

# Νευροανοσολογία

Απρίλιος - Μάιος - Ιούνιος 2022  
April - May - June 2022

Τόμος 3 - Τεύχος 2  
Vol. 3 - Issue 2

- ▶ **THE COMPLEMENT SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE**
- ▶ **ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙ-CD20 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΝΟΣΟΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΕΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ**
- ▶ **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ**
- ▶ **ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟ 8<sup>ο</sup> ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ**



Τριμηνιαία έκδοση της Ελληνικής  
Ακαδημίας Νευροανοσολογίας  
Πολυτεχνείου 23  
Τ.Κ. 546 25  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ - ΕΛΛΑΔΑ  
Τηλ.: +30 2313 050 426  
www.helani.gr journal@helani.gr

#### ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΕΛΛ.Α.ΝΑ.

Πρόεδρος: Ι. Ηλιόπουλος  
Αντιπρόεδρος: Λ. Πρόμπερτ  
Γ. Γραμματέας -  
Ταμίας: Ν. Γρηγοριάδης  
Μέλη: Κ. Βουμβουράκης  
Δ. Καραγωγέας  
Γ. Κόλλιας  
Π. Παπαθανασόπουλος  
Σ. Περίδου  
Π. Σιδεράς  
Κ. Σταματόπουλος  
Γ. Χατζηγεωργίου

#### ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΕΚΔΟΣΗΣ

Ι. Ηλιόπουλος

#### ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ 3<sup>ου</sup> ΤΟΜΟΥ - 2<sup>ου</sup> ΤΕΥΧΟΥΣ

Ι. Νικολαΐδης

#### ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

|                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| Χ. Μπακιρτζής   | Δ. Ντάφου          |
| Μ. Μποζίκη      | Ε. Ευαγγελιοπούλου |
| Π. Σταθόπουλος  | Π. Θεοτόκης        |
| Β. Μαστοροδήμος | Α. Αρτεμιάδης      |
| Κ. Κιλέοπα      | Γ. Δερετζή         |
| Ι. Νικολαΐδης   | Ε. Κεσίδου         |
| Χ. Αλεξόπουλος  |                    |

#### ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ - ΤΕΧΝΙΚΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ

Α. Μπαλάσος

#### ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΗ ΕΚΔΟΣΗ

Γραμματεία ΕΛΛ.Α.ΝΑ.

#### ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΚΑΔΗΜΙΑ  
ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ  
Διεύθυνση: Πολυτεχνείου 23,  
Θεσσαλονίκη  
Τ.Κ. 546 25

#### ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΤΥΠΗΣ ΕΚΔΟΣΗΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΑΡΧΕΙΩΝ

Λυχνία Α.Ε.  
Ανδραβίδας 7  
Χαμόμυλο Αχαρνών  
Τ.Κ. 136 71  
Τηλ.: 210 34.10.436 - 1  
Fax: 210.34.25.967  
www.lyhnia.com

#### ΣΥΝΔΡΟΜΕΣ

Δωρεάν



# Νευροανοσολογία

Τόμος 3, Τεύχος 2, Απρίλιος - Μάιος - Ιούνιος 2022

## Περιεχόμενα

### ΑΡΘΡΑ

- **THE COMPLEMENT SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE**  
*Ηλιάνη Μιχαηλίδου* 8
- **ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙ-CD20 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ  
ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΝΟΣΟΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΕΣ  
ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ**  
*Ευαγγελία Κεσίδου, Ναταλία Κωνσταντινίδου, Χρήστος Μπακιρτζής,  
Μαρίνα Κλεοπάτρα Μποζίκη, Ιωάννης Νικολαΐδης, Πασχάλης Θεοτόκης,  
Ελένη Ποθυζαΐδου, Ελένη Γρηγοριάδου, Χαρίλαος Ταθουμτζής,  
Κωνσταντίνα Συμεωνίδου, Νικόλαος Γρηγοριάδης* 19
- **Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ  
ΣΤΗΝ ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ**  
*Χριστίνα Μπισσίνα, Χρυστάλλα Κωνσταντίνου, Πασχάλης Θεοτόκης,  
Ιωάννης Νικολαΐδης, Μαρίνα Κλεοπάτρα Μποζίκη, Νικόλαος Γρηγοριάδης* 30
- **ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟ 8<sup>ο</sup> ΣΥΝΕΔΡΙΟ  
ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ**  
*Βασίλειος Μαστοροδήμος, Χάρης Αλεξόπουλος, Μαρίνα Κλεοπάτρα Μποζίκη* 35

#### Φωτογραφία από μικροσκόπιο φθορισμού:

Καθιέρωση νευρικών προγονικών κυττάρων  
κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα διαφοροποίησης σε αστροκύτταρα.  
Ανοσοϊστοχημική χρώση φθορισμού: anti-GFAP/Rhodamine.

