

βιοδείκτες

στη διάγνωση και παρακολούθηση

αυτοάνοσων νοσημάτων

κλασική και σύγχρονη προσέγγιση



Αλεξάνδρα Τσιρογιάννη

Τμήμα Ανοσολογίας- Ιστοσυμβατότητας

Γ.Ν.Α. “ο Ευαγγελισμός”



23^ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεργάζομενης
Ιατρικής Εκπαίδευσης
Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός»



Αθήνα, 26 Φεβρουαρίου – 2 Μαρτίου 2018

Δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων
με τις παρακάτω χορηγούς εταιρείες:

NOVARTIS, JANSSEN ONCOLOGY, ABBVIE,
BRISTOL-MYERS SQUIBB, MEDTRONIC,
TAKEDA, GENESIS, MSD, PFIZER, AMGEN,
ASTELLAS, GILEAD, AENORASIS, BAXTER,
BIANEX, WINMEDICA, ABBOTT, BIOSEP,
SANOFI, ANGELINI, DEMO, ELPEN,
EDWARDS, ROCHE, RONTIS, SPECIFAR, UCB,
ΥΓΕΙΟΔΥΝΑΜΙΚΗ, MAVROGENIS

Συστηματικά Αυτοάνοσα /Ρευματικά Νοσήματα

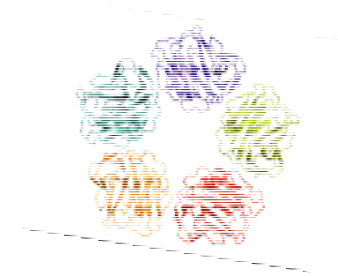
1,1% των ενηλίκων πάσχουν από κάποιο Συστηματικό Αυτοάνοσο /Ρευματικό Νόσημα (**ΣΑΡΝ**)

- Ρευματοειδής Αρθρίτιδα 0,67%
- Σύνδρομο Sjogren 0,15%
- Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος 0,05%
(Ελληνικό Ίδρυμα Ρευματολογίας)



- ✓ Ρευματοειδής Αρθρίτιδα
- ✓ Σύνδρομο Sjögren
- ✓ Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
- ✓ Συστηματική Σκλήρυνση
- ✓ Πολυμυοσίτιδα – Δερματομυοσίτιδα
- ✓ Ρευματική Πολυμυαλγία
- ✓ Νεανική Ιδιοπαθής Αρθρίτιδα
- ✓ Μεικτή Νόσος του Συνδετικού Ιστού
- ✓ Σύνδρομο επικάλυψης νοσημάτων του ΣΙ
- ✓ Μη διαφοροποιημένη νόσος του ΣΙ
- ✓ Νόσος του Still των ενηλίκων
- ✓ Αντιφωσφολιπιδικό Σύνδρομο
- ✓ Αγγειίτιδες

πρωτεΐνες οξείας φάσεως



κοινό χαρακτηριστικό των ΣΑΡΝ είναι η **φλεγμονή** με αποτέλεσμα

✓ αύξηση των :

- συμπλήρωμα,
- ΤΚΕ
- CRP
- φερριτίνη
- ινωδογόνο
- απτοσφαιρίνη
- αμυλοειδές Α

✓ μείωση των :

- αλβουμίνη
- τρανσφερρίνη
- α εμβρυική πρωτεΐνη
- πρωτεΐνη σύνδεσης ρετινόλης
- παράγοντας XII
- transthyretin

- ❖ **CRP** και **ΤΚΕ** υψηλή ευαισθησία αλλά πολύ χαμηλή ειδικότητα
- ❖ στη **ΡΑ** τα επίπεδα τους σχετίζονται με την **ενεργότητα** της νόσου, τις ακτινολογικές **μεταβολές** και τη θεραπευτική **ανταπόκριση**

αυτοαντισώματα

δείκτες

- κατάταξη
- έγκαιρη διαγνωστική προσέγγιση
- πρόγνωση
- παρακολούθηση πορείας νόσου
- αποτελεσματικότητα θεραπευτικής αγωγής



βιοδείκτες = “μετρήσιμη” παράμετρος που υποδεικνύει



- αλλαγή στην έκφραση ή στην κατάσταση μιας πρωτεΐνης
- σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης νόσου
- με την εξέλιξη μιας νόσου
- με την απάντηση σε μια δεδομένη θεραπεία

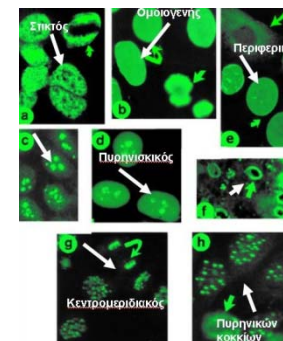
προσδιορισμό, ανάπτυξη, επικύρωση, εφαρμογή

αντιπυρηνικά αντισώματα

“απόλυτος δείκτης -hallmark”

στην προσέγγιση ή στον αποκλεισμό των **ΣΑΡΝ**

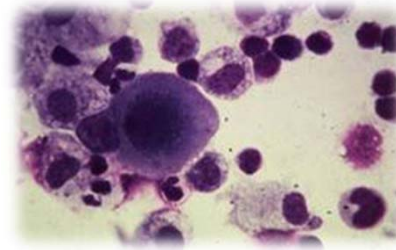
“βιοδείκτης νόσου” η ειδικότητα των ANA (DNA/ENA)



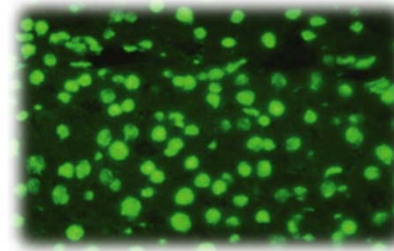
Νόσος	Συχνότητα	Τίτλος	DNA	Sm	RNP	Ro	La
ΣΕΛ	95-95%	50%>1:640	20-30%	30%	30-50%	30%	15%
σ. Sjogren	75%	χαμηλός	5%	0%	15%	50%	25%
RA	15-35%	10%>1:640	<5%	0%	10%	10%	5%
Σκληροδερμία	60-90%	συνήθως υψηλός					
φαρμακογενής ΣΕΛ	100%	υψηλός	0%	<5%	<5%	<5%	0%
φυσιολογικά άτομα	<5%	σπάνια >1:80	0%	0%	<5%	<5%	σπάνια

ιστορική αναδρομή ANA

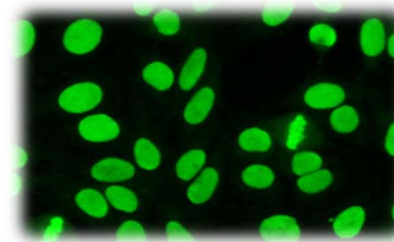
- **1948:** *Hargraves*, LE κύτταρα

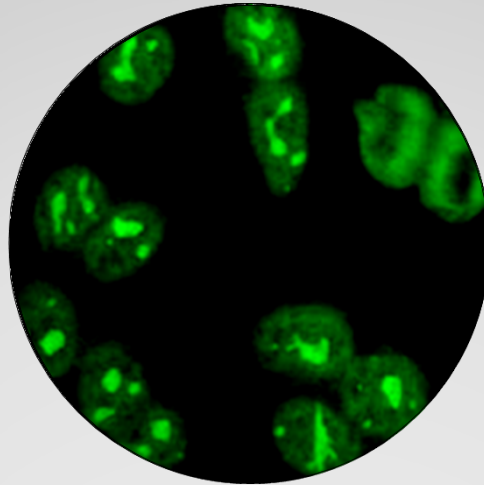
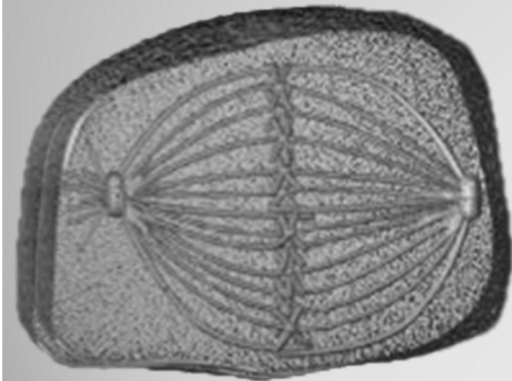


- **1957:** *Friou*, IIF ANA



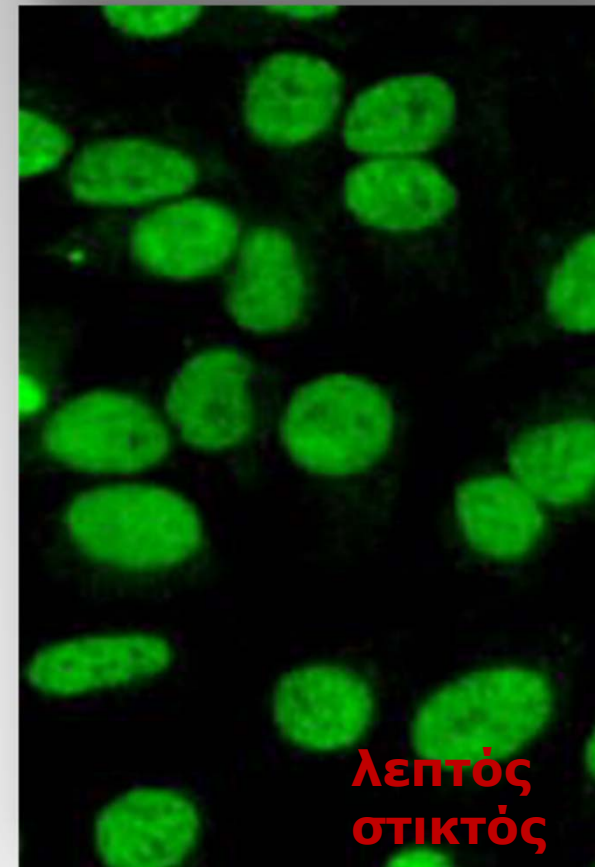
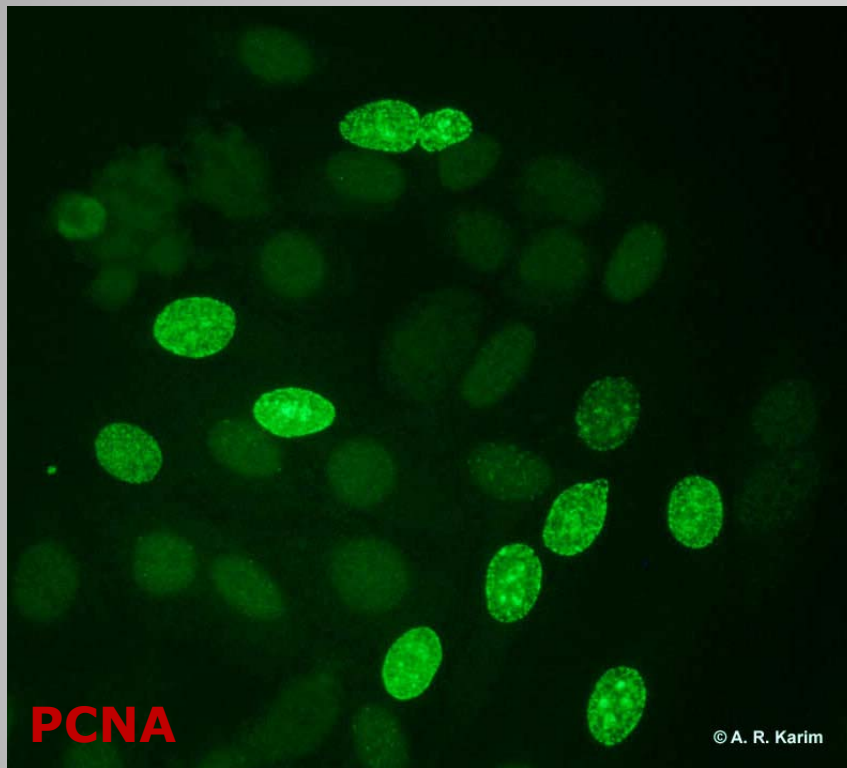
- **1975:** *Hep-2 ANA*
(2009 ACR “gold standard” μέθοδος)



