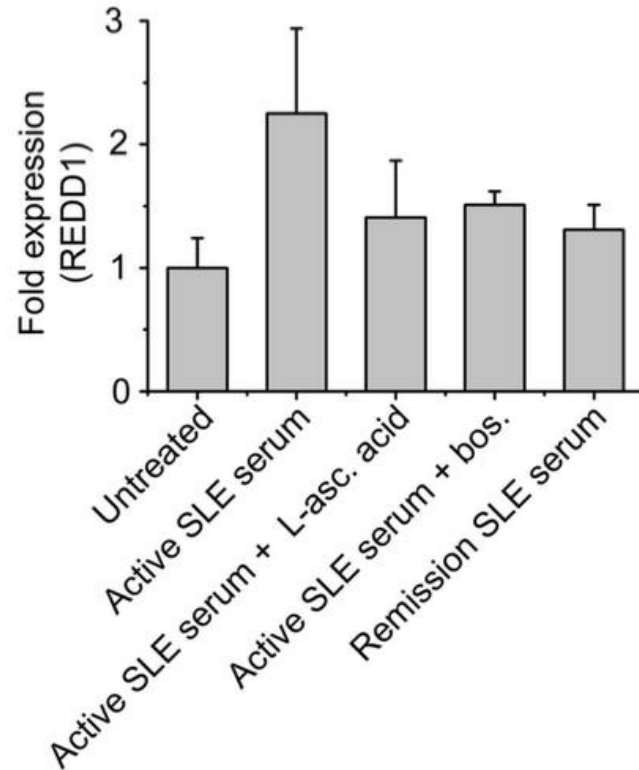
Γ. TAT Complex ELISA σε υπερκείμενα καλλιέργειας



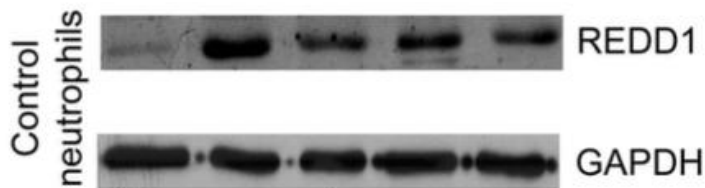
Ποιοι παράγοντες στον ορό των ασθενών με ΣΕΛ
επάγουν την αυτοφαγία στα ουδετερόφιλα;

Ο ΟΡΟΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟ ΣΕΛ ΑΥΞΑΝΕΙ ΤΟ REDD1 ΣΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

A. qPCR για REDD1



B. WB για REDD1



REDD1: Πρωτεΐνη στρες

Επάγει αυτοφαγία και NETωση στον FMF

Skendros P. et al. JACI 2017

HIF-1 α : οξυγονο-ευαίσθητος μεταγραφικός F

Ανοδικός ρυθμιστής του REDD1

Αποβάλλεται στα ούρα σε LN

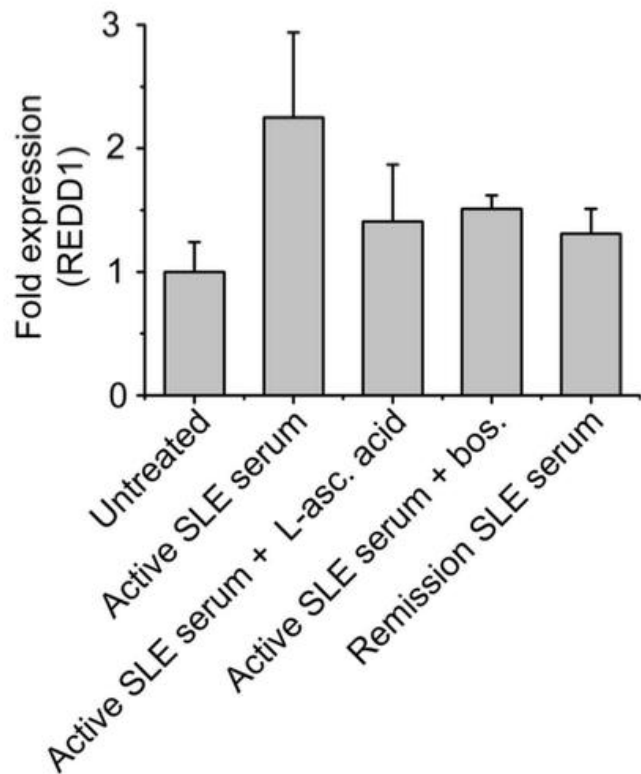
ET-1: αγγειοσυσπαστική ουσία, mTOR/αυτοφαγία