Εργαστήριο Πειραματικής Νευρολογίας και Νευροανοσολογίας,  
Β' Νευρολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο  
Θεσσαλονίκης





Official Journal of the Hellenic  
Neuroanatomical Society  
23, Politechniou  
P.C. 546 25  
THESSALONIKI - GREECE  
Tel.: +30 2313 050 426  
www.helani.gr journal@helani.gr

#### HELANI BOARD OF DIRECTORS

President: I. Iliopoulos  
Vice President: L. Probert  
G. Secretary -  
Treasurer: N. Grigoriadis  
Members: K. Voumvourakis  
D. Karagozeos  
G. Kollias  
P. Papatanasopoulos  
S. Pelidou  
P. Sideras  
K. Stamatopoulos  
G. Xatzigeorgiou

#### EDITOR IN CHIEF

I. Iliopoulos

#### EDITOR 3<sup>rd</sup> VOL. - 2<sup>nd</sup> ISSUE

I. Nikolaidis

#### ASSOCIATE EDITORS

|                 |                   |
|-----------------|-------------------|
| C. Bakirtzis    | D. Dafou          |
| M. Boziki       | E. Evangelopoulos |
| P. Stathopoulos | P. Theotokis      |
| V. Mastorodemos | A. Artemiadis     |
| K. Kleopa       | G. Deretzi        |
| I. Nikolaidis   | E. Kesidou        |
| H. Alexopoulos  |                   |

#### SECRETARIAT – TECHNICAL MANAGEMENT

A. Balasis

#### WED-EDITION

HELANI Secretariat

#### OWNER

HELLENIC NEUROANATOMY SOCIETY  
Address: 23, Politechniou  
Thessaloniki - Greece  
P.C. 546 25

#### PRINTED EDITION AND PDFs

Lyhnia S.A.  
7, Andravidas str., Athens  
P.C. 136 71, Hamomilo Aharnon  
Tel.: +30 210 34.10.436 - 1  
Fax: +30 210.34.25.967  
www.lyhnia.com

#### SUBSCRIPTIONS FEES

Free



# Νευροανατομία

Vol. 3, Issue 1, April - May - June 2022

## Contents

### ARTICLES

- THE COMPLEMENT SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE  
*Iliana Michailidou* 8
- MECHANISMS OF ACTION OF ANTI-CD20 MONOCLONAL  
ANTIBODIES IN IMMUNE-MEDIATED NEUROLOGICAL DISORDERS  
*Evangelia Kesidou, Natalia Konstantinidou, Christos Bakirtzis,  
Marina Kleopatra Boziki, Ioannis Nikolaidis, Paschalis Theotokis,  
Eleni Polyzoidou, Eleni Grigoriadou, Charilaos Taloumtzis,  
Constantina Symeonidou, Nikolaos Grigoriadis* 19
- THE ROLE OF CELL METABOLISM IN MULTIPLE SCLEROSIS  
*Christina Bitsina, Chrystalla Konstantinou, Paschalis Theotokis,  
Ioannis Nikolaidis, Marina Kleopatra Boziki, Nikolaos Grigoriadis* 30
- 8<sup>TH</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN ACADEMY  
OF NEUROLOGY (EAN)  
*Vasileios Mastorodemos, Charis Alexopoulos, Marina Kleopatra Boziki* 35

#### Fluorescence microscope photo:

Neural stem cells culture on day 5 of in vitro differentiation  
towards astrocytes. Fluorescent immunocytochemistry:  
anti-GFAP/Rhodamine.

*Laboratory of Experimental Neurology and neuroimmunology,  
2<sup>nd</sup> Department of Neurology, Aristotle University  
of Thessaloniki*