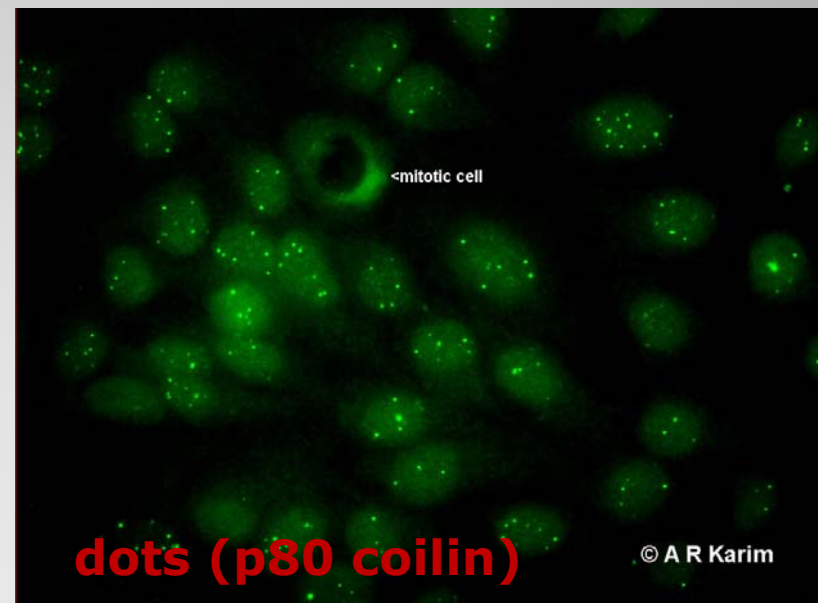
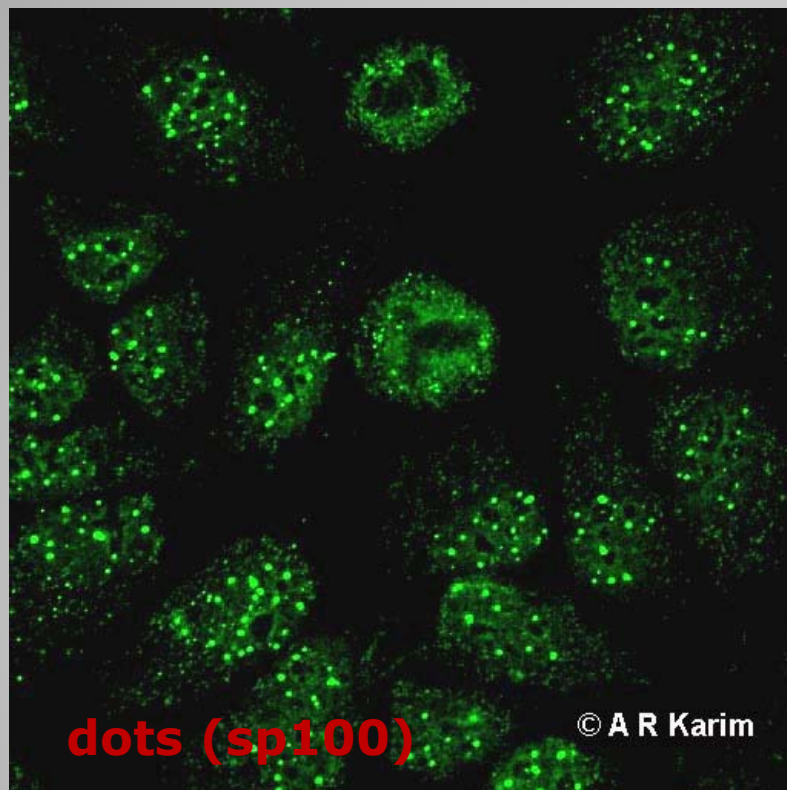


11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47
 48
 49
 50
 51
 52
 53
 54
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65
 66
 67
 68
 69
 70
 71
 72
 73
 74
 75
 76
 77
 78
 79
 80
 81
 82
 83
 84
 85
 86
 87
 88
 89
 90
 91
 92
 93
 94
 95
 96
 97
 98
 99
 100
 101
 102
 103
 104
 105
 106
 107
 108
 109
 110
 111
 112
 113
 114
 115
 116
 117
 118
 119
 120
 121
 122
 123
 124
 125
 126
 127
 128
 129
 130
 131
 132
 133
 134
 135
 136
 137
 138
 139
 140
 141
 142
 143
 144
 145
 146
 147
 148
 149
 150
 151
 152
 153
 154
 155
 156
 157
 158
 159
 160
 161
 162
 163
 164
 165
 166
 167
 168
 169
 170
 171
 172
 173
 174
 175
 176
 177
 178
 179
 180
 181
 182
 183
 184
 185
 186
 187
 188
 189
 190
 191
 192
 193
 194
 195
 196
 197
 198
 199
 200
 201
 202
 203
 204
 205
 206
 207
 208
 209
 210
 211
 212
 213
 214
 215
 216
 217
 218
 219
 220
 221
 222
 223
 224
 225
 226
 227
 228
 229
 230
 231
 232
 233
 234
 235
 236
 237
 238
 239
 240
 241
 242
 243
 244
 245
 246
 247
 248
 249
 250
 251
 252
 253
 254
 255
 256
 257
 258
 259
 260
 261
 262
 263
 264
 265
 266
 267
 268
 269
 270
 271
 272
 273
 274
 275
 276
 277
 278
 279
 280
 281
 282
 283
 284
 285
 286
 287
 288
 289
 290
 291
 292
 293
 294
 295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303
 304
 305
 306
 307
 308
 309
 310
 311
 312
 313
 314
 315
 316
 317
 318
 319
 320
 321
 322
 323
 324
 325
 326
 327
 328
 329
 330
 331
 332
 333
 334
 335
 336
 337
 338
 339
 340
 341
 342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363
 364
 365
 366
 367
 368
 369
 370
 371
 372
 373
 374
 375
 376
 377
 378
 379
 380
 381
 382
 383
 384
 385
 386
 387
 388
 389
 390
 391
 392
 393
 394
 395
 396
 397
 398
 399
 400
 401
 402
 403
 404
 405
 406
 407
 408
 409
 410
 411
 412
 413
 414
 415
 416
 417
 418
 419
 420
 421
 422
 423
 424
 425
 426
 427
 428
 429
 430
 431
 432
 433
 434
 435
 436
 437
 438
 439
 440
 441
 442
 443
 444
 445
 446
 447
 448
 449
 450
 451
 452
 453
 454
 455
 456
 457
 458
 459
 460
 461
 462
 463
 464
 465
 466
 467
 468
 469
 470
 471
 472
 473
 474
 475
 476
 477
 478
 479
 480
 481
 482
 483
 484
 485
 486
 487
 488
 489
 490
 491
 492
 493
 494
 495
 496
 497
 498
 499
 500
 501
 502
 503
 504
 505
 506
 507
 508
 509
 510
 511
 512
 513
 514
 515
 516
 517
 518
 519
 520
 521
 522
 523
 524
 525
 526
 527
 528
 529
 530
 531
 532
 533

φθορισμός πυρήνα

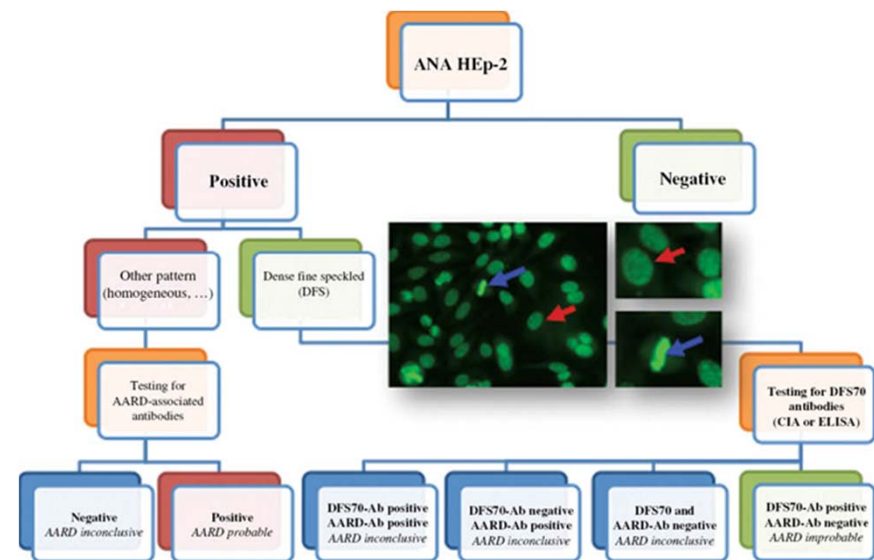
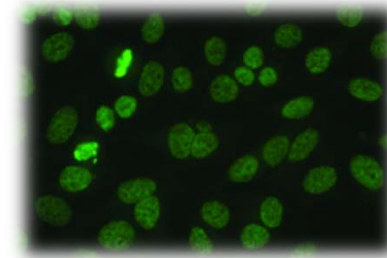


