

Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΝΩΤΙΑΙΟΥ ΥΓΡΟΥ



23^ο Ετήσιο Σεμινάριο Συνεχιζόμενης
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

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- Ο έλεγχος συγκεκριμένων πρωτεϊνών του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (ENY), είναι δυνατόν να προσφέρει σημαντική βοήθεια στα πλαίσια της διαγνωστικής προσέγγισης αρκετών νευρολογικών νοσημάτων. Ειδικότερα, σε ότι αφορά τις απομυελινωτικές νευροπάθειες (και ιδιαίτερα την Πολλαπλή Σκλήρυνση, Multiple Sclerosis, MS) καθοριστική είναι η συμβολή του ελέγχου της πιθανότητας ενδογενούς σύνθεσης ανοσοσφαιρίνης G (IgG) στο ENY. Η συγκεκριμένη «τοπική» παραγωγή IgG αποδίδεται στην παρουσία «κλώνων» Β λεμφοκυττάρων στους υπαραχνοειδείς χώρους, από την διαφοροποίηση των οποίων προκύπτουν πλασματοκύτταρα τα οποία όπως είναι γνωστό έχουν την δυνατότητα να «εκκρίνουν» μόρια ανοσοσφαιρινών.

Εκτίμηση ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY

- A) Υπολογισμός του IgG index κατά Link-Tibbling
- B) Ανίχνευση παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών στο ENY με:
 - 1) Ισοηλεκτρική εστίαση
 - 2) Ηλεκτροφόρηση σε αγαρόζη υψηλής ευκρίνειας

ΔΟΜΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗΣ

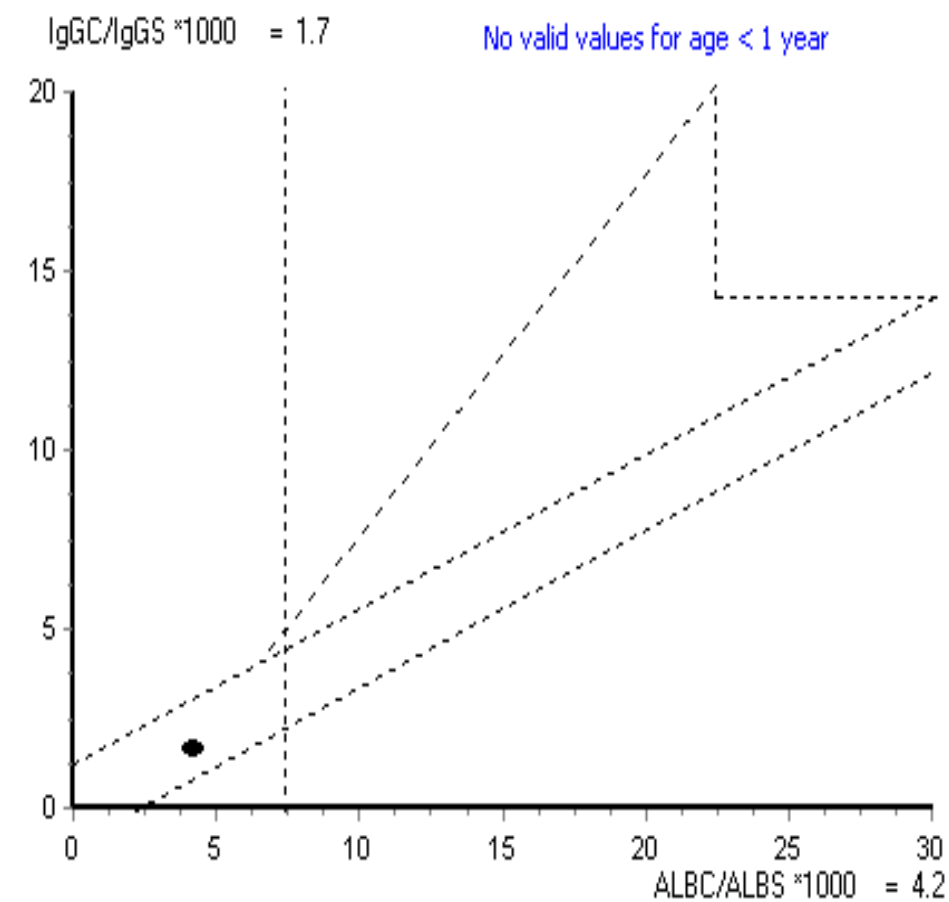
- Προσδιορισμός και αξιολόγηση του IgG index
- Έλεγχος της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών με την τεχνική της ισοηλεκτρικής εστίασης
- Έλεγχος της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών με ηλεκτροφόρηση σε αгарόζη υψηλής ευκρίνειας
- Συγκριτική αξιολόγηση των μεθόδων
- Συμπεράσματα

IgG INDEX κατά Link-Tibling (1)

- Ο IgG index είναι ένα «διπλό» πηλίκο. Ο αριθμητής του είναι το πηλίκο της IgG του ENY προς την IgG του ορού, ενώ παρονομαστής του είναι το πηλίκο της λευκωματίνης του ENY προς την λευκωματίνη του ορού.
- $$\frac{\text{IgG ENY} / \text{IgG ορού}}{\text{Λευκωματίνη ENY} / \text{Λευκωματίνη ορού}} \longrightarrow \text{IgG INDEX}$$
- Τιμές του IgG index μεγαλύτερες του 0.7 θεωρούνται παθολογικές και συνηγορητικές ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY, εάν δεν υπάρχει διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

IgG INDEX κατά Link-Tibling (2)

- Εργαστηριακά, συμβατές με την απουσία διαταραχής του αιματοεγκεφαλικού φραγμού θεωρούνται τιμές του πολλαπλασιαζόμενου επί 1000 πηλίκου της λευκωματίνης του ΕΝΥ προς την λευκωματίνη του ορού μικρότερες του επτά.
- Οι μετρήσεις της IgG και της λευκωματίνης, τόσο του ορού όσο και του ΕΝΥ, γίνονται νεφελομετρικά.