## Πρόλογος

Η έκδοση του περιοδικού *ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ* της ΕΛΛ.Α.ΝΑ. φιλοδοξεί να αποτελέσει ένα χρήσιμο εργαλείο τόσο για τον κλινικό Νευρολόγο όσο και για τον βασικό Ερευνητή που δραστηριοποιείται στο πεδίο της Νευροανοσολογίας και Νευροβιολογίας. Για τον λόγο αυτό η Συντακτική ομάδα επιδιώκει σε κάθε τεύχος να αντιπροσωπεύονται άρθρα που αφορούν κλινικά ζητήματα διαγνωστικής και/ή θεραπευτικής στο πεδίο των ανοσολογικά διαμεσολαβούμενων νοσημάτων του Κεντρικού και Περιφερικού Νευρικού Συστήματος, καθώς επίσης και κείμενα τα οποία, με προσιτή διατύπωση και για τον κλινικό ιατρό, παρέχουν τις πλέον πρόσφατες γνώσεις στο πεδίο των βασικών ερευνών. Ταυτόχρονα, μέσω της της συνδυαστικής αυτής προσέγγισης το περιοδικό *ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ* ελπίζουμε να φέρει κοντά επιστήμονες από συναφή επιστημονικά πεδία και οι οποίοι, με αφορμή τόσο την πρόσφατη ανάπτυξη νέων θεραπευτικών παραγόντων για την αντιμετώπιση ανοσολογικά διαμεσολαβούμενων νευρολογικών νοσημάτων, όσο και την ολοένα και ευρύτερα αναγνωρισμένη συνεισφορά ανοσοβιολογικών παραμέτρων στη σύγχρονη διαχείριση και θεραπευτική των νοσημάτων αυτών, συνεργάζονται με τον κλινικό Νευρολόγο. Στο πλαίσιο αυτό ο Πρόεδρος και το Δ.Σ. της ΕΛΛ.Α.ΝΑ. με ιδιαίτερη χαρά καλούν κλινικούς ιατρούς και ερευνητές που δραστηριοποιούνται σε ιατρικές ειδικότητες και ευρύτερα επιστημονικά πεδία όπως, ενδεικτικά αναφέρονται, της Ρευματολογίας-Ανοσολογίας, της Λοιμωξιολογίας και της Αυτοάνοσης Νευρολογίας να συνεισφέρουν ως συγγραφείς και/ή κριτές στην έκδοση.

Σε αυτά τα πλαίσια χαιρετίζουμε τον εμπλουτισμό της Συντακτικής Επιτροπής του περιοδικού με διακεκριμένους συναδέλφους τόσο από το πεδίο της κλινικής Νευρολογίας, όσο και από το χώρο της Βασικής έρευνας. Απόφαση της Συντακτικής Επιτροπής του περιοδικού, είναι ο εμπλουτισμός της ύλης με νέα τμήματα/στήλες και η έκδοση θεματικών τευχών, με απώτερο στόχο την συμμετοχή του περιοδικού στο PubMed. Κατόπιν τούτων το παρών τεύχος, όπως και το προηγούμενο αποτελεί μια γέφυρα προς την ανανεωμένη μορφή του περιοδικού. Στο παρόν τεύχος, όπως και στο προηγούμενο, υπάρχει ένα άρθρο εξ'ολοκλήρου στην Αγγλική διευκολύνοντας τον στόχο μας που αφορά στην αύξηση της εμβέλειας και της αναγνωρισιμότητας του περιοδικού. Το άρθρο «The complement system in Health and Disease» τονίζει την σπουδαιότητα του συμπληρώματος ως ρυθμιστή των ανοσολογικών αποκρίσεων και ως θεραπευτικό στόχο σε νευρολογικές ασθένειες που σχετίζονται με νευροφλεγμονή και νευροεκφύλιση. Σε ένα άρθρο ανασκόπησης διερευνώνται με λεπτομέρεια οι μηχανισμοί δράσης των αντιCD20 μονοκλωνικών αντισωμάτων που σήμερα όσο ποτέ στο παρελθόν απασχολούν την επιστημονική κοινότητα σχετικά με τη χρήση τους στη θεραπευτική των φλεγμονωδών και αυτοάνοσων παθήσεων του νευρικού συστήματος. Το τρίτο άρθρο αυτού του τεύχους αναφέρεται στον ρόλο του κυτταρικού μεταβολισμού στην πολυληπλή σκλήρυνση και την ενδεχόμενη θεραπευτική προσέγγιση της νόσου. Τέλος το τελευταίο άρθρο αφορά τα κυριότερα σημεία από το πρόσφατο Συνέδριο της Ευρωπαϊκής Ακαδημίας Νευρολογίας (EAN) στον τομέα της Νευροανοσολογίας.

Καλή Ανάγνωση

*Εκ μέρους της ΕΛΛ.Α.ΝΑ.*

*Ο Πρόεδρος*

*Ιωάννης Ηλιόπουλος*

*Καθηγητής Νευρολογίας Δ.Π.Θ.*







δραστηριότητες  
συνεδριακά  
βιβλία

Άρθρα...

ημερίδες  
νευροανοσολογία

νεα

«Η δημοσίευση άρθρων στη ΝΕΥΡΟΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ δεν δηλώνει αποδοχή των απόψεων και θέσεων του συγγραφέα από την Συντακτική Επιτροπή ή την ΕΛΛ.Α.ΝΑ.»