Αυξημένη στον ορό των ασθενών με ΣΕΛ

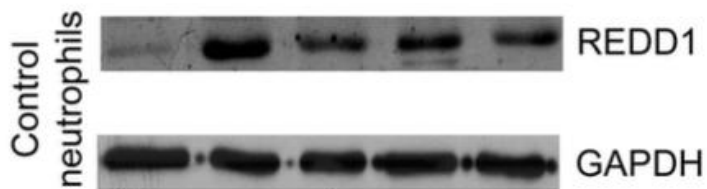
Συσχέτιση με LN και δραστικότητα ΣΕΛ

Η ET-1 ΚΑΙ Ο HIF-1 α ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΕΛ ΕΠΑΓΟΥΝ ΤΟ REDD1 ΣΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

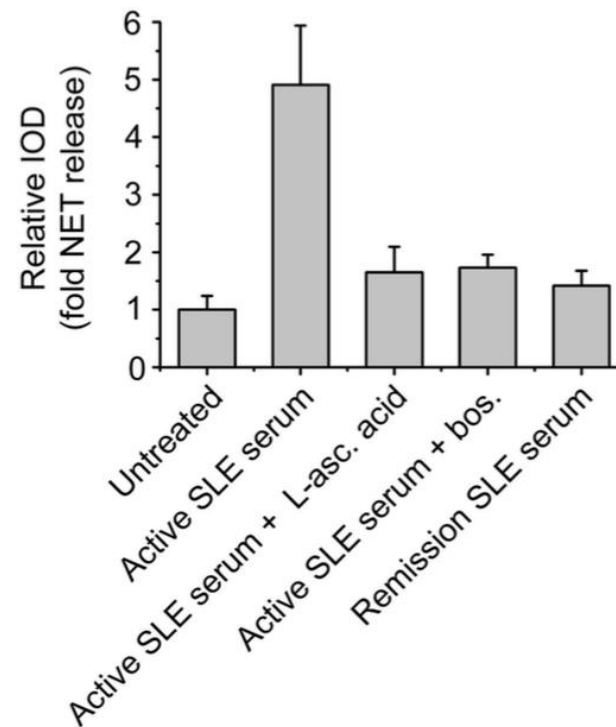
A. qPCR για REDD1



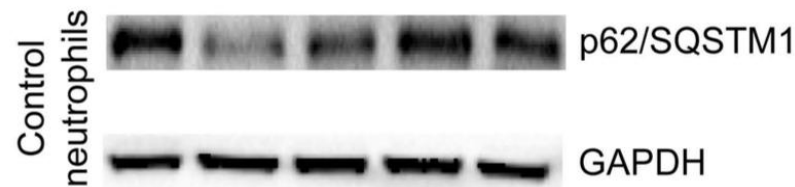
B. WB για REDD1



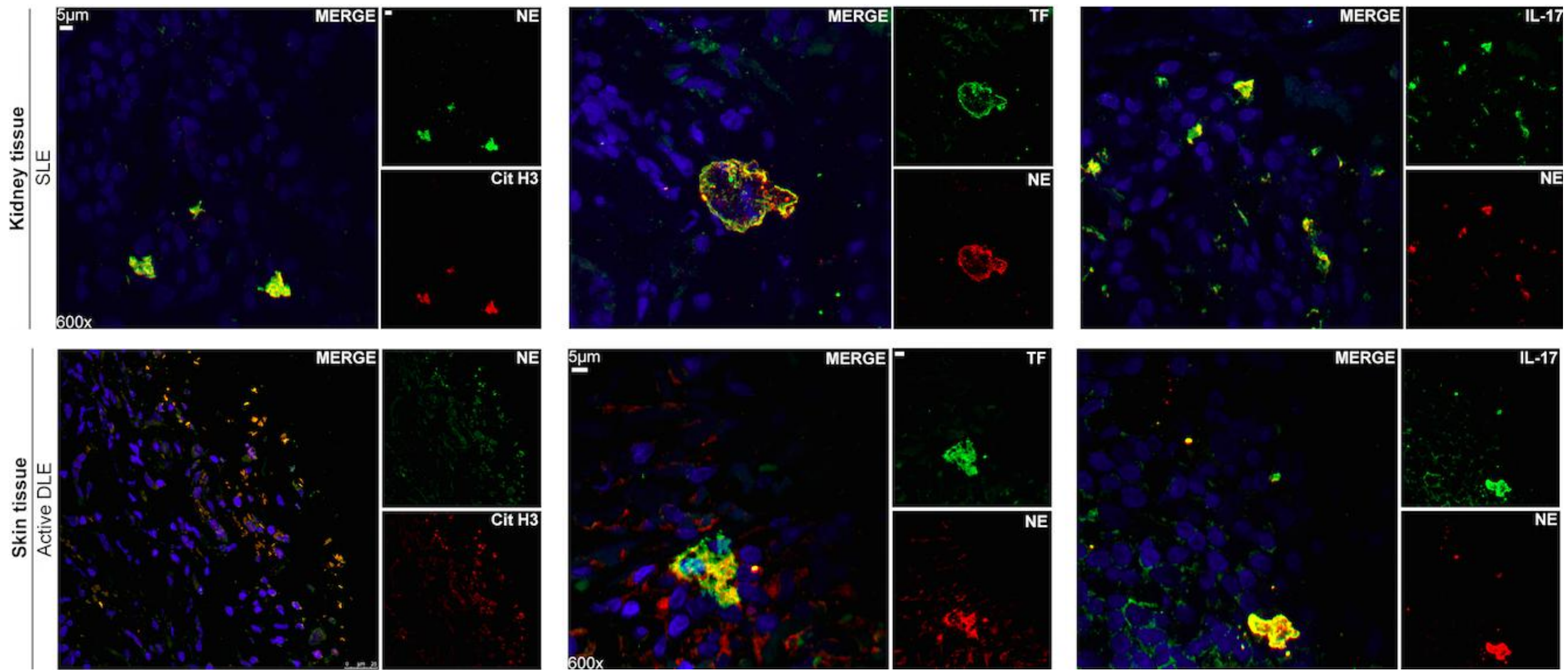
Γ. MPO-DNA Complex ELISA σε υπερκείμενα καλλιέργειας