φθορισμός πυρήνα



αντι-DFS70/LEDGFp75

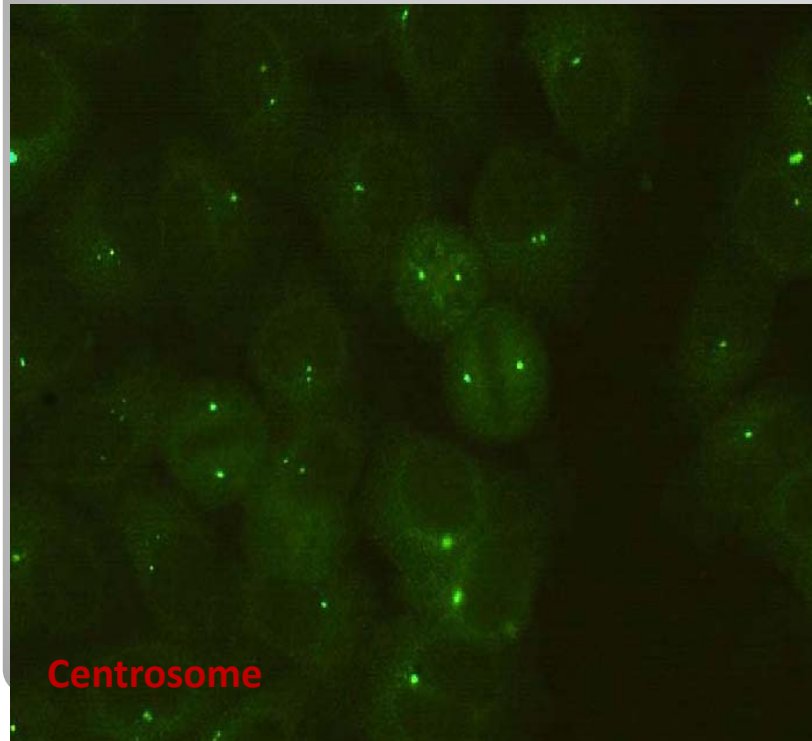
- ✓ DFS70 ή Lens epithelium-derived growth factor protein of 75 kD = **αυτοαντιγόνο**
- ✓ αναγνωρίστηκε το 1990 στη **διάμεση κυστίτιδα** και το 2000 στην **ατοπική δερματίτιδα**
- ✓ συχνότητα 0,8% -11% στο γενικό πληθυσμό
- ✓ >1/3 των ατόμων με **ANA θετικά**
- ✓ **δείκτης αποκλεισμού** ΣΑΡΝ όταν είναι η μοναδική θετική παράμετρος
- ✓ **ICAP** (2014) προτείνει την αναφορά του στον αλγόριθμο σαν ιδιαίτερος φθορισμός
- ✓ επιβεβαίωση του IIF και με άλλες τεχνικές



φθορισμός μίτωσης

σκληρόδερμα

σ. Raynaud



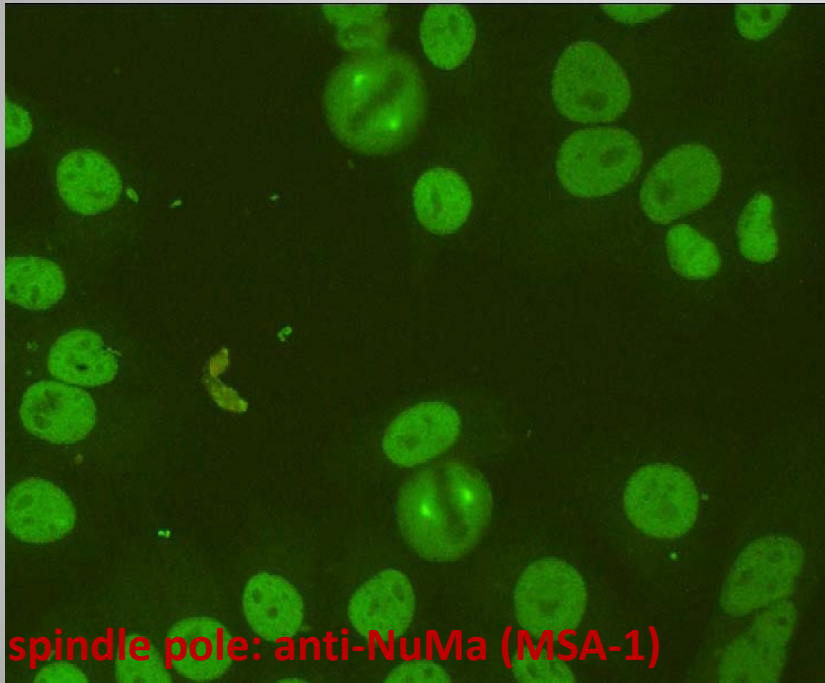
ΣΕΛ

σ. Sjögren



φθορισμός μίτωσης

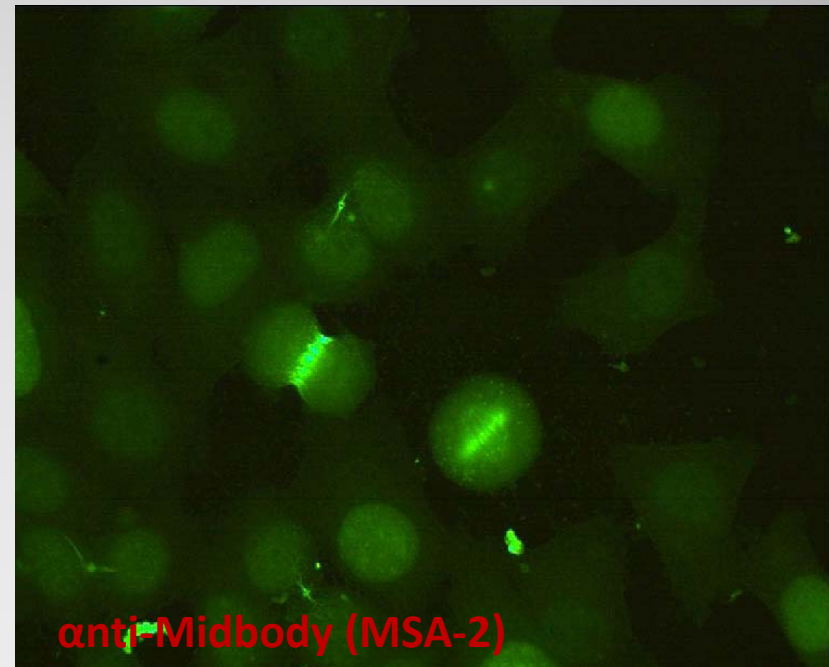
πνευμονία από μυκόπλασμα



spindle pole: anti-NuMa (MSA-1)

σκληρόδερμα

σ.Raynaud



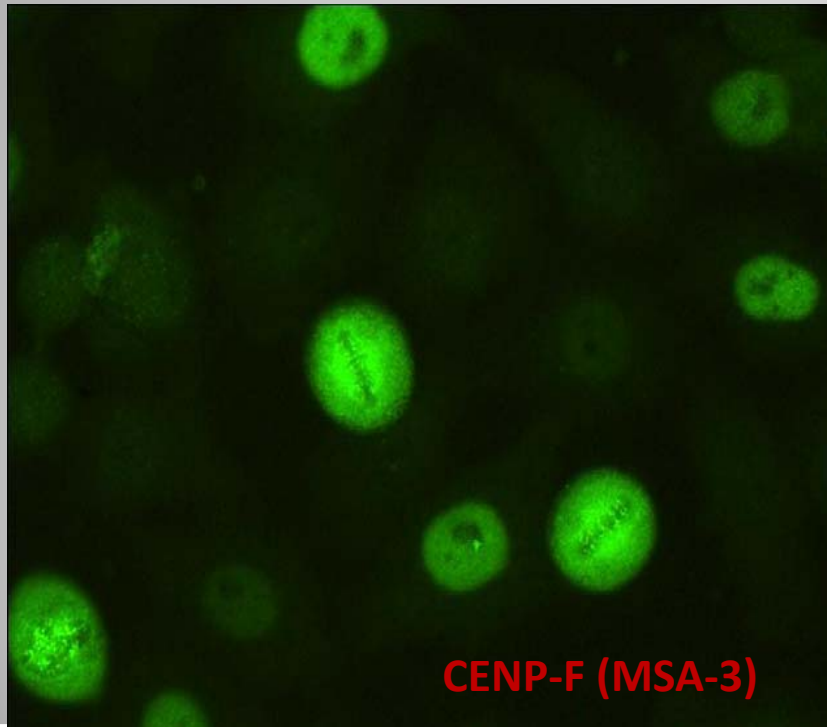
anti-Midbody (MSA-2)