«Το περιεχόμενο των καταχωρήσεων είναι ευθύνη των εταιρειών που αναφέρονται και οφείλγει να ακολουθεί τις προβλεπόμενες νόμιμες προϋποθέσεις»

«Η χρήση εργαλείων, κλιμάκων και λογισμικού που αναφέρεται στις εργασίες είναι ευθύνη των συγγραφέων, οι οποίοι πρέπει να έχουν εξασφαλίσει τις σχετικές άδειες και να τις κρατούν στο προσωπικό τους αρχείο»

ενημέρωση

# THE COMPLEMENT SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE

Iliana Michailidou

Department of Clinical Genetics, LUMC, Leiden, The Netherlands

## Abstract

Complement is a key component of the innate immune system. Its role is to kill pathogens and remove dead cells after physiological turnover or injury. The canonical complement system is activated via three pathways, the classical, lectin and alternative pathway. All three pathways converge to the point of C3 cleavage by the C3 convertases, and result in the formation of the immunostimulating chemoattractants C3a and C5a, and the membrane-bound membrane attack complex (MAC) or the fluid phase terminal complement complex (TCC). MAC is an important innate immune effector of the complement terminal pathway that forms transmembrane channels or stimulates pro-inflammatory responses. The function of complement as an early danger sensor regulating immune responses has triggered the development of several complement inhibiting drugs for treatment of immune diseases. Attention is nowadays being paid on the molecular contribution of complement inhibition to neurological diseases associated with neuroinflammation and neurodegeneration.

**Key words:** complement, innate immunity, nervous system, autoimmune disease

## Background

Complement is a central and evolutionary ancient system of host defence. It was first discovered in 1896 by Bordet in the serum of healthy animals and it was termed alexin from the Greek *αλέξειν* which means “to ward off”, now known as complement, because its function was to ‘complement’ the antibacterial activity of antibodies. In the 1900s, Bordet demonstrated that complement and antibodies were two factors required for bacteriolysis. For this work he received a Nobel prize in 1919. The importance of complement-mediated lysis was high and studies on antibodies and complement dominated the field of immunology for the next century. Research over these years, delivered valuable knowledge to the scientific community about the role of complement in health and disease. We now know that complement is a major hub-like network consisting of numerous proteins that interact with each other to regulate the innate immunity but also to interface with adaptive responses. We also know that complement activation does not depend on the presence of antibodies and that complement has additional functions that extend far beyond the antimicrobial aid. Complement is now seen as an inspector and mediator of immune surveillance but also as a major contributor to normal processes of the developing brain such as synaptic pruning. Activated complement plays a role in the

scavenging of necrotic and apoptotic cells and mediates the elimination of circulating immune complexes which contribute significantly to the development of autoimmune responses. In addition, complement is a key promoter of neuroinflammation which might lead to degeneration and therefore, prevention of the amplification of complement activation is believed to reduce neuronal damage.

## Complement is an element of innate immunity

The complement system is a key component of the innate immune system. It consists of more than 30 proteins which circulate in the blood and fluids or deposit on cell surfaces. Complement proteins account for about 15% of the globular fraction of normal plasma [113]. They are synthesized in the liver by hepatocytes but significant amounts are also produced by monocytes, macrophages, and epithelial cells [28, 62]. Activation of complement occurs in response to recognition of a foreign (or host) antigen and involves an enzymatic cascade that ensues the elimination of target cells [14, 15, 24, 78]. In this cascade an inactive precursor protein is cleaved to generate its active component which then cleaves and activates the next precursor protein [44].

Complement can become activated via three



pathways, the classical, lectin and alternative pathway. These pathways have different initiation molecules, but all converge to activate the same effector mechanisms for host defence which are the: a. **opsonisation**, the covalent binding of activated complement components to pathogens for elimination by recruited phagocytes, b. **anaphylaxis**, the release of activated complement components in the microenvironment for the recruitment of phagocytes, c. formation of the **membrane attack complex (MAC)** for lysis or stimulation of target cells [24, 44, 113, 114].

Complement opsonins are the first effectors of complement activation. The C3b fragment of C3 cleavage is the classical opsonin. Fragments of C4 act as opsonins, too. Phagocytes express specific receptors for complement opsonins. These receptors belong to three families: the short consensus repeat module-containing CR1 (CD35) and CR2 (CD21), the  $\beta 2$  integrin family members CR3 and CR4, and the immunoglobulin superfamily member CR1g [93, 110]. The goal of complement-mediated phagocytosis is the elimination of a target cell which is important for the fight of infection or the resolution of inflammation [37, 53, 92, 110].