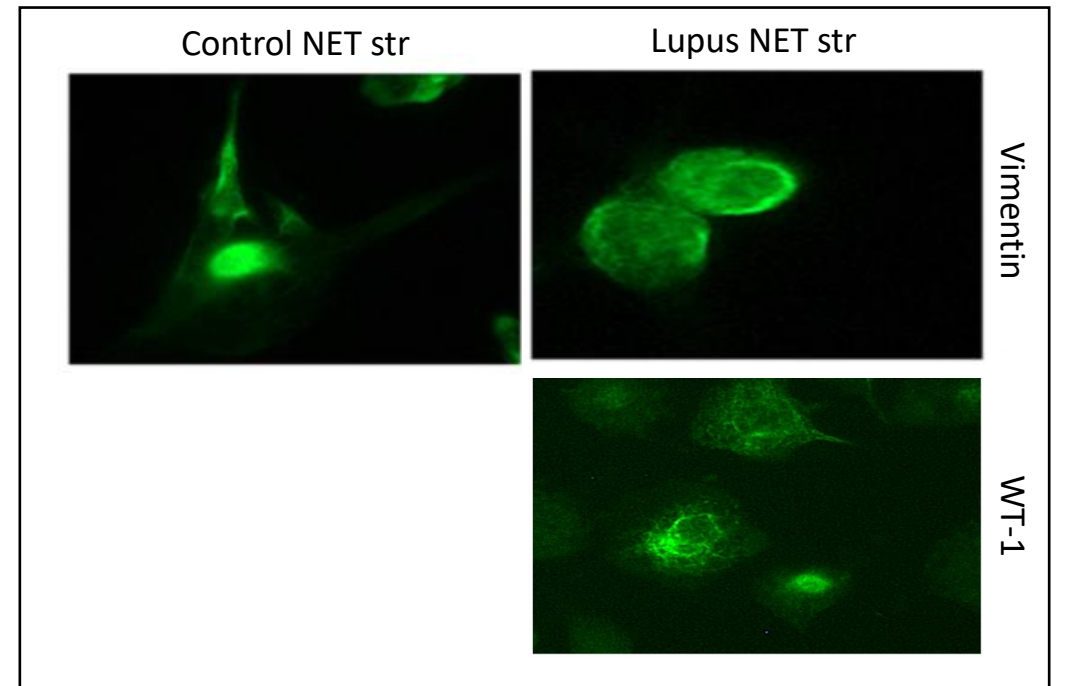
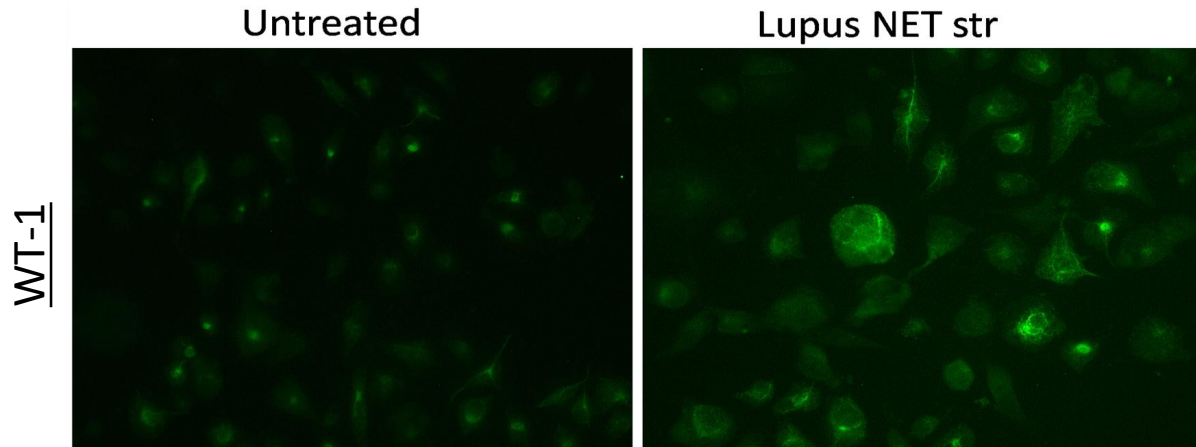
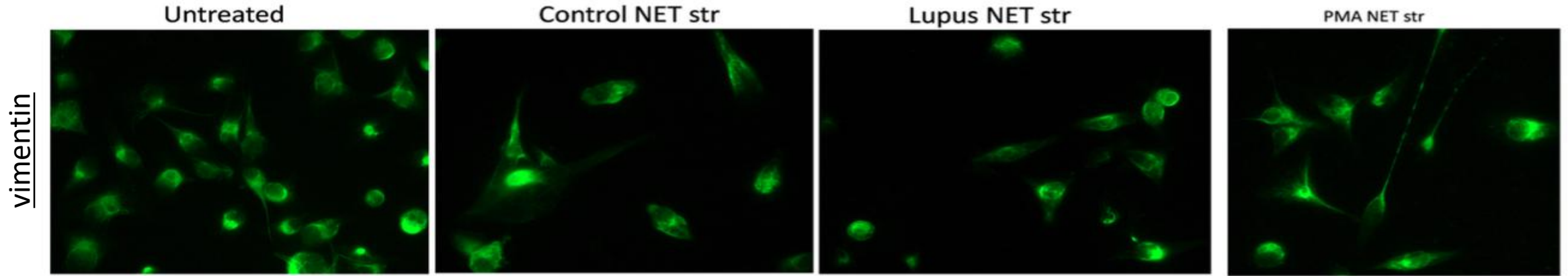
Δ. WB για p62