φθορισμός μίτωσης

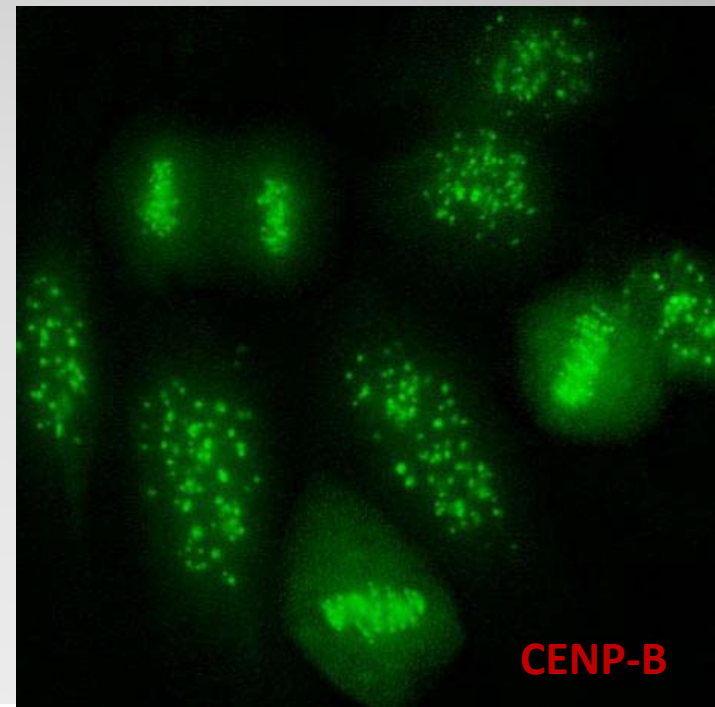
καρκίνος μαστού, πνεύμονα

NHL

σ. Crest



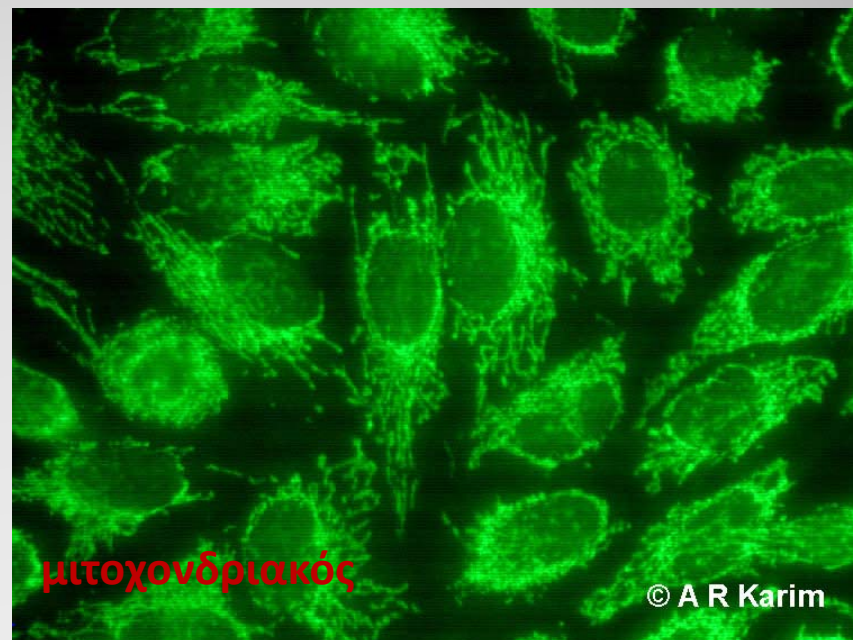
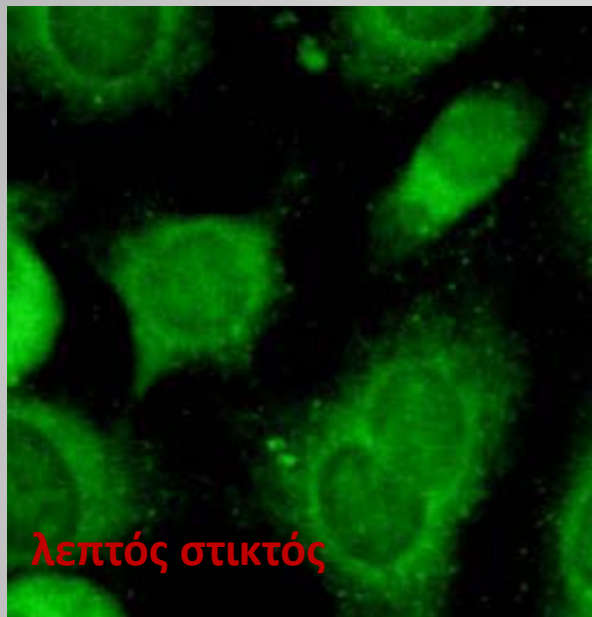
CENP-F (MSA-3)



CENP-B

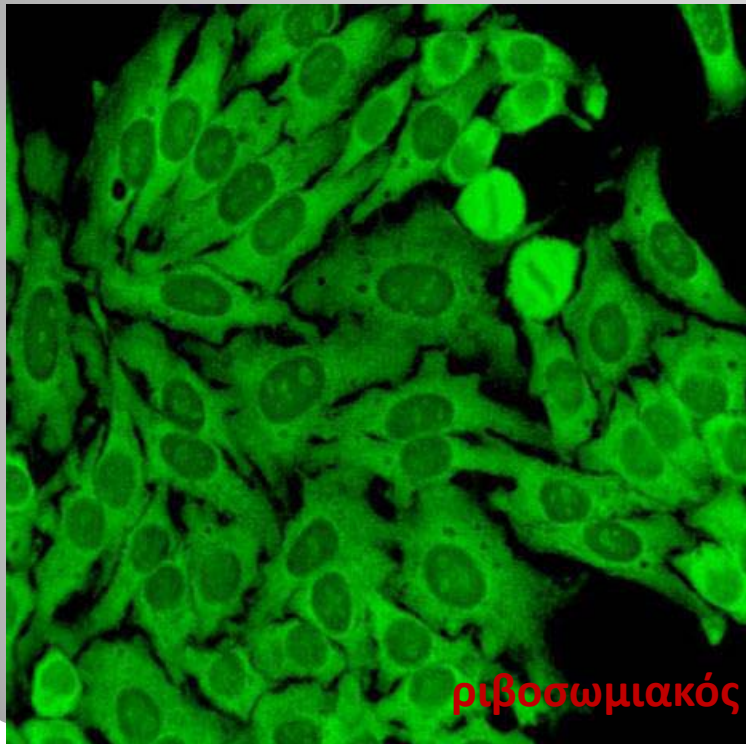
κυτταροπλασματικός φθορισμός

πρωτοπαθής χολική κίρρωση

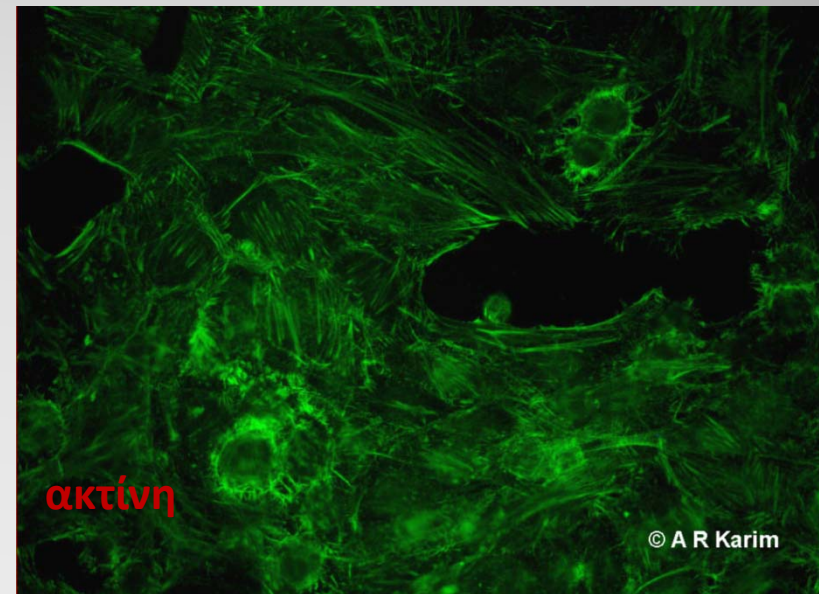


κυτταροπλασματικός φθορισμός

ΣΕΛ (ΚΝΣ, νεφρίτιδα)



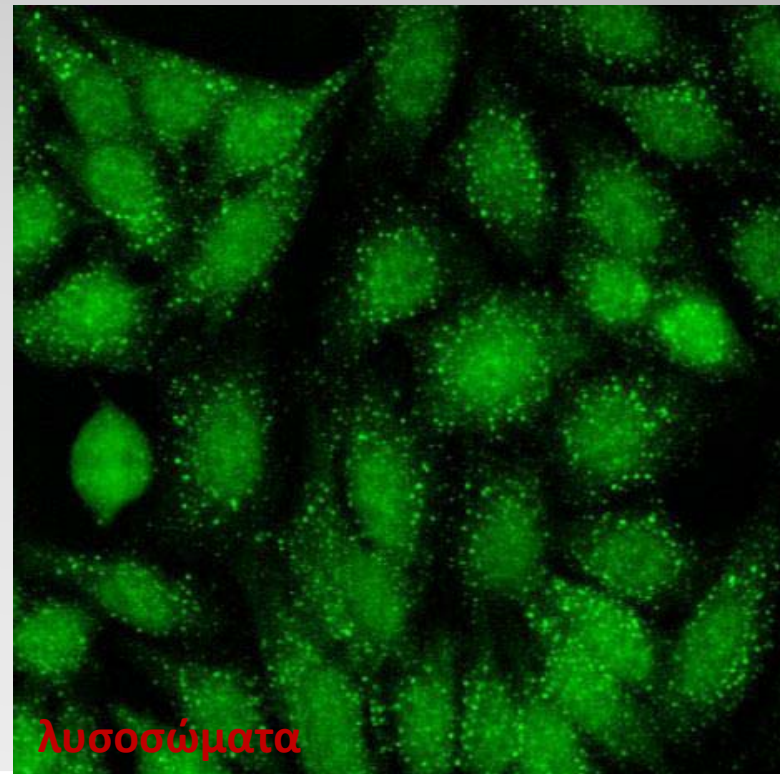
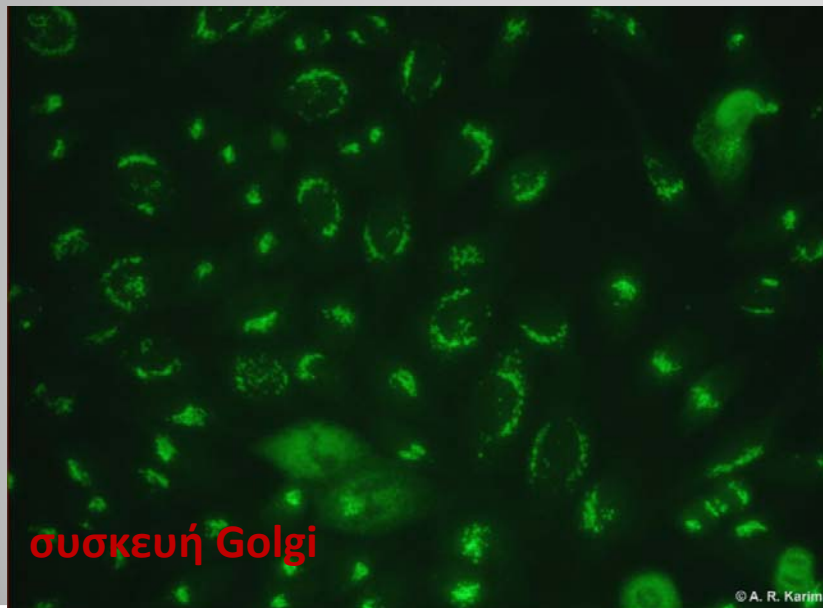
χρόνια ενεργός ηπατίτιδα