Complement anaphylatoxins, the second effector of complement, aim to stimulate local inflammatory responses. The C3a and C5a anaphylatoxins, products of enzymatic cleavage of the C3 and C5 components, interact with the G-protein coupled anaphylatoxin receptors C3aR and C5aR expressed by immune and non-myeloid cells [7, 36, 39, 41, 73]. Activated cells are recruited to the site of complement activation and produce pro-inflammatory mediators to assist the elimination of danger or to contribute to the initiation of adaptive responses in the case of antigen presenting cells (APCs). In addition, C5a promotes the phagocytosis of the complement-targeted surfaces by stimulating the expression of CR1 or CR3 on the plasma membrane of monocytes [44].

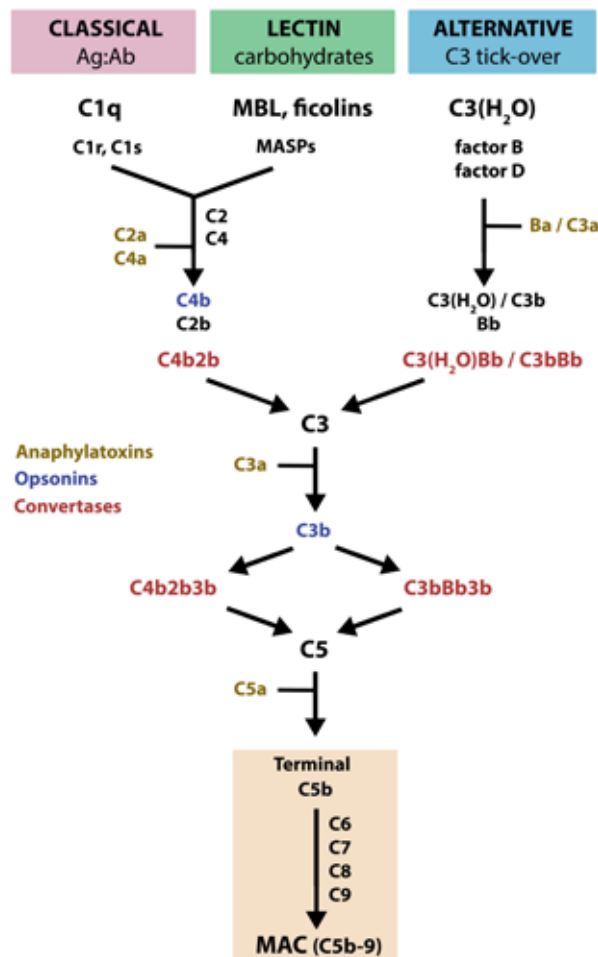
MAC is the last effector of the complement system. Its formation is initiated by the covalent binding of C5b to the target surface and continued by a series of reactions, each involving the assembly of one molecule of the complement components C6, C7 and C8, in that order. Binding of C8 induces the polymerization of C9 and the insertion of sixteen C9 molecules in the membrane of the target cell. The full complex forms a transmembrane channel of 100 Å diameter which disrupts the membrane integrity. The end effect is often the cell lysis because MAC induces free diffusion of molecules in and out of the cell which leads to loss of osmotic stability [11, 25, 82, 113, 114]. If MAC is present at sub-lytic concentrations it acts as a signalling mediator of inflammasome activation promoting pro-inflammatory responses [57, 106].

## Complement Pathways

Complement activation occurs early after infection on the surface of the pathogen via the classical, lectin or alternative pathway (Figure 1).

The classical pathway begins with the binding of the initiator molecule C1q on the surface of the target cell. C1q recognizes the target surface in two ways: a. the formation of an immune (antigen: antibody) complex which exposes a binding site for C1q at the Fc portion of the antibody, b. the presence of distinct molecules, patterns or structures [44, 108]. C1q is a subunit of the C1 complex, a multimeric, protein complex also composed of the C1r and C1s proteases. Upon binding of C1q to the target surface, C1r and C1s get activated. C1s cleaves the attracted C4 protein into C4a and C4b. C4a is released whereas, C4b (opsonin) is covalently deposited on the target surface, close to C1q. C4b

**Figure 1.** The pathways for complement activation: Classical, Lectin and Alternative pathway. All lead to the generation of C3 convertase for cleavage of C3 into C3a and C3b. Formation of the C5 convertase cleaves C5 into C5a and C5b. At the terminal pathway C5b interacts with C6, C7, C8 and C9 leading to formation of MAC