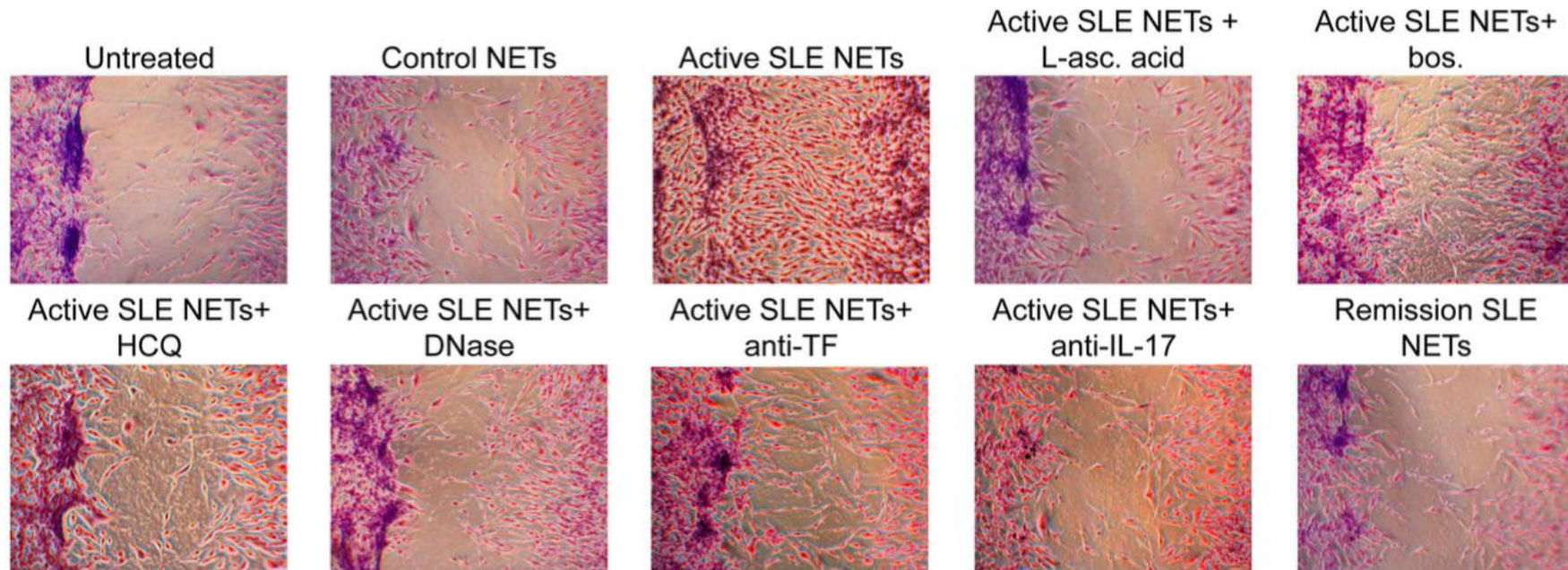
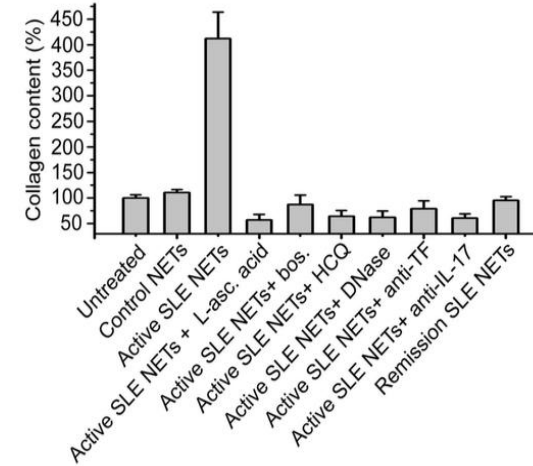
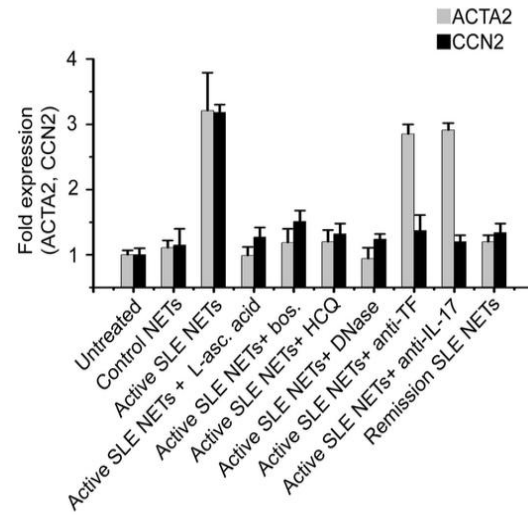
ΕΝΑΠΟΘΕΣΗ NETs ΔΙΑΚΟΣΜΗΜΕΝΩΝ ΜΕ TF ΚΑΙ IL-17 ΣΕ ΝΕΦΡΟΥΣ ΚΑΙ ΔΕΡΜΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΕΛ



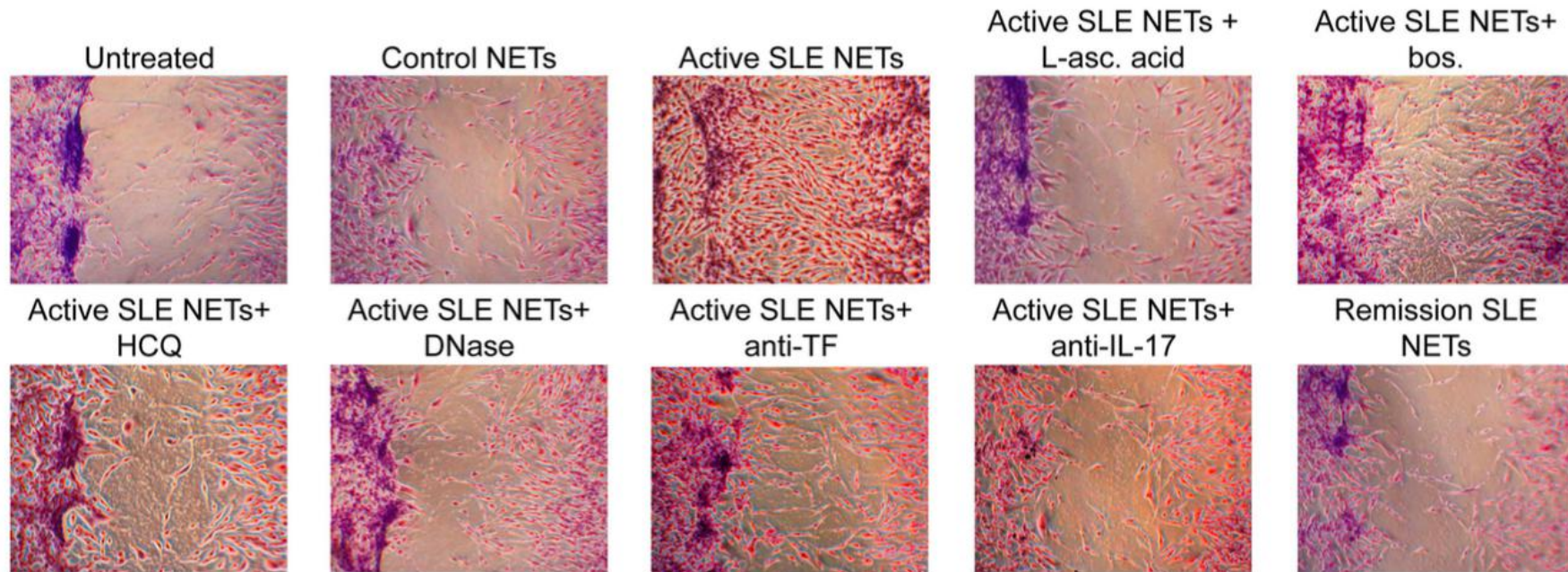
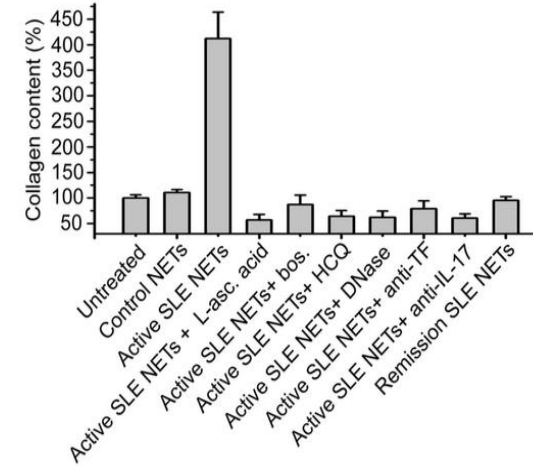
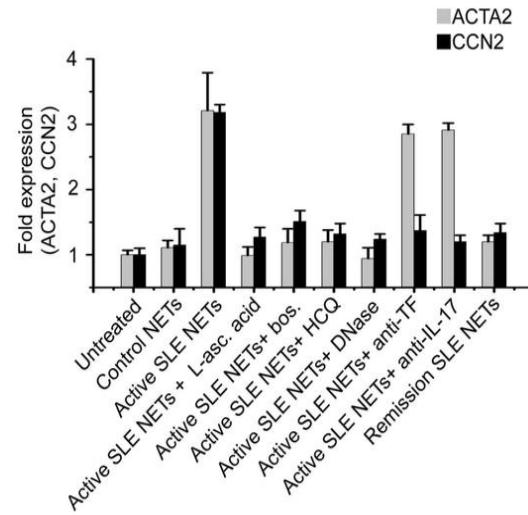
ΤΑ NETs ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟ ΣΕΛ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΠΟΔΟΚΥΤΤΑΡΩΝ