☒ Interpretation Χωρίς παθολογικά ευρήματα

Graph Area : X: Y:

Functional graph Area :

*Serum

IgG 1080 mg/dL
IgA 189 mg/dL
IgM 184 mg/dL
ALB 4580 mg/dL
TPS 7690 mg/dL

*CSF

IgGC 1.8 mg/dL
IgAC 0.23 mg/dL
IgMC 0.12 mg/dL
ALBC 19.1 mg/dL
TPC 28.5 mg/dL
a2mC <0.46 mg/dL

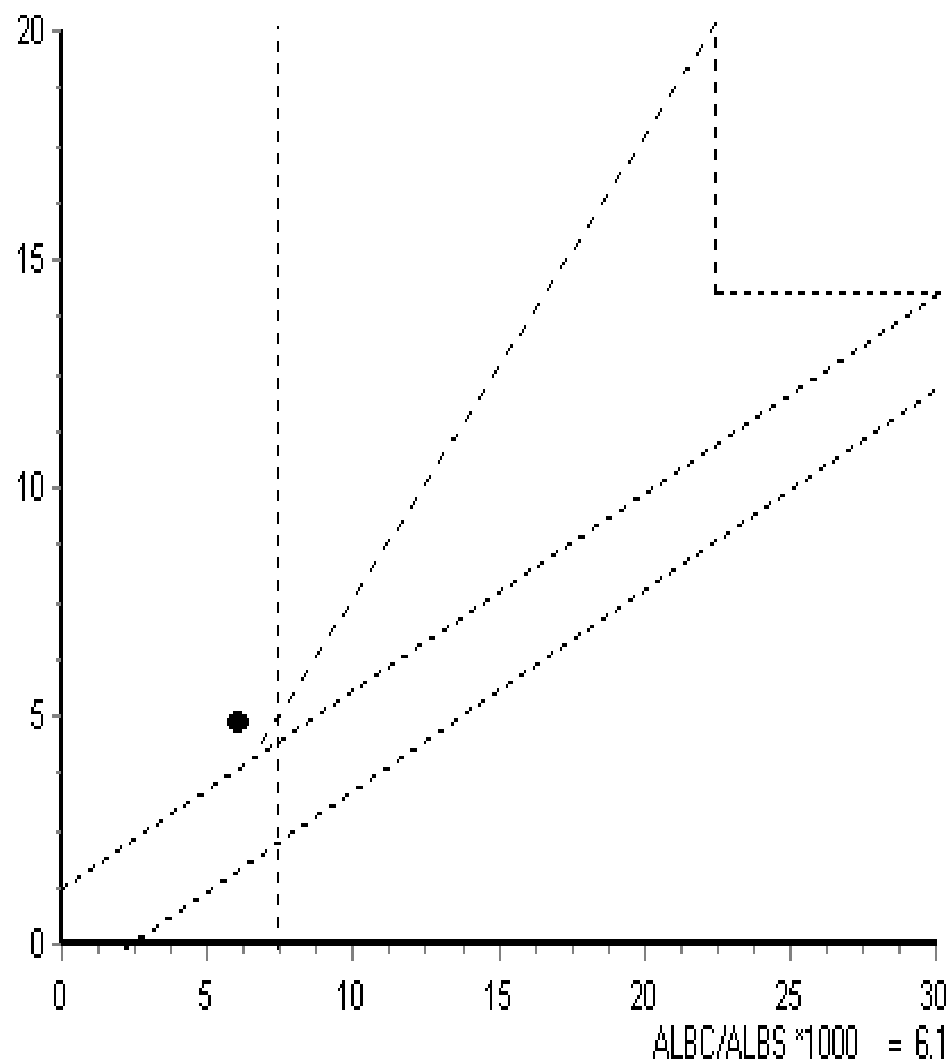
* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte : 0.0 mg/24h
Local IgG acc.Reiber : 0.0 mg/L
Local IgA acc.Reiber : 0.0 mg/L
Local IgM acc.Reiber : 0.0 mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link 0.4
IgAIndex acc. Tibbling/Link 0.29
IgM Index acc. Tibbling/Link 0.16

IgGC/IgGS *1000 = 4.8

No valid values for age < 1 year



☒ Interpretation :

IgG Σύνθεση εντός του ΚΝΣ χωρίς δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού

Graph Area :

X: 344 Y: 26

*Serum

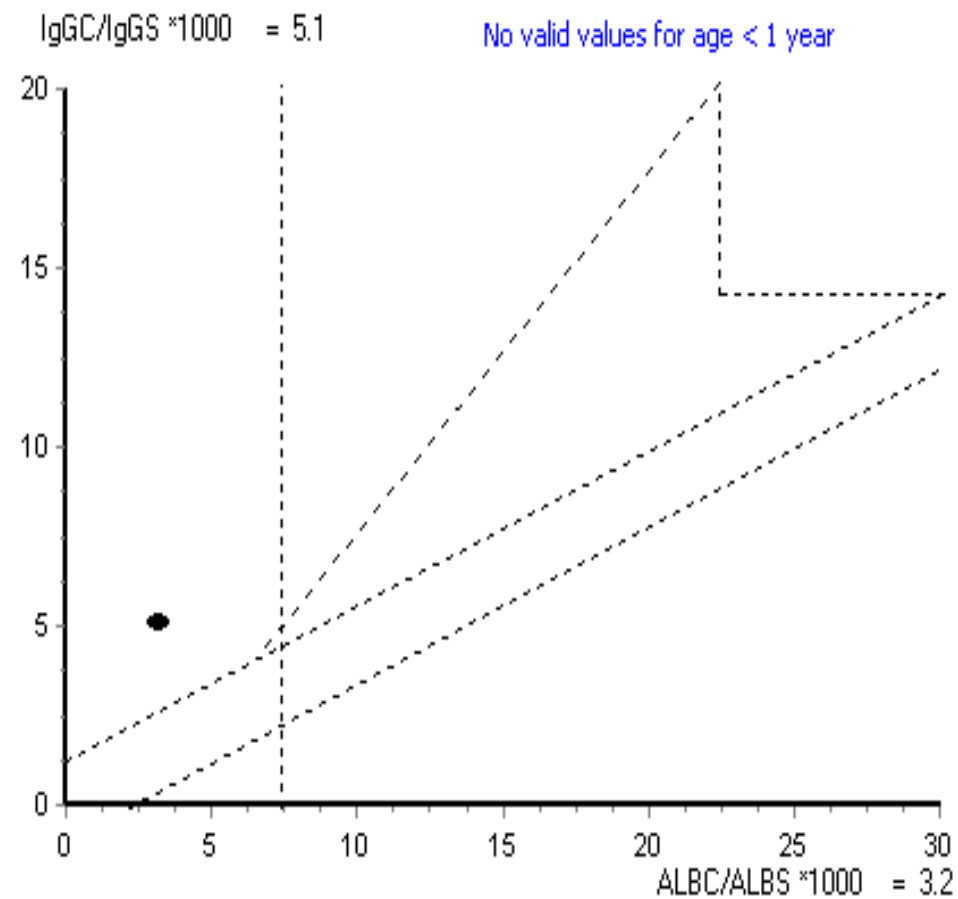
*CSF

IgG	1010	mg/dL	IgGC	4.88	mg/dL
IgA	228	mg/dL	IgAC	0.26	mg/dL
IgM	82.5	mg/dL	IgMC	0.02	mg/dL
ALB	4830	mg/dL	ALBC	29.5	mg/dL
TPS	7980	mg/dL	TPC	49.4	mg/dL
			a2mC	<0.46	mg/dL

* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte :	6.9	mg/24h
Local IgG acc.Reiber :	8.5	mg/L
Local IgA acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgM acc.Reiber :	0.0	mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link	0.8	



☒ Interpretation: IgG Σύνθεση εντός του ΚΝΣ χωρίς δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού

Graph Area : X: Y:

Functional graph Area :

*Serum

IgG 1280 mg/dL
IgA 344 mg/dL
IgM 169 mg/dL
ALB 3960 mg/dL
TPS 7140 mg/dL

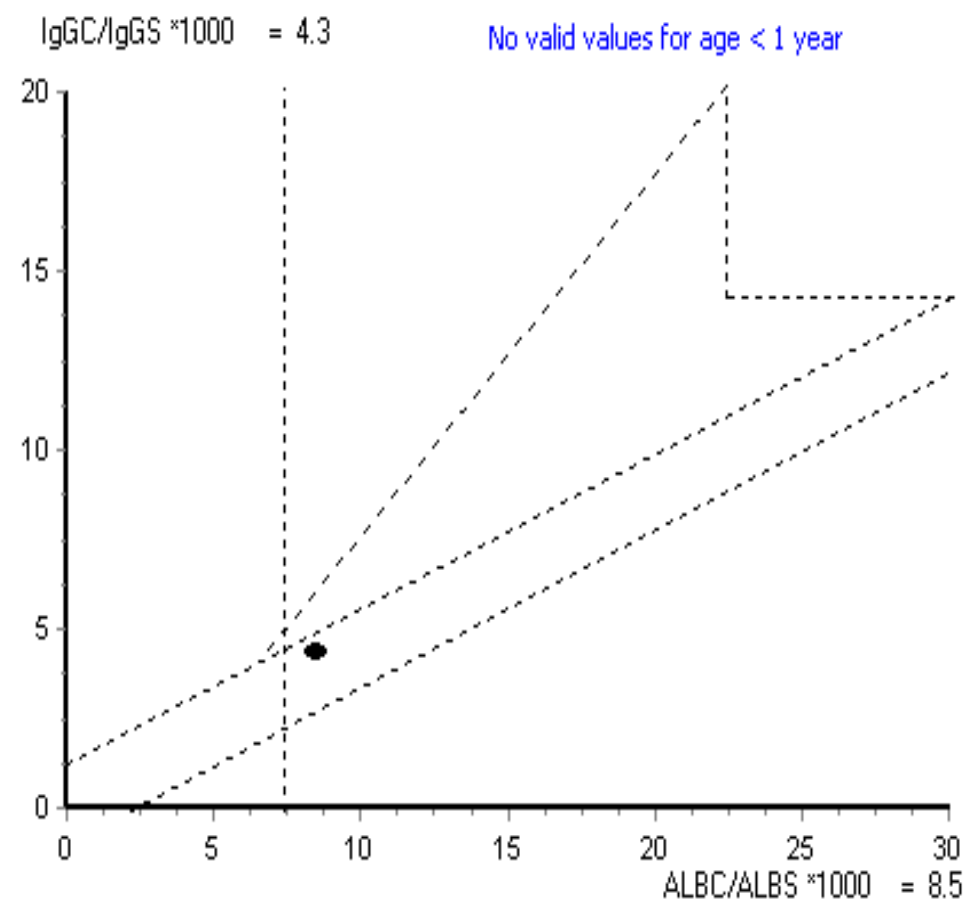
*CSF

IgGC 6.52 mg/dL
IgAC 0.39 mg/dL
IgMC 0.07 mg/dL
ALBC 12.6 mg/dL
TPC 32.8 mg/dL
a2mC <0.48 mg/dL

* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte : 18.5 mg/24h
Local IgG acc.Reiber : 36.9 mg/L
Local IgA acc.Reiber : 0.0 mg/L
Local IgM acc.Reiber : 0.0 mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link 1.6
IgA Index acc. Tibbling/Link 0.36
IgM Index acc. Tibbling/Link 0.13



☒ Interpretation : Δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού

Graph Area : X: Y:

Functional graph Area :

*Serum			*CSF		
IgG	827	mg/dL	IgGC	3.57	mg/dL
IgA	146	mg/dL	IgAC	0.38	mg/dL
IgM	67.3	mg/dL	IgMC	0.02	mg/dL
ALB	3720	mg/dL	ALBC	31.6	mg/dL
TPS	6830	mg/dL	TPC	52.8	mg/dL
			a2mC	0.46	mg/dL

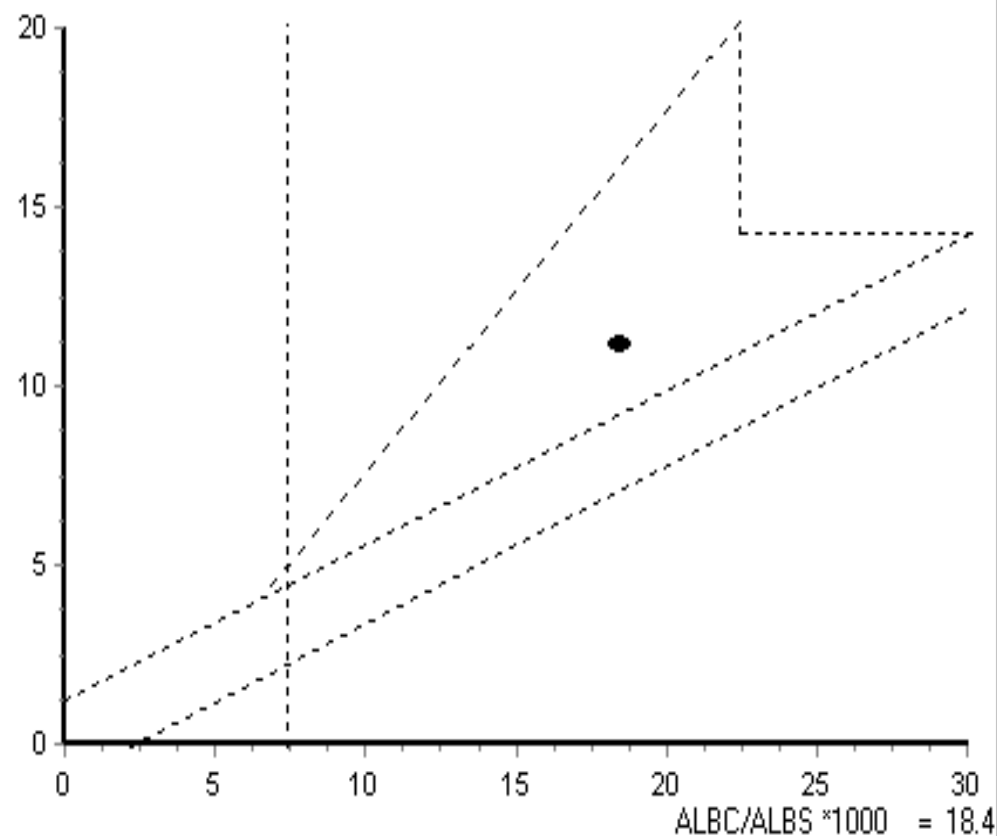
* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte :	0.0	mg/24h
Local IgG acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgA acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgM acc.Reiber :	0.0	mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link	0.5	
IgA Index acc. Tibbling/Link	0.31	
IgM Index acc. Tibbling/Link	0.03	