**Table 1.** Regulators of the classical and alternative complement pathways.

| Name                                 | Role   | Molecular action  |
|--------------------------------------|--|---|
| C1 inhibitor (C1INH)                 | Blocks activation of C1                      | Removes C1r, C1s from C1q   |
| C4 binding protein (C4BP)            | Accelerates decay of classical C3 convertase | Displaces C2b from C4b; cofactor for Factor I                         |
| Complement receptor 1 (CR1/CD35)     | Accelerates decay of C3 convertases          | Displaces C2b from C4b or Bb from C3b; cofactor for Factor I          |
| Decay accelerating factor (DAF/CD55) | Accelerates decay of C3 convertases          | Displaces C2b from C4b or Bb from C3b                                 |
| Membrane cofactor protein (MCP/CD46) | Inhibits C3 convertases                      | Degradation of C3b to iC3b; cofactor for Factor I                     |
| Factor I                             | Inhibits alternative C3 convertase           | Degradation of C3b and C4b  |
| Factor H                             | Accelerates decay of C3 convertase           | Displaces Bb from C3b; cofactor for Factor I                          |
| Factor P                             | Stabilizes alternative C3 convertase         | Stabilizes binding of C3b to a target                                 |
| CD59                                 | Prevents the formation of MAC                | Inserts between the C8 and C9 subunit                                 |
| Vitronectin                          | Prevents the formation of MAC                | Blocking of C5b-7 membrane binding or prevention of C9 polymerization |
| Clusterin                            | Prevents the formation of MAC                | Binding to C7, C8 or C9   |

attracts C2 which is also cleaved by C1s into C2a and C2b. C2a is released whereas C2b binds C4b forming the C4b2b complex, also known as C3 convertase [44]. C3 convertase cleaves C3 into C3a (anaphylatoxin) and C3b (opsonin). When the density of C3b opsonins becomes high, new C3b molecules start to bind the C3 convertase forming the C4b2b3b complex, also known as C5 convertase. C5 convertase cleaves C5 into C5a (anaphylatoxin) and C5b. When C5b associates with C6 and C7 it forms a complex that becomes inserted into the phospholipid bilayer of the cell membrane. This complex binds C8 and further induces activation of C9 and formation of MAC [113, 114].

The lectin pathway begins with the binding of mannose-binding lectin (MBL) or ficolins on the surface of the target cell. Circulating MBL or ficolins recognize the target surface by the presence of carbohydrate patterns. MBL is complexed with two components, the MBL-associated serine protease (MASP) 1 and MASP2 [44, 66]. Similar to C1r and C1s, MASPs get activated upon binding of MBL to the target surface and cleave the C4 and C2 components to form the C3 convertase. The pathway continues to form the C5 convertase and MAC [113, 114].

The alternative pathway begins by the slow spontaneous hydrolysis (called tick-over) of serum C3 to C3(H<sub>2</sub>O). C3(H<sub>2</sub>O) has a different conformation compared to C3; it exposes new binding sites which interact with another plasma molecule, factor B. Binding of factor B to C3(H<sub>2</sub>O) allows cleavage of factor B into Ba and Bb by a third molecule,

factor D. This results in the formation of the initial (or fluid phase) alternative pathway C3 convertase, C3(H<sub>2</sub>O)Bb [44]. Similar to the C3 convertase of the classical and lectin pathways, C3(H<sub>2</sub>O)Bb converts C3 into C3a and C3b. Some C3b molecules attach covalently to the target surface and associate with factor B, which can in turn be activated by factor D to yield Ba and Bb. This results in the formation of the alternative pathway C3 convertase, C3bBb [113, 114]. C3 convertase then forms C5 convertase (C3bBb3b) which cleaves C5 leading to the initiation of MAC formation.

### Complement Regulation

Most complement proteins circulate in the body as inactive precursor proteins. Other complement proteins are distributed in their active form but do not cause any adverse effects because their function is linked to complement activation. The complement system gets activated only at the sites of infection or potential threat. Activation at these sites is tightly controlled as excessive activation can cause damage of the host tissues [87]. A number of soluble or membrane bound proteins (Table 1) are natural inhibitors of complement activation and interfere with different steps of the complement cascade to modulate activity [60, 68, 99, 100, 109].

### Complement in immune surveillance

Complement serves as an immune surveillance system. It is constantly activated at low levels and probes





host cells with opsonins for a check-up of their health status [87]. If the probed cell is healthy it expresses surface-bound regulators which prevent any amplification of complement activation. However, if the probed cell is unhealthy, for example apoptotic, it expresses surface signals which amplify complement responses [17, 31, 107, 120]. Phagocytes can eliminate the complement-tagged apoptotic cells via the C3-C3aR axis [69, 90]. Residual or recruited regulators avoid activation of mechanisms downstream of C3 such as the terminal pathway therefore, preventing the generation of danger signals for stimulation of further immune reactions [87].