ΤΑ NETs ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΝΕΡΓΟ ΣΕΛ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΟΥΝ ΤΟΥΣ ΔΕΡΜΑΤΙΚΟΥΣ ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΣΕ ΜΥΟΪΝΟΒΛΑΣΤΕΣ



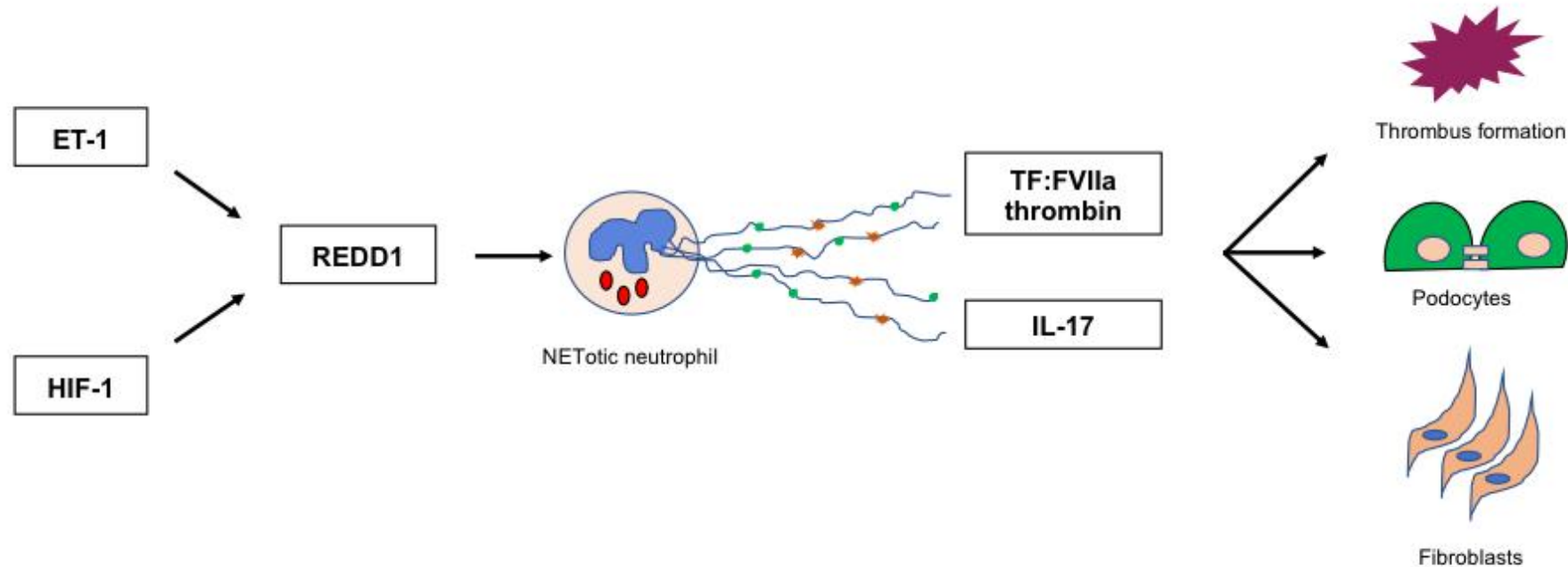
Η ΑΝΑΣΤΟΛΗ ΤΗΣ ET-1 Ή ΤΟΥ HIF-1 α ΣΤΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΚΑΙ ΤΗΣ IL-17 Ή ΤΟΥ TF ΤΩΝ NETs ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΜΕΤΑΝΑΣΤΕΥΣΗ ΤΩΝ ΜΥΟΪΝΟΒΛΑΣΤΩΝ