IgGC/IgGS *1000 = 11.2

No valid values for age < 1 year



☒ Interpretation

Δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού με αμφίβοδη IgG Σύνθεση εντός του ΚΝΣ

Graph Area :

X:

Y:

Functional graph Area :

*Serum

*CSF

IgG	1380	mg/dL	IgGC	15.4	mg/dL
IgA	170	mg/dL	IgAC	1.35	mg/dL
IgM	145	mg/dL	IgMC	0.28	mg/dL
ALB	4380	mg/dL	ALBC	80.8	mg/dL
TPS	7680	mg/dL	TPC	125.0	mg/dL
			a2mC	0.49	mg/dL

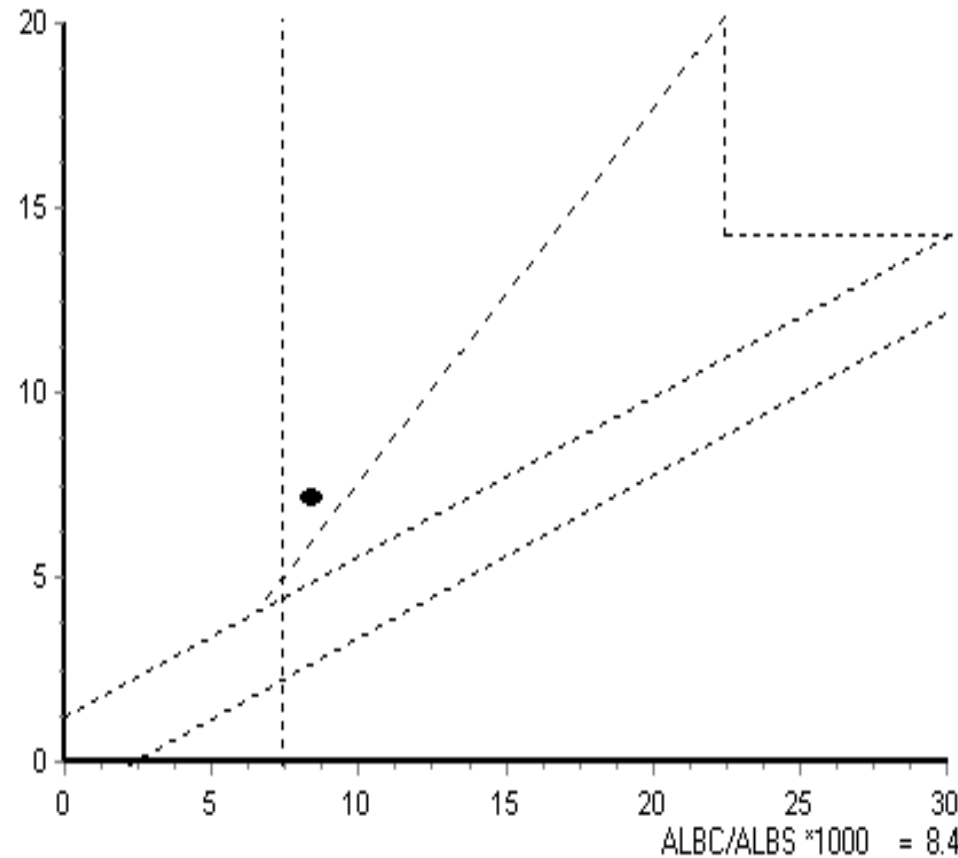
* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte :	16.5	mg/24h
Local IgG acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgA acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgM acc.Reiber :	0.0	mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link	0.6	
IgA Index acc. Tibbling/Link	0.43	
IgM Index acc. Tibbling/Link	0.1	

IgGC/IgGS *1000 = 7.2

No valid values for age < 1 year



☒ Interpretation :

IgG Σύνθεση εντός του ΚΝΣ με δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού

Graph Area :

X:

Y:

Functional graph Area :

*Serum

*CSF

IgG	436	mg/dL	IgGC	3.12	mg/dL
IgA	198	mg/dL	IgAC	0.74	mg/dL
IgM	29.6	mg/dL	IgMC	0.08	mg/dL
ALB	3150	mg/dL	ALBC	26.5	mg/dL
TPS	6180	mg/dL	TPC	45.8	mg/dL
			a2mC	0.46	mg/dL

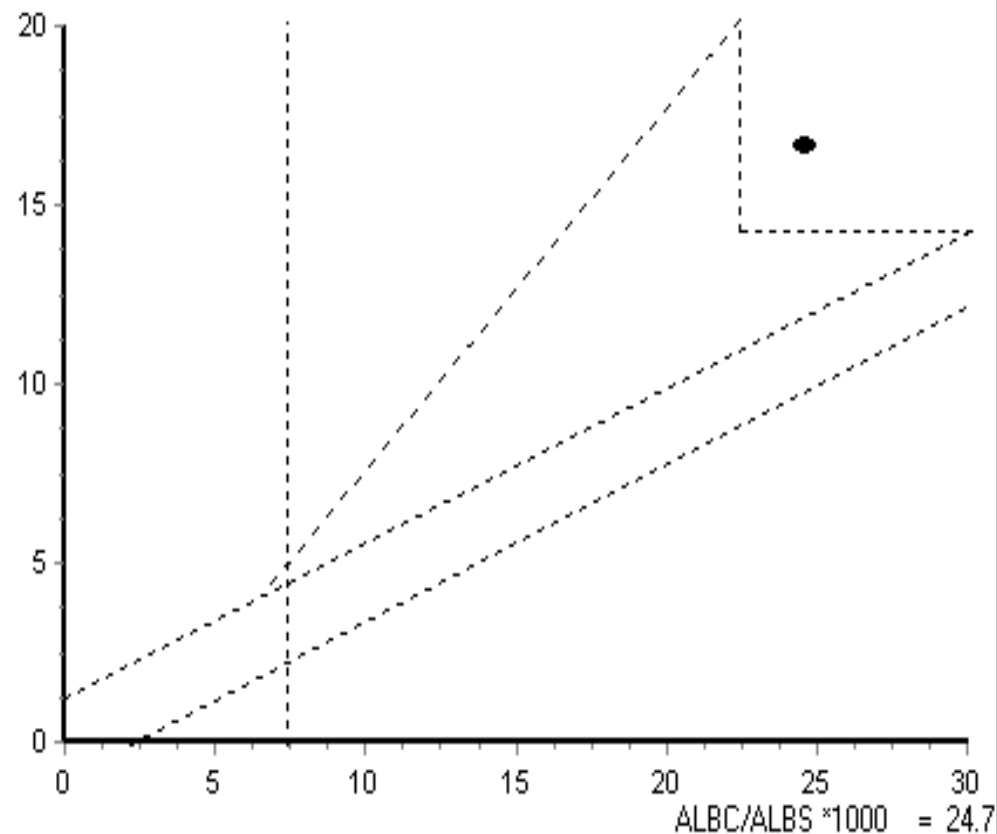
* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte :	5.9	mg/24h
Local IgG acc.Reiber :	6.7	mg/L
Local IgA acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgM acc.Reiber :	0.16	mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link	0.9	
IgAIndex acc. Tibbling/Link	0.44	
IgM Index acc. Tibbling/Link	0.32	