κυτταροπλασματικός φθορισμός

ΣΕΛ, ΡΑ

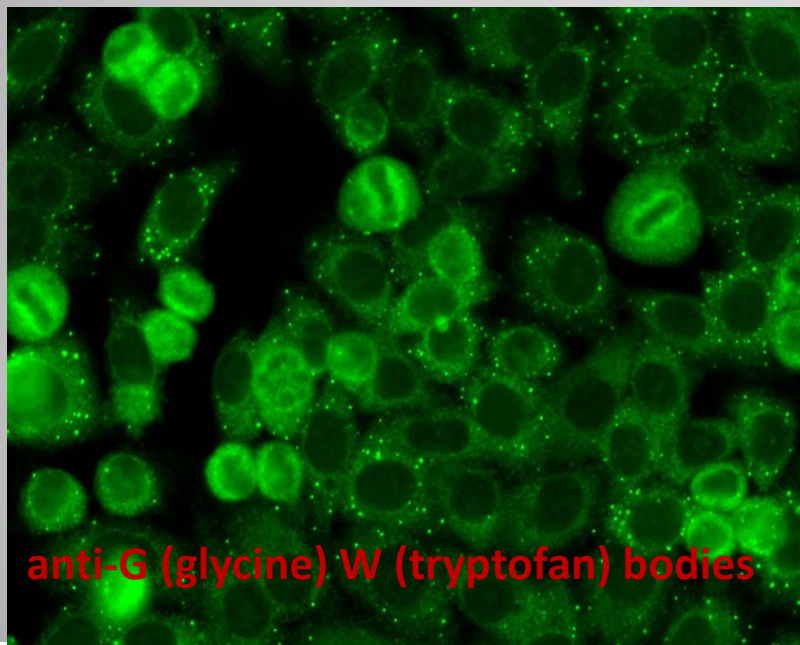
σ. Sjögren



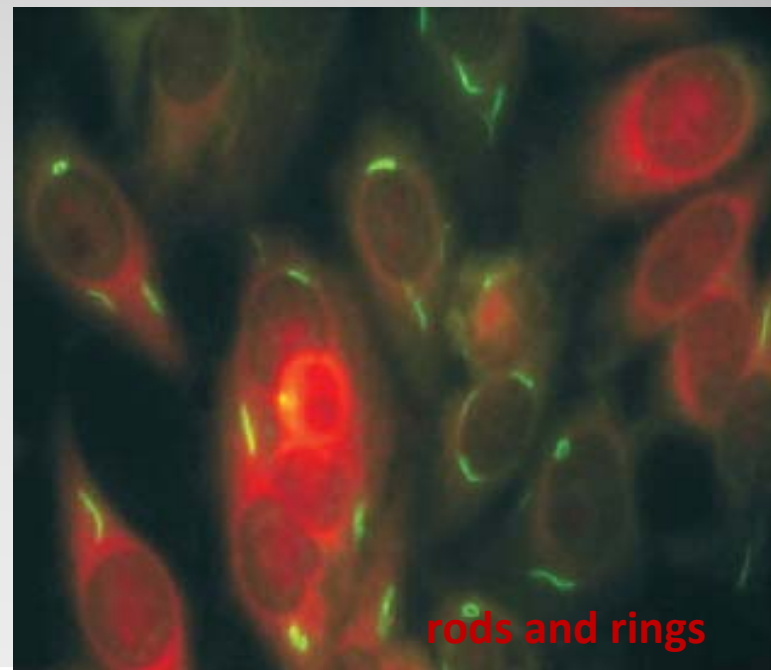
κυτταροπλασματικός φθορισμός

νευρολογικές διαταραχές (αταξία)

σ. Sjogren, ΠΧΚ



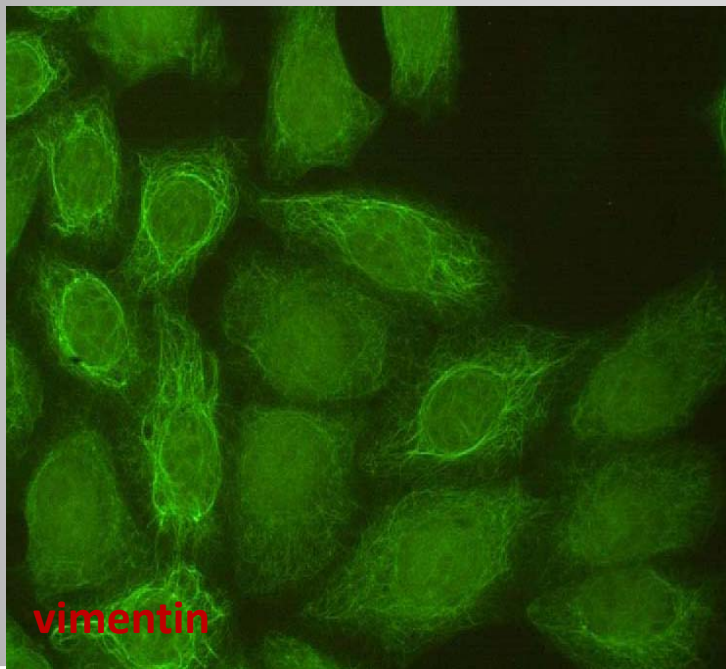
HCV υπό interferon/ribavirin



κυτταροπλασματικός φθορισμός

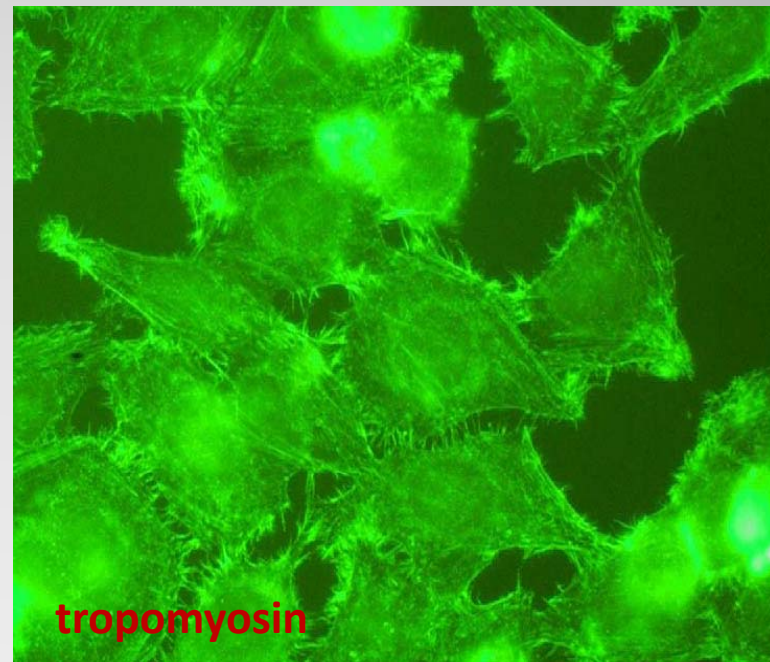
???

PA



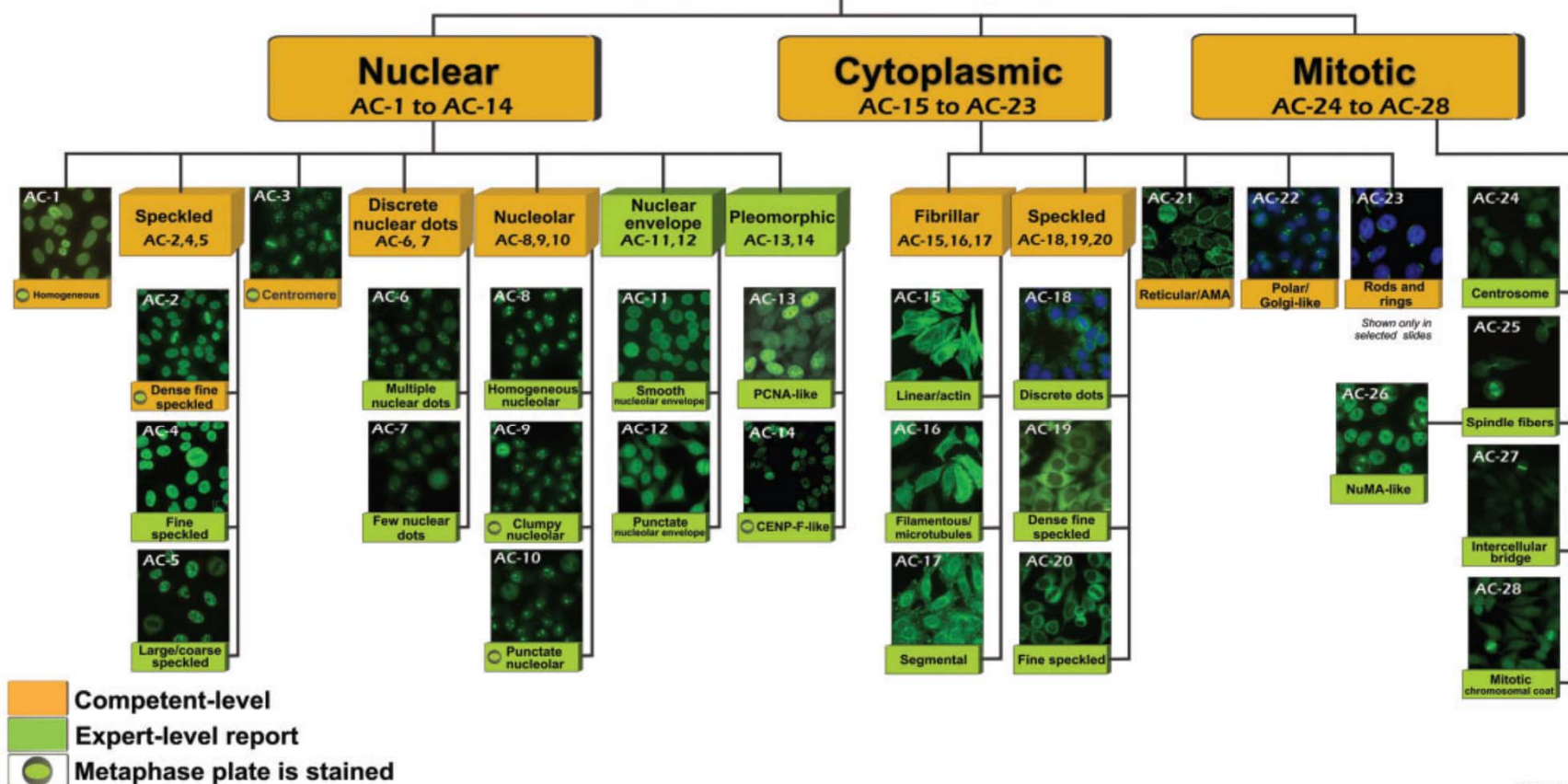
ελκώδη κολίτιδα ??

ν. Αδαμαντιάδη-Behcet ??