### Complement in neurodevelopment

Complement is involved in the elimination and refinement of synaptic connections in the brain during normal development. Using the developing retinogeniculate synapse as a model system Stevens et al. showed that the C1q-C3 axis of the classical complement pathway is activated on synapses to be removed therefore, it modulates the formation of mature circuits [103]. Mice deleted for C1q, C3 or C4 have excess synapses compared to wildtypes [98, 102]. In addition, knockout of C1q increases the incidence of epileptic seizures [16]. Complement proteins are possibly produced locally in the brain during normal development. Removal of complement-tagged synapses is mediated by microglia after binding to the CR3 receptor [97].

Complement is also linked to embryonic neurogenesis [18] and cerebellar development [9,10]. In the cerebellum, expression levels of the receptors C3aR and C5aR are increased soon after birth in the granule cells. These receptors possibly facilitate the migration of granule cells from the external to the internal granule layer.

### The contribution of complement to adaptive immunity

The complement system promotes humoral responses and links the innate to the adaptive immunity.

Complement plays a role in B lymphocyte immunity. B lymphocytes bear the CR1 and CR2 receptors that bind the C3b and C4b fragments, respectively [15, 47, 110]. Binding of complement-tagged antigens to B lymphocytes lowers the threshold for B lymphocytes activation which suggests that complement acts as a molecular adjuvant for B cell response [26]. Complement receptors on B lymphocytes are possibly associated with the retention of complement-tagged immune complexes in the lymphoid compartment [8, 27]. In addition, their presence determine longevity and differentiation of B lymphocytes whereas, their differential expression is linked to distinct subpopula-

tions of B lymphocytes [5, 14, 24, 30, 67]. Anaphylatoxins may also regulate the responses of B lymphocytes [29, 80]. There is evidence that B lymphocytes express the C3aR receptor which affects activation and release of inflammatory mediators [29].

Complement may affect T lymphocyte immunity. The earliest evidence supporting this hypothesis emerged from a model of influenza virus in which complement C3 was required for priming of T lymphocytes [14, 50]. T lymphocytes express C3aR, C5aR [23, 40, 19] and the membrane receptor CD59 hence, anaphylatoxins and MAC are modulators of T lymphocyte responses [51, 101, 104]. Alternatively, intracellular activation of complement C3 or C5 may stimulate T lymphocytes via the activation of the NLRP3 pathway [4]. T lymphocytes secrete alternative complement pathway components during cognate interactions with APCs. In this way, T lymphocytes may modulate the maturation and/or efficiency of APCs to clear antigens [54]. Conversely, APCs can also modulate T lymphocyte activation either by direct binding of locally produced C3a or C5a to T lymphocyte receptors [19, 54] or by a synergistic interaction between complement and the toll-like receptors (TLRs) expressed on APCs [87]. The complement – TLR crosstalk regulates the production and release of inflammatory mediators from phagocytes, such as chemokines and cytokines, regulating the activation and differentiation of distinct T lymphocyte populations [87].

### The association of complement with coagulation

The coagulation system is a main contributor to hemostasis. It is activated immediately after trauma to enhance local clotting and prevent invasion of microorganisms through the injured vessel [2]. Coagulation is resolved by fibrinolysis, the process of dissolution of the formed blood clots [45]. Similar to complement the coagulation system plays an important role in the innate immunity. In fact, the two systems interact with each other to defend the host from intruders which may cause systemic inflammation [79].

The process of complement activation by the coagulation system is referred to as the extrinsic pathway. Coagulation factors, kallikrein and thrombin are molecules of the coagulation pathway which can activate complement directly by cleaving C3 and C5, independently of the C3 and C5 convertases, for generation of C3a and C5a, respectively. In addition, direct activation of complement is mediated by plasmin which is a molecule of the fibrinolysis pathway [3, 42, 79]. Conversely, complement can amplify coagulation mainly via MASP2 which activates the coagulation components [52] or via C5a which affects the expression levels of coagulation components [89].



Complement is also associated with platelet activation, another important component of hemostasis. Platelets get activated at the site of vascular injury to regulate vascular integrity by promoting thrombosis. Activated platelets express P-selectin, a receptor for C3b capable of initiating the complement system locally at the sites of vascular injury [20].

### Complement related diseases

Imbalanced complement activation, either excessive or insufficient, can cause immune or inflammatory diseases.