IgGC/IgGS *1000 = 16.7

No valid values for age < 1 year



☒ Interpretation

Μαζική δυσλειτουργία του αιμοεγκεφαλικού φραγμού, τιμές πέραν των ορίων του γραφήματος

Graph Area : X: Y:

Functional graph Area :

*Serum

*CSF

IgG	1140	mg/dL	IgGC	19.0	mg/dL
IgA	458	mg/dL	IgAC	4.82	mg/dL
IgM	72	mg/dL	IgMC	0.26	mg/dL
ALB	3910	mg/dL	ALBC	96.4	mg/dL
TPS	7060	mg/dL	TPC	136.0	mg/dL
			a2mC	1.02	mg/dL

* Όλες οι μονάδες ανάγονται σε mg / L

Calculations

IgG acc. Tourtelotte :	29.8	mg/24h
Local IgG acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgA acc.Reiber :	0.0	mg/L
Local IgM acc.Reiber :	0.0	mg/L
IgG Index acc. Tibbling/Link	0.7	
IgA Index acc. Tibbling/Link	0.43	
IgM Index acc. Tibbling/Link	0.15	

Calculation of IgG levels synthesized within the CNS

1. According to Tourtellotte (7): [mg/24 h]

$$0.5 \text{ l/24 h} * \left[\left(\text{IgG}_{\text{CSF}} - \frac{\text{IgG}_s}{369} \right) - \left(\text{Alb}_{\text{CSF}} - \frac{\text{Alb}_s}{230} \right) * \left(\frac{\text{IgG}_s}{\text{Alb}_s} \right) * 0.43 \right]$$

(Concentrations in mg/l)

2. According to Reiber (6): [mg/l]

$$\text{IgG}_s * \left[\frac{\text{IgG}_{\text{CSF}} * 1000}{\text{IgG}_s} - 0.8 * \sqrt{\left(\frac{\text{Alb}_{\text{CSF}} * 1000}{\text{Alb}_s} \right)^2 + 15} + 1.8 \right]$$