ANA patterns INTERNATIONAL CONSENSUS



The European autoimmunity standardization initiative

Most commonly recognised patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Homogeneous	dsDNA, histones, chromatin/nucleosomes, HMG	SLE, drug induced SLE/vasculitis, JIA
Coarse speckled	U1-SnRNP, U2-6 snRNP (Sm), nuclear matrix	MCTD, SLE, Raynaud, SSc, SS, UCTD
Fine speckled	SSA/Ro, SSB/La, Topo-1, common to many antigens	SLE, SS, SSc, IM, MCTD
Centromere	Kinetochore: CENP-A, B, C, F	SSc (limited), Raynaud's
Nucleolar	PM/ScI, RNA-polymerase, URNP, U3-RNP, To/Th, B23 phosphoprotein/numatrin	SSc, Raynaud's, IM, overlap
Cytoplasmic patterns	Related antigens	Related diagnosis
Diffuse	RibP, Jo-1, other tRNA synthetases, SRP	SLE, IM
Fine speckled	Jo-1, SRP, PDH (mitochondria)	IM, DM, PBC, interstitial lung disease
Less commonly recognised patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Peripheral/rim or nuclear envelope	Lamins, LAP1/2 gp210, nucleoporin p62; nuclear envelope and nuclear pore complex antigens	SLE, RA, PBC, IM autoimmune liver diseases
Dense fine speckled	DFS70/LEDGF-P75	Healthy subjects and other inflammatory conditions
Pleomorphic cell cycle speckled (PCNA)	Auxiliary protein proliferating cell nuclear antigen: elongation factor of DNA polymerase delta	SLE, lymphoproliferative diseases, SS
Nucleolar (clumpy)	U3-SnRNP (fibrillarin)	SSc
Multiple/few nuclear dots	Sp100, PML bodies, p80-coilin	PBC, CAH, SS
Centrosome/centriole (formerly:spindle apparatus)	Enolase, ninein, pericentrin	SSc, Raynaud's, inflammatory disease
MSA (mitotic spindle)	NuMA/centrophilin	RA, inflammatory conditions; pneumonia (mycoplasma)
Cytoplasmic patterns	Related antigens	Related diagnosis
Discrete speckled	Endosome (early endosome antigen 1), GW/Processing bodies, multivesicular bodies/lysosomes	Neurological conditions, SS, SLE, RA, PBC, UCTD
Golgi complex	Golgi proteins/golgins: giantin, golgin 245, golgin 110, golgin 97, golgin 95, others	SLE, SS, RA, overlap syndromes, cerebellar ataxia
Cytoplasmic fibres	Actin, cytokeratin, tropomyosin, vimentin	CAH, DM, infections and other inflammatory diseases

αυτοαντισώματα

είναι χρήσιμα όταν:

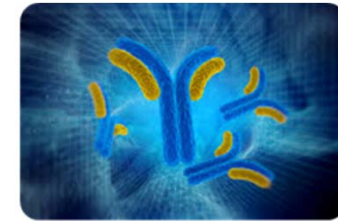
- ✓ το εργαστήριο είναι εξοικειωμένο με τα διαφορετικά είδη φθορισμού
- ✓ η κλινική ζητά τις κατάλληλες/απαραίτητες παραμέτρους και αξιολογεί ορθά τα αποτελέσματα
- ✓ υπάρχει στενή συνεργασία και μεταξύ εργαστηρίου και κλινικής

είναι σημαντικά στην κλινική πρακτική

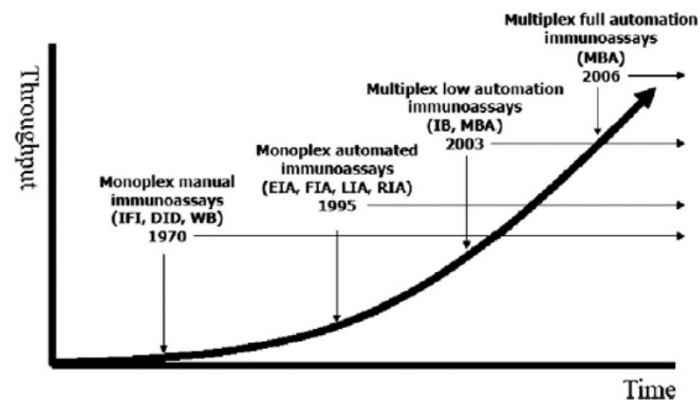
- ✓ με ποιά μέθοδο προσδιορίστηκαν
- ✓ ποιος είναι ο τίτλος/επίπεδα που αξιολογούνται θετικά

παιδιά 1/40
ενήλικες 1/160

- ✓ τότε και ποιά ειδικότητα αναζητούμε



εξέλιξη στη διερεύνηση AAbs



Autoimmunity Reviews 11; 2012

Table 2

Classification of immunoassay methods for autoantibody detection.

1st-generation monoplex immunoassay methods	
Double immunodiffusion	ID
Complement fixation	CF
Indirect immunofluorescence	IIF
Passive agglutination	PHA, LPA
Radio-immunoprecipitation	RIPA
Western blot	WB
2nd- and 3rd-generation monoplex immunoassay methods	
Radioimmunoassay, Immunoradiometric assay	RIA-IRMA
Radio-receptor assay	RRA
Enzyme immunoassay	ELISA, IEMA
Immunoblot	IB
Immunodot	DB
Chemiluminescent immunoassay	CLIA-ILMA
Fluoroimmunoassay	FIA-IFMA
Multiplex immunoassay methods	
Addressed microbead immunoassay	MBA
Line immunoassay	LIA

Table 2. Concordance of analytic results between conventional and multiplexed immunoassays in the detection of the fine specificity of ANAs*

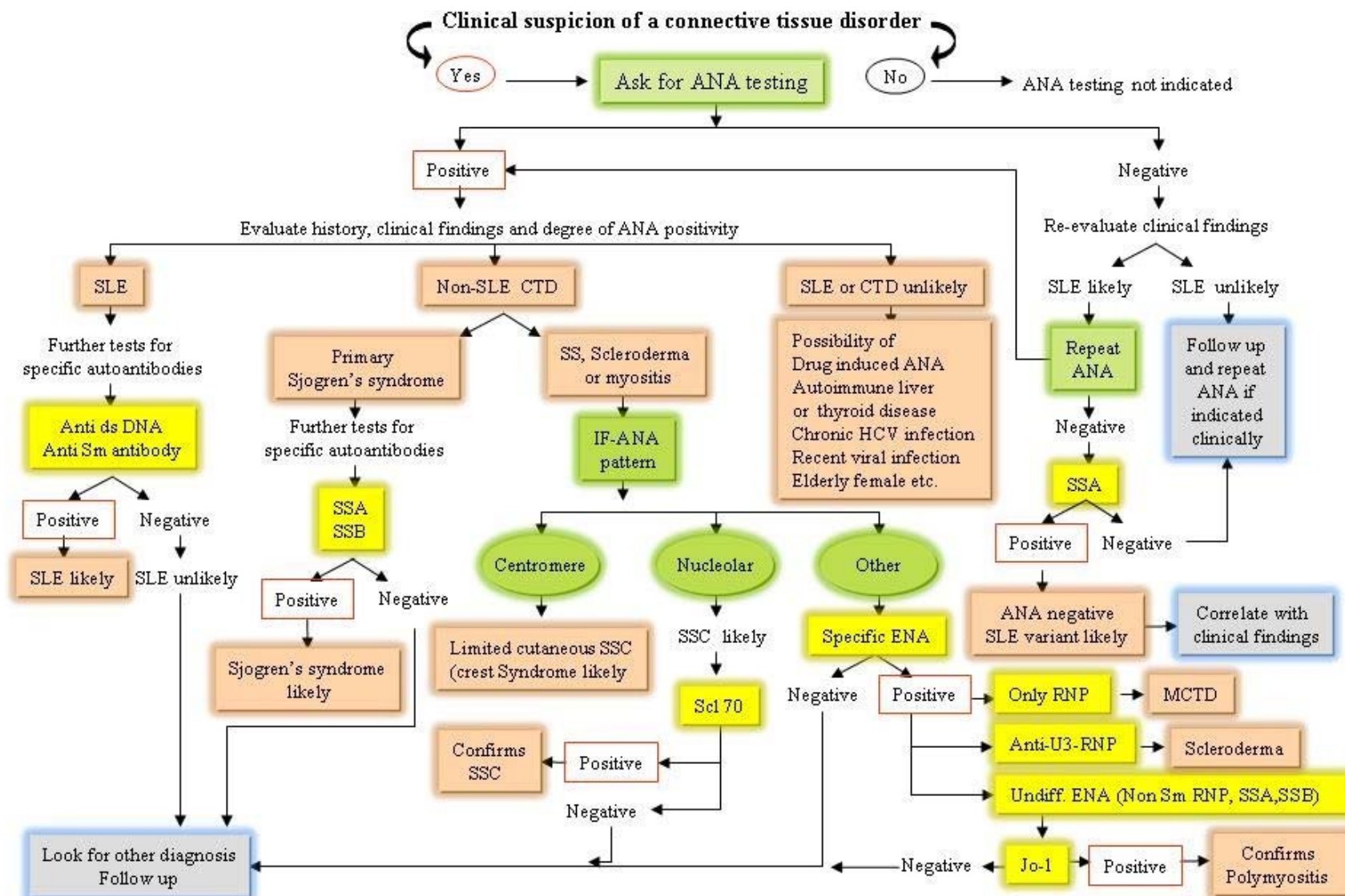
Author, year (ref.)	System	Autoantibodies tested	Concordance, %
Binder, 2006 (70)	BioPlex 2200	Anti-dsDNA, antichromatin, anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-Scl-70, anti-CENP-B, anti-Jo-1, anti-ribosomal P	88.5–100
Smith et al, 2005 (69)	UltraPlex	Anti-dsDNA, anti-U1 RNP, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-Scl-70, anti-Jo-1, anti-CENP-B	93.3–100
Gilburd et al, 2004 (64)	AtheNA Multi-Lyte	Anti-dsDNA, anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-Scl-70, anti-Jo-1, anti-CENP-B, antihistone antibodies	94.7–99
Martins et al, 2004 (66)	QuantaPlex	Anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-Scl-70	93.6–99.1
Rouquette et al, 2003 (61)	FIDIS	Anti-dsDNA, anti-RNP, anti-Sm, anti-Ro, anti-La, anti-Scl-70, anti-Jo-1, anti-ribosomal P, anti-CENP-B	99.1–100