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΤΑ NETs ΕΙΝΑΙ ΙΚΡΥΩΜΑΤΑ ΣΥΣΣΩΡΕΥΣΗΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ (TF ΚΑΙ IL-17)

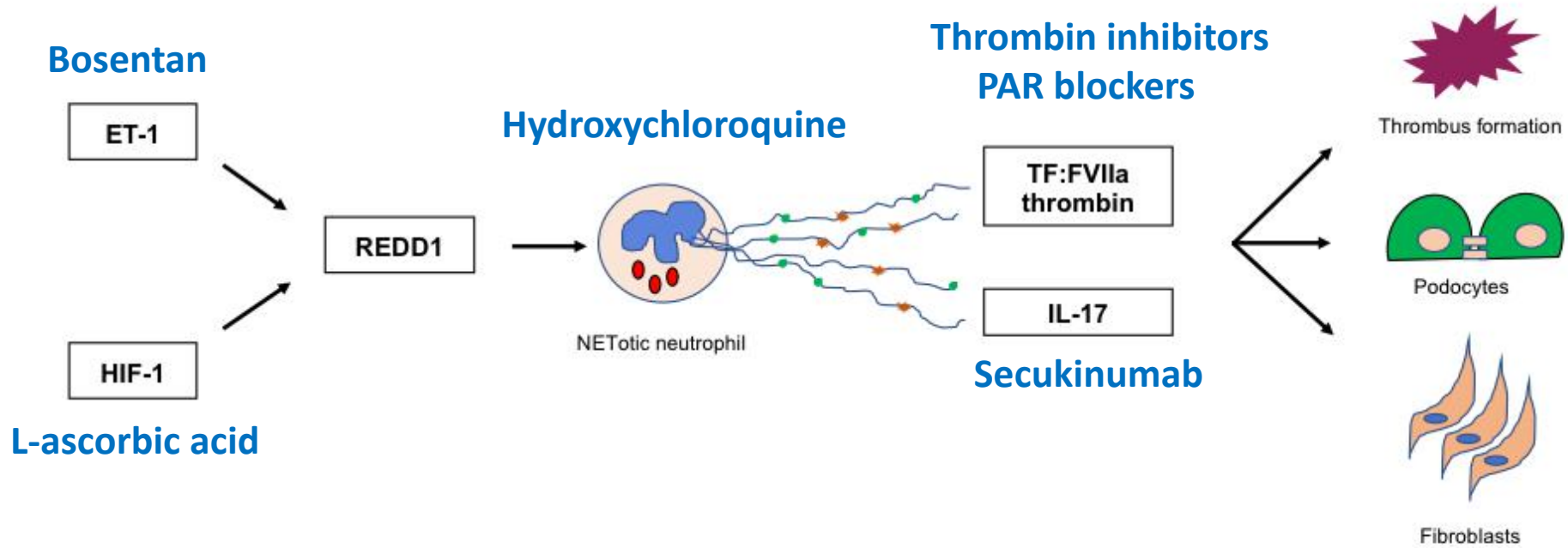
Τα NETs παραμένουν στα όργανα-στόχους ακόμα και απουσία ακέραιων ουδετεροφίλων στον ιστό



Το φλεγμονώδες περιβάλλον του ΣΕΛ (ET-1 και HIF-1α) ενεργοποιεί την οδό REDD1/αυτοφαγία στα PMNs

✓ Τα TF- και IL-17-NETs αποτελούν ένα σύνδεσμο μεταξύ αυξημένης θρομβοφλεγμονής και ίνωσης στο ΣΕΛ

ΜΟΝΤΕΛΟ ΠΟΛΛΑΠΛΩΝ ΧΤΥΠΗΜΑΤΩΝ - ΕΠΑΝΑΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΤΟ ΣΕΛ



ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ



HELLENIC REPUBLIC
**National and Kapodistrian
University of Athens**



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΡΑΚΗΣ

DEMOCRITUS
UNIVERSITY
OF THRACE



Πανεπιστήμιο Κύπρου
Ιατρική Σχολή

ACADEMY



OF ATHENS



BRFAA

BIOMEDICAL RESEARCH FOUNDATION
ACADEMY OF ATHENS

Be The Cure is an IMI funded project (EU and EFPIA effort)



Innovative Medicines Initiative



© Copyright Be The Cure 2011. All rights reserved.