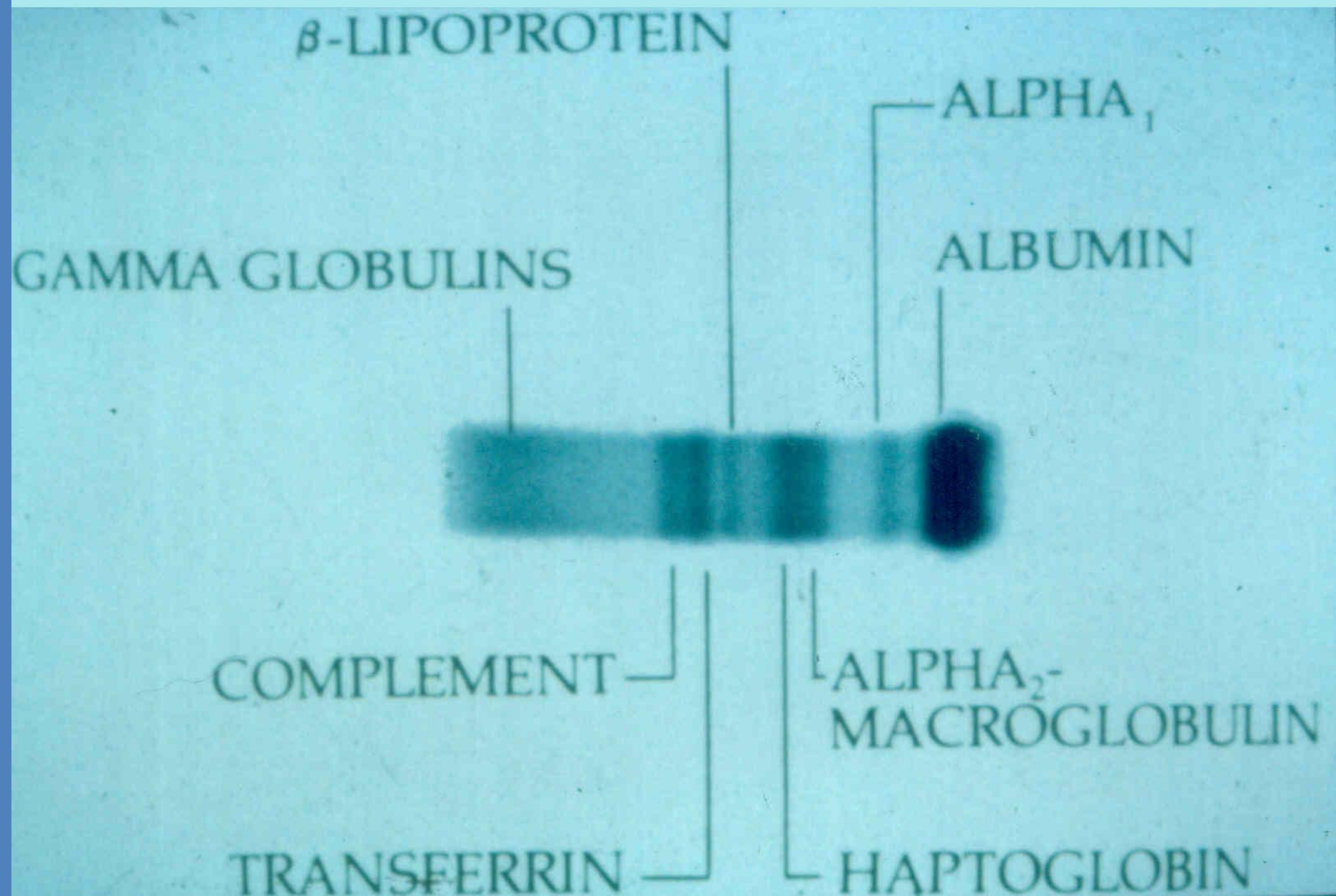
Calculation of IgG-Index

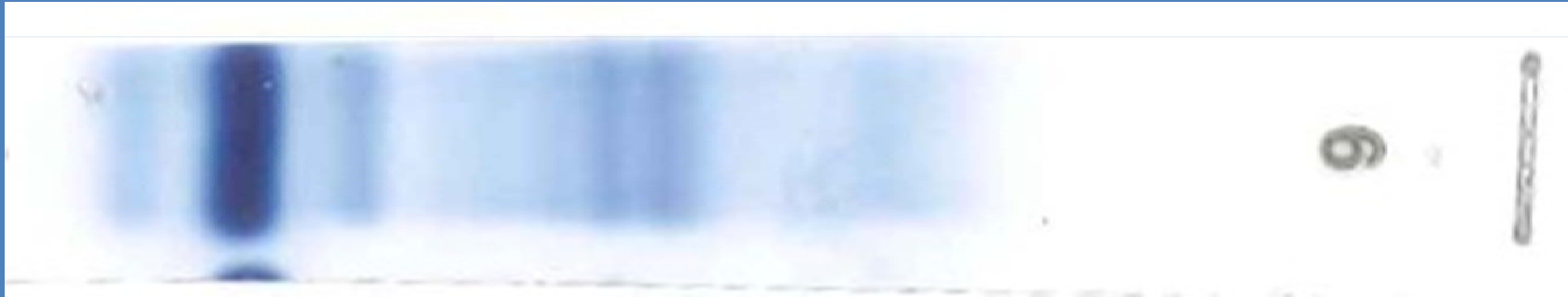
According to Tibbling and Link (12):

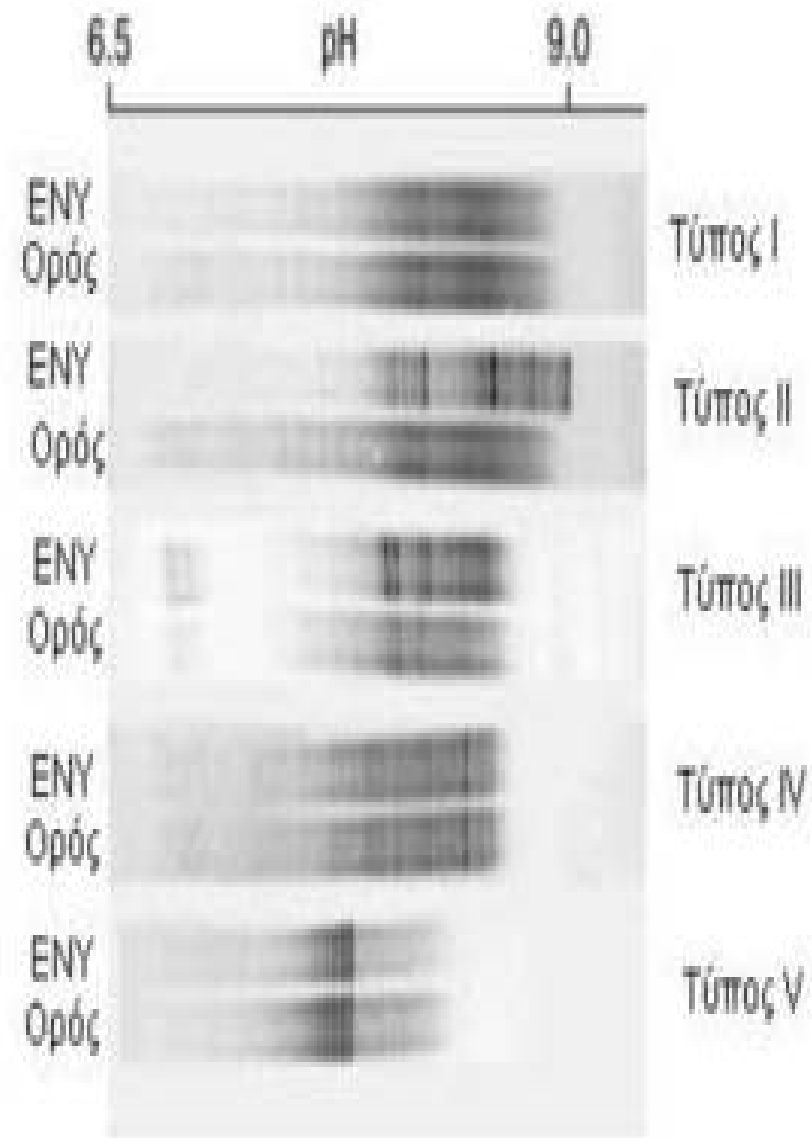
$$\frac{\text{IgG}_{\text{CSF}} * \text{Alb}_s}{\text{IgG}_s * \text{Alb}_{\text{CSF}}}$$

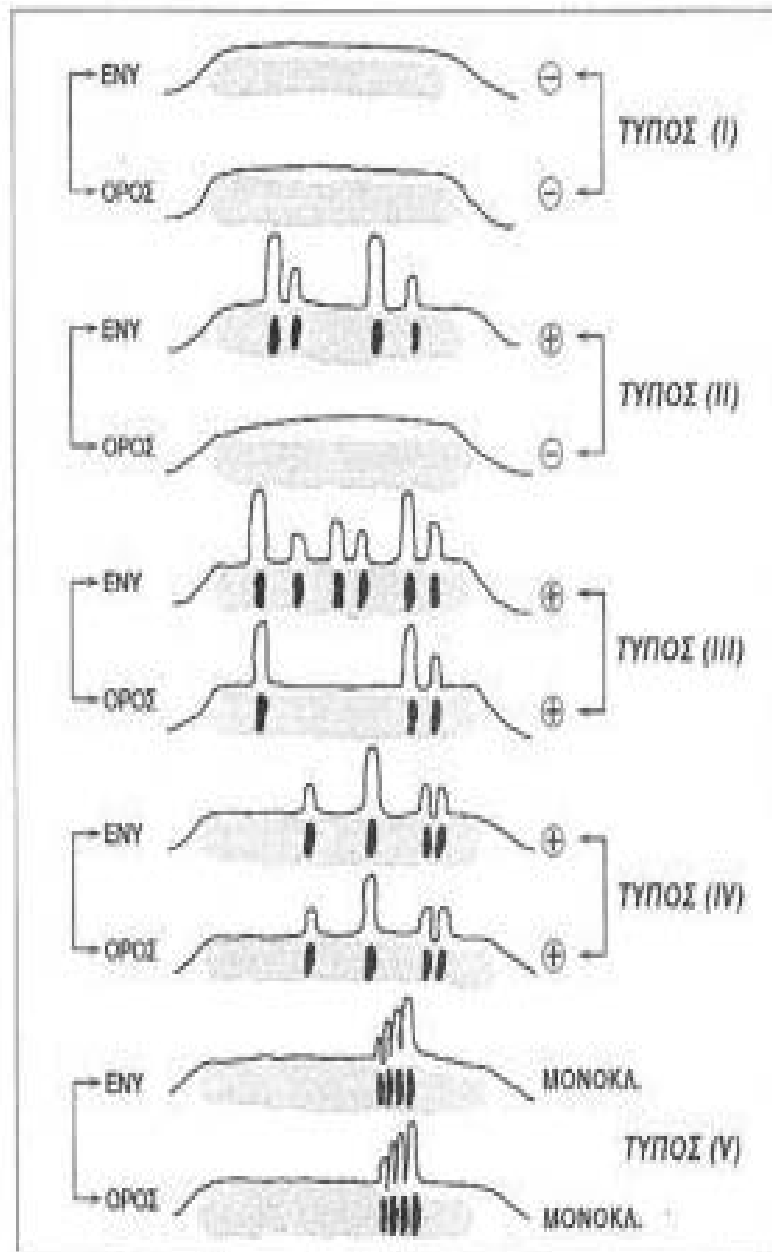
Έλεγχος της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών με την τεχνική της ισοηλεκτρικής εστίασης