The European autoimmunity standardization initiative

Recommendation

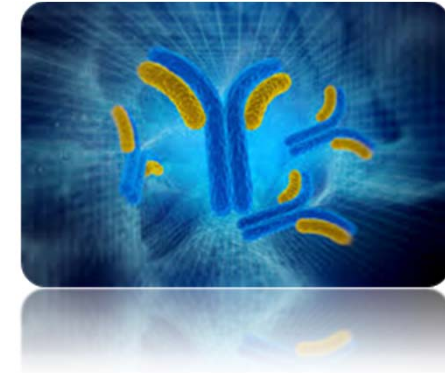
- 1 The diagnosis of SARD requires a panel of specific laboratory tests (ie, ANA, anti-dsDNA and anti-ENA antibodies)
- 2 ANA, anti-dsDNA and anti-ENA testing should be included in the autoantibodies detection as part of the diagnostic work-up of SARD as well as some other autoimmune diseases
- 3 **The detection of ANA is the first level test for laboratory diagnosis of SARD**
- 4 ANA testing is primarily intended for diagnostic purposes, and not for monitoring disease progression
- 5 **The IIFA* is the reference method for ANA screening.** Alternative assays can be used while keeping in mind that false negative and false positive ratio of these methods may be different. Thus, if the clinical suspicion is strong and the alternative method is negative, it is mandatory to perform IIFA
- 6 Diagnostic laboratories should specify the methods used for detecting ANA when reporting their results
- 7 Tests based on a (restricted) mixture of defined nuclear antigens should not be referred to as ANA test or ANA screen
- 8 Laboratories using in-house assays for detecting ANA, as well as anti-dsDNA and specific anti-ENA antibodies, should standardise each assay according to international standards
- 9 For ANA screening by IIFA the conjugate should consist of fluorochrome-labelled anti-human IgG-specific secondary antibodies
- 10 A proper ANA–IIFA is dependent on reagents, equipment and other local factors, thus the screening dilution should be defined locally. An abnormal ANA should be the titre above the 95th percentile of a healthy control population. **In general, a screening dilution of 1 : 160 on conventional HEp-2(000) substrates is often suitable for the detection of ANA in adult populations being evaluated for SARD**
- 11 In the case of a positive ANA test, it is recommended that the pattern and the highest dilution to demonstrate reactivity be reported
- 12 ANA–IIFA patterns should be reported according to standardised terminology
- 13 Besides nuclear patterns also cytoplasmic and mitotic apparatus patterns should be reported and specified when possible
- 14 **If ANA result is positive, testing for anti-dsDNA antibodies is advised when there is clinical suspicion of SLE**
- 15 For anti-dsDNA antibody determination, **the Farr assay and the CLIFT** offer high clinical specificity. Alternative methods may yield lower specificity and, if so, it is recommended that positive results obtained by these methods be confirmed by CLIFT or Farr assay—and be reported separately
- 16 The method used for anti-dsDNA antibody detection should be included in the test result
- 17 Results of anti-dsDNA antibody detection should be reported quantitatively (or semiquantitatively for CLIFT)
- 18 For monitoring of SLE disease activity by quantitative determination of anti-dsDNA antibodies the same method should be used
- 19 **In case of a positive ANA test during the diagnostic work-up (depending on pattern, titre and/or clinical setting), it is recommended to perform specific tests for anti-ENA antibodies**
- 20 For anti-ENA antibodies detection the method used should be reported. In the case of discrepancy with IIFA or with clinical suspicion, the use of an additional method should be considered
- 21 **Results of assays for antibodies to specific ENA should be reported separately** (including negative results); if the result of a screening assay is reported as negative, it is sufficient to communicate which ENA are present in that assay
- 22 **Quantitative determination of positive anti-RNP antibodies is recommended in case of a clinical suspicion of mixed connective tissue disease**
- 23 In case of high clinical suspicion the physician request for determination of antibodies to specific ENA should be granted, irrespective of the result of the ANA test. For instance, anti-Jo-1 antibodies for clinically suspected IM, anti-ribosomal P for SLE or anti-SS-A/Ro antibodies for congenital heart block/neonatal lupus/Sjögren's syndrome/subacute cutaneous lupus
- 24 Each laboratory should verify the recommended cut-off for kits used to determine ANA. It is recommended to use age and gender matched sera from healthy subjects from the general local population; cut-offs should be defined as the 95th percentile
- 25 **Each laboratory should verify the recommended cut-off for kits used to determine anti-dsDNA and anti-ENA antibodies.** It is recommended to use an adequate number of samples from patients with the appropriate autoimmune diseases, disease controls and healthy controls; cut-offs should be defined using ROC curve analysis

Guidelines of ANA and specific autoantibody testing



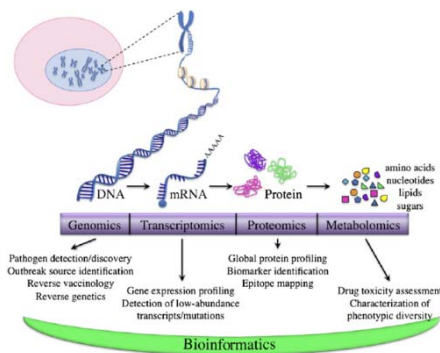
από τους δείκτες ... στους βιοδείκτες

- ✓ το ¼ γενικού πληθυσμού = θετικά ANA
- ✓ ετερογένεια και ποικιλομορφία κλινικών εκδηλώσεων
- ✓ άτυπη/επικαλυπτόμενη συμπτωματολογία
- ✓ μη κάλυψη των ACR κριτηρίων – καθυστέρηση της διάγνωσης (21.8 μήνες από το πρώτο σύμπτωμα)



“omics”

genomics, transcriptomics,
epigenomics, proteomics,
metabolomics...



- ✓ έγκαιρη διάγνωση-πρώιμα στάδια
- ✓ προδιάθεση/πρόγνωση στην προσβολή οργάνων
- ✓ παρακολούθηση ενεργότητας νόσου
- ✓ σχεδιασμός στοχευμένης θεραπείας
- ✓ εκτίμηση αποτελεσματικότητας/τοξικότητας φαρμάκων

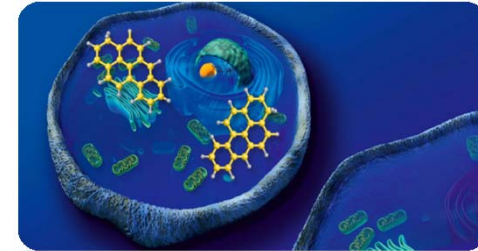
από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

- ✓ κυτταροκίνες είναι σημαντικοί υποψήφιοι βιοδείκτες
- ✓ *miRNAs* εκφράζονται αυξημένα στα περιφερικά κύτταρα στο ΣΕΛ



Biomarker	Expression in Lupus	Correlation with Lupus Activity	SLE Disease Association
IFN	↑ (serum)	Positively correlated	Central nervous system (CNS) lupus, fever
IFN inducible genes	↑ (serum, urine)	Positively correlated with SLEDAI, correlated with flares and remission periods of SLE	severe SLE course (CNS, hematologic and renal manifestations)
IL-6	↑ (serum, urine, BALF)	Positively correlated with SLEDAI	Lupus nephritis, increase anti-dsDNA level, CNS
BLyS	↑ (serum, plasma)	Positively correlated with SELENA	anti-dsDNA level, not associate with specific organ system involvement
IL-10	↑ BALF	Not significantly correlated with disease activity	Increase anti-dsDNA
IL-17	↑ (serum, kidneys)	Correlated with disease activity	Lupus nephritis
TNF	↑ (serum, kidneys)	Correlated with disease activity?	Lupus nephritis
IL-12	↑ (serum, urine)		Lupus nephritis
miR-21	↑ (PBMCs)	Positively correlated with SLEDAI score, correlated with flares and remission periods	DNA hypomethylation , not associate with specific organ system involvement
miR-125a	↓ (CD4+ T cells, urine)	Inversely correlated with SLEDAI score	Lupus nephritis (GFR and creatinine ratio)
miR-126	↑ (PBMCs)	Positively correlated with disease activity	DNA hypomethylation not associate with specific organ system involvement
miR-148a	↑ (PBMCs)	Positively correlated with SLEDAI score	DNA hypomethylation not associate with specific organ system involvement

ΣΕΛ μέσα από τα... “omics”



	Technology	Potential markers of SLE
DNA mRNA Protein Metabolite	Genomics	<i>AFF1, APOBEC4, ARID5B, ATF65, ATGS, BACH2, BANK1, BLK, C1q, C2, C4, C6orf10, C10orf64, CD44, CD80, CD247, CDKN1B, CLEC16A, COL25A1, CREBL2, DDA1, DGUOK, DRAM1, ELF1, ETS1, FCγR2A, FCγR3A/B, GHR, GPR19, HIC2, HIP1, HLA-DQA1, HLA-DQA2, HLA-DQB1, HLA-DQB2, HLA-DRB1, IFIH1, IKZF1, IL10, IRAK1/MECP2, 1RF5, IRF7, ITGAM, ITGAX, JAZF1, KIAA1542, LAMC2, LEF1, LRR18, LYN, MICB, MSH5, NAALADL2, NEGR1, NOTCH4, NTNG2, OR4A15, PRDM1, PRKCB, PTPN22, PTTG1, PXX, RASGRP3, RPL7AP59, RTKN2, SCN10A, SEZ6L2, SIAE, SLC15A4, SLC1A7, SLC29A3, SOCS6, STAT4, TET3, TMC2, TNFAIP3, TNFSF4, TNIP1, TNPO3, TNXB, TREX1, UBE2L3, UHRF1BP1, WDFY4</i> [10–12,17–46,60–66,70]
	Transcriptomics	<i>APOBEC3B, DEFA1, EIF2AK2/PRKR, FCAR, FCGR1A/CD64, IFI44, IFI44L, IFIT1, IFIT3, IFIT4, IL1B, IL1R2, IL1RN, IRF7, LGALS3BP, LY6E, MAP3K8, MX1, OAS1, OAS2, OASL3, OASL, PLSCR, SERPING1, TRAIL, XAF1</i> [89–98]
	Proteomics	MALDI-TOF MS (<i>m/z</i> 3376.02, 4070.09, 7770.45, 28045.1), iTRAQ (e.g., PBMC: brain acid soluble protein 1, cDNA FLJ61039, histone H2A type 1, isoform 2 of zinc finger protein 549, myeloblastin, neutrophil defensin 1, protein S100-P, kidney: aldolase, annexins, arginosuccinate synthetase, heterogeneous nuclear ribonucleoprotein), 2D-gel and MALDI-TOF MS (e.g., SA100A9), targeted protein microarray (e.g., CCL3/MIP-1A, CCL7/MCP-3, CCL8/MCP-2, CLIC2, CXCL8/IL-8, GDTP1, IL-2SRA, IL-6, MORF4L1, PBOV1), autoantigen microarray (e.g., antibody to: chromatin, dsDNA, EBV, hyaluronic acid, laminin, myosin, ssDNA, vimentin), B-C3d, B-C4d, IFN-λ, IL-1, IL-2, IL-10, IL-12, IL-16, NGAL, Siglec-1/CD169, T-C3d, T-C4d, TGF-β, TNF-α, urinary ICAM-1, urinary MCP-1, urinary OPG, urinary TWEAK, urinary VCAM-1 [111–130,135–138]
	Metabolomics	5-HETE, 9-HODE, 13-HODE, α-ketoglutarate, DHA, EPA, γ-glutamylalanine, glutamine, GSH, lactate, LDL, leukotriene B4, MDA, pyruvate [141–143]