- Η ισοηλεκτρική εστίαση είναι μία ηλεκτροφορητική τεχνική η οποία διαχωρίζει τα πρωτεϊνικά μόρια σύμφωνα με το ηλεκτρικό τους φορτίο (ισοηλεκτρικό σημείο).
- Η παρουσία των ολιγοκλωνικών ζωνών IgG στο ENY, αξιολογείται με την συγκριτική μελέτη δειγμάτων ορού και ENY του ασθενούς μετά από ισοηλεκτρική εστίαση και την επακόλουθη «επώαση» των «ηλεκτροφορημάτων» ορού και ENY με αντιορούς έναντι των γ-αλυσίδων του μορίου της IgG.
- Η παρουσία στο «ηλεκτροφόρημα» του ENY δύο τουλάχιστον μονοκλωνικών ζωνών IgG οι οποίες είναι απύσες από το «ηλεκτροφόρημα» του ορού, θεωρείται εύρημα συμβατό με ενδογενή σύνθεση IgG στο ENY.









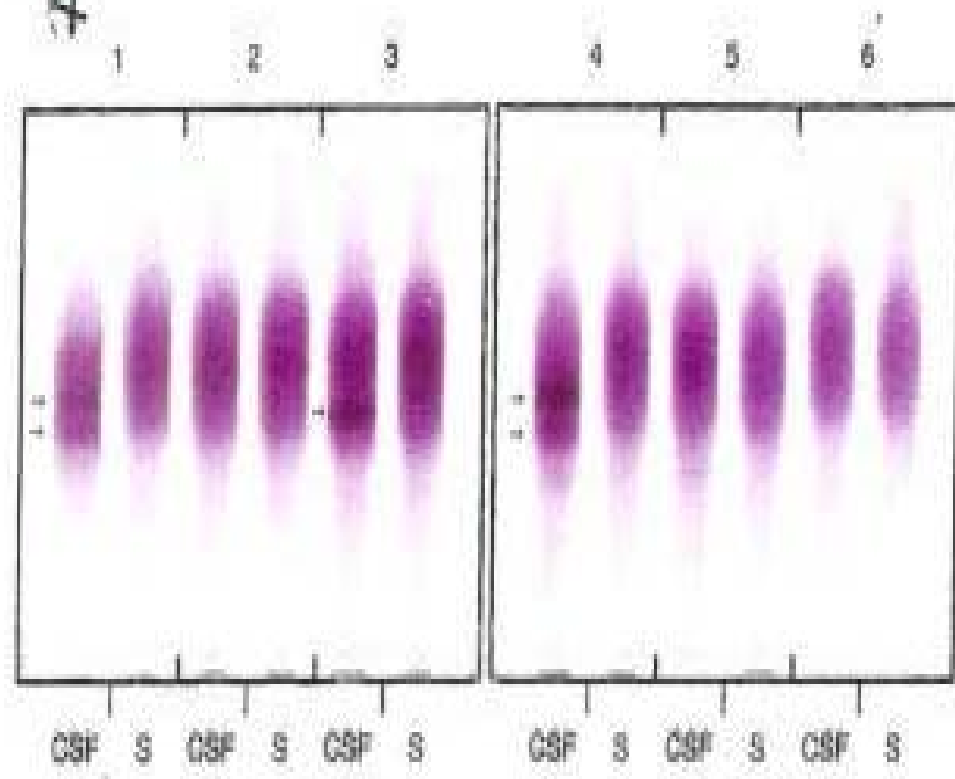
Έλεγχος της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών με ηλεκτροφόρηση σε αγαρόζη υψηλής ευκρίνειας

- Η ηλεκτροφόρηση σε αγαρόζη υψηλής ευκρίνειας είναι μία παραλλαγή της κλασικής ηλεκτροφόρησης
- Η παρουσία των ολιγοκλωνικών ζωνών IgG στο ENY, αξιολογείται με την συγκριτική μελέτη δειγμάτων ορού και ENY του ασθενούς μετά από ηλεκτροφόρηση και την επακόλουθη «επώαση» (ανοσοκαθήλωση) των ηλεκτροφορημάτων ορού και ENY με αντιορούς έναντι των γ-αλυσίδων του μορίου της IgG.
- Η παρουσία στο ηλεκτροφόρημα του ENY μίας τουλάχιστον μονοκλωνικής ζώνης IgG η οποία είναι απύουσα από το ηλεκτροφόρημα του ορού, θεωρείται εύρημα συμβατό με ενδογενή σύνθεση IgG στο ENY.

HYDRAGEL 6 CSF

sebia

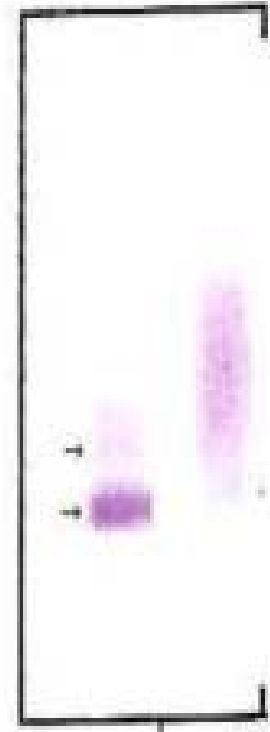
7833



HYDRAGEI

10733

1



CSF S



10733 10733

Συγκριτική αξιολόγηση των μεθόδων ελέγχου της ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY

- Από τα μέχρι σήμερα δεδομένα της βιβλιογραφίας, προκύπτει ότι στις περιπτώσεις MS η ανάδειξη της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών IgG στο ENY είναι συχνότερη (95-97% των περιπτώσεων), σε σύγκριση με την ανάδειξη παθολογικού IgG index (80-85% των περιπτώσεων).
- Η ισοηλεκτρική εστίαση εμφανίζει (οριακά έστω) μεγαλύτερη ευαισθησία από την ηλεκτροφόρηση σε αгарόζη υψηλής ευκρίνειας ως προς την ανάδειξη της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών IgG στο ENY.