από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

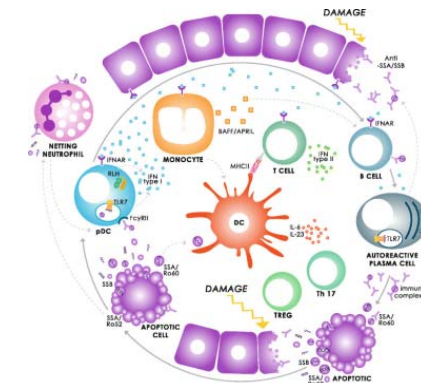
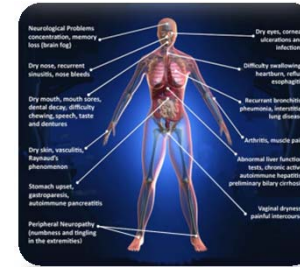
■ σύνδρομο Sjogren

κριτήρια διάγνωσης

- ✓ ANA
- ✓ αντι-Ro52 (TRIM21)
- ✓ αντι-Ro60 (TROVE2)
- ✓ αντι-La
- ✓ αντι-calreticulin
- ✓ αντι-carbonic anhydrase
- ✓ αντι α -Fodrin
- ✓ αντι-M3R
(θεραπευτικός στόχος)

δείκτες προσβολής οργάνων

- ✓ ANA 60-80%
- ✓ RF 40-75%
- ✓ κρυοσφαιρίνες 9-15%
- ✓ ACA 4-17%
- ✓ AMA 2-13%

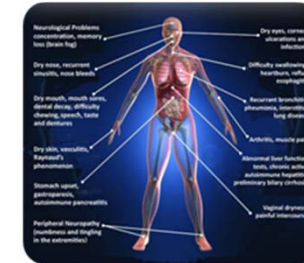
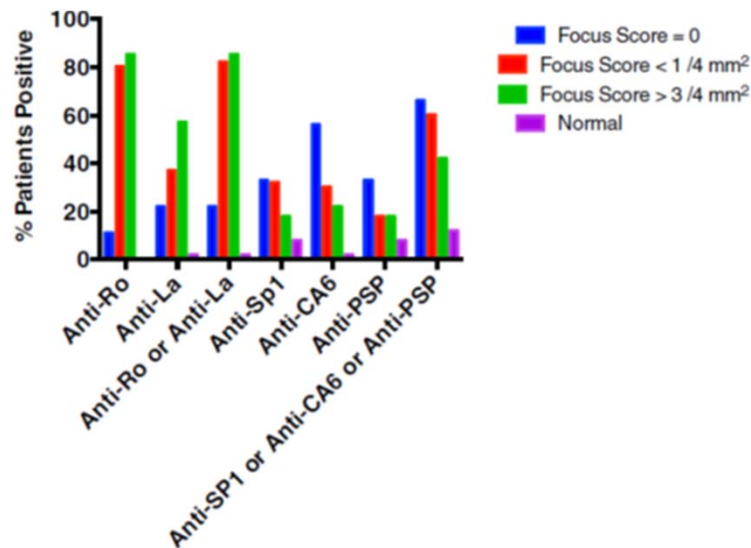


από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

■ σύνδρομο Sjogren

πρώιμοι δείκτες

- ✓ anti-salivary gland protein 1 (**SP1**)
- ✓ anti-carbonic anhydrase 6 (**CA6**)
- ✓ and parotid secretory protein (**PSP**)



νέοι βιοδείκτες

Biomarker	Source	Method
Profilin	Saliva	Western blot
Anhydrase I		
IL-4	Saliva	MAPs
IL-5		
Clusterin		
Cathepsin S	Tear	BioVision Kit
MxA	Whole blood	EIA
Flt-3L	Serum	ELISA
CXCL13	Serum	ELISA
	Saliva	ELISA

- ✓ miRNAs : **miR-146a**, **-768**, **-574**
- ✓ epigenetic modifications (**DNMT1 gene**)

από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

■ Ρευματοειδής Αρθρίτιδα



δείκτες διάγνωσης

- ✓ RF
- ✓ αντι-CCP
- ✓ αντι-MCV
- ✓ αντι-carbamylated proteins (CarP)
- ✓ TKE/CRP

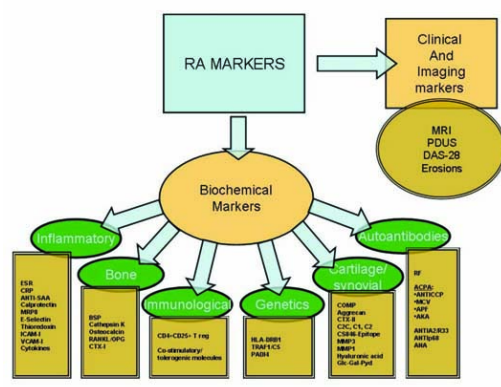
γενετικοί βιοδείκτες

- ✓ HLA-DRB1 (SE/PE)

Genotype HLA-DRB1	Amino Acid Sequence (70-74)	Disease Severity
*0101	QRRAA	Intermediate
*0102	QRRAA	Intermediate
*0401	QKRAA	Severe
*0404	QRRAA	Intermediate
*0405	QRRAA	Intermediate
*0408	QRRAA	Intermediate
*1001	RRRAA	Intermediate
*1301	DERAA	Protective
*1402	QRRAA	Intermediate

- ✓ Non-HLA Genes

Chromosome	Candidate Gene	Variations	Phenotype
1	PTPN22	rs2476601	Anti-citrullination protein antibody (ACPA) positive RA with worse prognosis
1	IL6R	rs8192284	Influences disease activity of ACPA-positive RA
2	SPRED2	rs934734	Increased risk for ACPA-positive RA
3	PXK	rs13315591	Increased risk for ACPA-positive RA
4	RBPJ	rs874040	Increased risk for ACPA-positive RA
5	ANKRD55	rs6859219	Increased risk for ACPA-positive RA
6	CCR6	rs3093023	Increased RA susceptibility
6	TNFAIP3	rs675520	Increased rate of joint destruction in ACPA-positive RA
6	TAGAP	rs9376293	Increased risk for ACPA-positive RA
7	IRF5	rs10488631	Increased risk for ACPA-positive RA
15	RASGRP1	rs8043085	Increased risk for ACPA-positive RA
17	CCL3	Undefined	Increased RA susceptibility
19	CARD8	C10X	Worse disease course in early RA
20	DNMT3B	-283C/T	Influences progression of joint destruction in RA
20	CD40	rs6032662	Increased risk for ACPA-positive RA
22	GATSL3	rs1043099	Increased RA susceptibility
X	IRAK1	rs13397	Increased RA susceptibility



από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

■ Ρευματοειδής Αρθρίτιδα

νέοι βιοδείκτες

✓ *micro-RNAs στη PA*

Source	Upregulated miRNA	Downregulated miRNA
CD4 ⁺ naïve T-cells	miR-223, miR-146a	miR-363, miR-498
PBMCs	miR-146a, miR-155, miR-132, miR-16	
Synovial fibroblasts	miR-203, miR-155	
Synovial tissue	miR-146a, miR-155	
Joint fluid	miR-146a, miR-155, miR-223, miR-16	
RA fibroblast-like synoviocytes	miR-346	miR-124a

✓ *φαρμακογενετική στη PA*

Drug	Gene	Variant	Phenotype
Anti-TNF agents	TNF	G308A	Increased efficacy in most studies; effect on toxicity is controversial
	TNF	A238G	Increased efficacy
	TNFRSF1B	T196G	Decreased or no effect on efficacy
	FCGR3A	Val158Phe	No effect on efficacy
	PTPRC	SNP	Increased efficacy
	MAPK14	SNP	Increased efficacy of anti-TNF antibodies (infliximab, adalimumab)
Rituximab	FCGR3A	Val158Phe	Increased efficacy or no effect

Drug	Gene	Variant	Phenotype
Methotrexate	SLC19A1 (RFC-1)	G80A	Increased or unaffected efficacy
	MTHFR	C677T	Increased toxicity
	MTHFR	A1298C	Controversy regarding toxicity and efficacy
	ATIC	C347G	Increased gastrointestinal toxicity; increased efficacy
	ABCB1 (MDR1)	C3435T	Controversy regarding toxicity and efficacy
	MTHFD1	G1985A	Decreased efficacy
	SHMT1	C1420T	Increased toxicity
	TYMS	5'-UTR repeat element	Decreased efficacy



από τους δείκτες ...στους βιοδείκτες

- **είναι εφικτός στόχος ;**
 - ✓ μελέτες με μεγάλο αριθμό ασθενών
 - ✓ “μοιράζονται” κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα
 - ✓ συνδυασμός δεικτών
 - ✓ εκτεταμένη επικύρωση αποτελεσμάτων
 - ✓ προσέγγιση-αξιοποίηση βιοπληροφορικής
 - ✓ υψηλό κόστος



δείκτες = hardware

βιοδείκτες = software

λειτουργικές αλληλεπιδράσεις
διαδικασία = wetware

ευχαριστώ

 ΕΝΩΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΥ
ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» (Ε.Ε.Π.Ν.Ε.)

23^ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης
Ιατρικής Εκπαίδευσης
Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός»

Αθήνα, 26 Φεβρουαρίου - 2 Μαρτίου 2018



Για την αογίδα της
Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών

ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ:  Ε.Ε.Π.Ν.Ε. - 8, ΚΟΝΤΑΡΙΣΤΗΣ 6 Τ.Κ. 115 28, Γραμματοκιβωτίου 4 & 6ακ Σοφίας, 11528 Αθήνα
τηλ: 210 72 54 365, fax: 210 72 54 363, e-mail: info@eetpne.gr, website: www.eetpne.gr