Αναθεωρημένα Διαγνωστικά Κριτήρια Mc Donald για την ΣΚΠ (Polman et al)

2 ή περισσότερες υποτροπές 2 ή περισσότερα αντικειμενικά κλινικές βλάβες	Χωρίς επιπρόσθετα στοιχεία. Επαρκής στοιχεία από την κλινική εικόνα (αποκλεισμός οποιασδήποτε άλλης πάθησης)
2 η περισσότερες υποτροπές 1 αντικειμενική κλινική βλάβη	Διασπορά στο χώρο που επιβεβαιώνεται με MRI ή θετικό ENY και δύο ή περισσότερες MRI βλάβες που υποδηλώνουν ΣΚΠ, ή επιπλέον κλινική προσβολή που αντιστοιχεί σε διαφορετική περιοχή
1 υποτροπή 2 ή περισσότερες αντικειμενικές κλινικές βλάβες	Διασπορά στο χρόνο που επιβεβαιώνεται με MRI ή με δεύτερο κλινικό επεισόδιο
1 υποτροπή 1 αντικειμενική κλινική βλάβη (μονοσυμπτωματική εκδήλωση)	Διασπορά στο χώρο που επιβεβαιώνεται με MRI ή θετικό ENY και δύο ή περισσότερες MRI βλάβες που υποδηλώνουν ΣΚΠ και διασπορά στο χρόνο που επιβεβαιώνεται με MRI ή με δεύτερο κλινικό επεισόδιο
Προοδευτικά εξελισσόμενη σημειολογία που υποδηλώνει ΣΚΠ (πρωτοπαθώς προϊούσα ΣΚΠ)	Ένας χρόνος συνεχούς προοδευτικής επιδείνωσης (που καθορίζεται ή αναδρομικά ή προοπτικά) και δύο από τα παρακάτω: α) Θετική MRI εγκεφάλου (εννέα T2 βλάβες ή τέσσερις ή περισσότερες T2 βλάβες με θετικά VEP) β) Θετική MRI νωτιαίου μυελού (δύο εστιακές T2 βλάβες και γ) Θετικό ENY

	Number of lesions with objective clinical evidence	Additional data needed for a diagnosis of multiple sclerosis
≥ 2 clinical attacks	≥ 2	None*
≥ 2 clinical attacks	1 (as well as clear-cut historical evidence of a previous attack involving a lesion in a distinct anatomical location†)	None*
≥ 2 clinical attacks	1	Dissemination in space demonstrated by an additional clinical attack implicating a different CNS site or by MRI‡
1 clinical attack	≥ 2	Dissemination in time demonstrated by an additional clinical attack or by MRI§ OR demonstration of CSF-specific oligoclonal bands¶
1 clinical attack	1	Dissemination in space demonstrated by an additional clinical attack implicating a different CNS site or by MRI‡ AND Dissemination in time demonstrated by an additional clinical attack or by MRI§ OR demonstration of CSF-specific oligoclonal bands¶

If the 2017 McDonald Criteria are fulfilled and there is no better explanation for the clinical presentation, the diagnosis is multiple sclerosis. If multiple sclerosis is suspected by virtue of a clinically isolated syndrome but the 2017 McDonald Criteria are not completely met, the diagnosis is possible multiple sclerosis. If another diagnosis arises during the evaluation that better explains the clinical presentation, the diagnosis is not multiple sclerosis. An attack is defined in panel 1. * No additional tests are required to demonstrate dissemination in space and time. However, unless MRI is not possible, brain MRI should be obtained in all patients in whom the diagnosis of multiple sclerosis is being considered. In addition, spinal cord MRI or CSF examination should be considered in patients with insufficient clinical and MRI evidence supporting multiple sclerosis, with a presentation other than a typical clinically isolated syndrome, or with atypical features. If imaging or other tests (eg, CSF) are undertaken and are negative, caution needs to be taken before making a diagnosis of multiple sclerosis, and alternative diagnoses should be considered. †Clinical diagnosis based on objective clinical findings for two attacks is most secure. Reasonable historical evidence for one past attack, in the absence of documented objective neurological findings, can include historical events with symptoms and evolution characteristic for a previous inflammatory demyelinating attack; at least one attack, however, must be supported by objective findings. In the absence of residual objective evidence, caution is needed. ‡The MRI criteria for dissemination in space are described in panel 5. §The MRI criteria for dissemination in time are described in panel 5. ¶The presence of CSF-specific oligoclonal bands does not demonstrate dissemination in time per se but can substitute for the requirement for demonstration of this measure.

Table: The 2017 McDonald criteria for diagnosis of multiple sclerosis in patients with an attack at onset

Αίτια ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY

- Θα πρέπει να επισημανθεί ότι, τόσο η παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών IgG στο ENY, όσο και ο παθολογικός IgG index, έχουν συσχετιστεί και με άλλες πέραν της MS (εκφυλιστικές και φλεγμονώδεις) νευρολογικές παθήσεις, καθώς και με (συστηματικά και λοιμώδη) νοσήματα στα οποία υπάρχει συμμετοχή του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), όπως:
 - Υποξεία Σκληρυντική Πανεγκεφαλίτις
 - Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος (ΣΕΛ)
 - Σαρκοείδωση
 - Νόσος Behcet
 - Νόσος Lyme
 - HIV λοίμωξη του ΚΝΣ
 - Σύφιλις ΚΝΣ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Βάσει των ισχυόντων κριτηρίων διάγνωσης της MS, η παρουσία ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY αποτελεί εύρημα συνηγορητικό της διάγνωσης MS εφόσον υπάρχουν συγκεκριμένα κλινικά σημεία ή/και απεικονιστικά ευρήματα.
- Η ανάδειξη της παρουσίας ολιγοκλωνικών ζωνών (τόσο με την τεχνική της ισοηλεκτρικής εστίασης όσο και με την ηλεκτροφόρηση σε αгарόζη υψηλής ευκρίνειας), είναι περισσότερο ευαίσθητη και ειδική σε σύγκριση με τον παθολογικό IgG index ως προς την ανάδειξη ενδογενούς σύνθεσης IgG στο ENY.