Insufficient complement activation caused by deficiencies of the classical pathway components C1, C4, C2 or C3 or deficiency of the lectin pathway component MBL, may lead to re-current bacterial infections and/or a broad spectra of manifestations most often related to systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis or glomerulonephritis [107, 111]. There are different hypotheses explaining why inefficient complement leads to one of these clinical pictures: a. non-cleared apoptotic cells act as a source of autoantigens which after recognition by APCs lead to production of autoantibodies and other humoral responses [112], b. impaired clearance of immune complexes leads to endless inflammation and damage which in turn, trigger the release of autoantigens [12], c. impaired self-tolerance causes self-attacks likely due to failed inactivation of autoreactive B lymphocytes during maturation of the immune system [13].

On the other hand, excessive complement activation may lead to damage of the host and persistent activation of immune effector mechanisms. In other words, elevated levels of complement components, amplification of complement responses and/or activation of terminal complement effectors may cause or contribute to autoimmune reactions [87]. For example, elevated levels of MBL [81] or loss of complement regulators DAF (regulator of C3 convertase) or CD59 (inhibitor of MAC) were reported in SLE [86]. Moreover, elevated levels of C3a, C5a or MAC were reported at the synovial fluid in rheumatoid arthritis [22, 49]. Except for autoimmune diseases complement over-activation may also lead to other diseases caused by the consequential impairment of the immune defences and/or the deregulation of coagulation. Sepsis is an example of such a disease; its onset is associated with increased levels of C5a while, its development is associated with increased blood levels of C5a, C3a and MAC [116].

### Complement in nervous system pathology

Nerve injury, traumatic brain injury, spinal cord injury and stroke are acute neurotraumatic diseases

in which complement has an important pathological contribution [32, 70, 83, 85, 1]. In the CNS, acute injury might be associated with the influx of complement proteins and other immune components at the site of damage [56] through the ruptured blood brain or blood spinal cord barrier [46, 59]. Epitopes exposed on the injured cells such as myelin, DNA or phosphatidylserine bind complement proteins which then mediate the opsonization of the damaged cells [65, 94, 95, 105]. In the presence of a haemorrhage, complement activation might occur through the extrinsic pathway after interactions of complement proteins with proteins of the coagulation system [79].

Complement is also associated with neurodegenerative diseases that have a chronic inflammatory component. Genetic studies showed that allele variants in genes encoding for regulators of complement activation are associated with the risk of developing Alzheimer's disease [35, 55] or age-related macular degeneration [48]. In Alzheimer's disease, immunohistochemistry showed presence of various complement proteins on the senile plaques [64, 71]. Complement activation was also linked to glaucoma [91], Huntington's disease [72, 118], Parkinson's disease [21, 115], multiple sclerosis [43, 58, 61, 74-77, 84, 96] and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). In ALS, MAC was detected on still innervated motor endplates [6] and in experimental ALS at presymptomatic stages [38], suggesting a role as a modifier of disease progression.

### Complement Therapeutics

The function of complement as an early danger sensor regulating immune responses but also as a cell signalling molecule mediating intra- and/or inter-cellular responses has stimulated the discovery of several complement inhibiting drugs [57, 87, 88, 106]. A 'snapshot' of the complement drug discovery landscape was recently published [119]. Three rare immune diseases are treated with anti-complement agents. These are the atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS), the paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and the hereditary angioedema (HAE). In aHUS, loss-of-function mutations in complement regulatory proteins or gain-of-function mutations in complement components lead to thrombotic microangiopathy [117]. In PNH, loss of DAF and CD59 from the plasma membrane of erythrocytes leads to intravascular hemolysis [63]. In HAE, loss-of-function mutation in the complement regulatory protein C1INH leads to re-current episodes of angioedema [34]. In addition, increasing attention is being paid to the application of a complement therapy in the treatment of neurological disease. Eculizumab, an anti-C5 monoclonal antibody that effectively inhibits terminal complement activation, previously approved





by the US Food and Drug Administration (FDA) for treatment of PNH and myasthenia gravis, received in 2019 approval for treatment of neuromyelitis optica spectrum disorder (NMOSD) in adults.

In general, a successful anti-complement therapy should aim at blocking the disease-causing complement functions without altering the physiological complement-mediated immune vigilance. For this purpose, it is crucial to define the optimal disease-specific point of intervention, route of administration and duration of the treatment. Notably, complement inhibition, similar to most immunomodulatory interventions, weakens the immune responses to pathogens. Therefore, it is currently recommended that patients receiving an anti-complement therapy receive prophylactic care such as antibiotics and vaccination against all meningococcal strains [33].

## References

- [1] Alawieh A, Andersen M, Adkins DL, Tomlinson S (2018) Acute Complement Inhibition Potentiates Neurorehabilitation and Enhances tPA-Mediated Neuroprotection. *J Neurosci* 38:6527-6545. doi:10.1523/JNEUROSCI.0111-18.2018
- [2] Alperin JB (1995) Hematology: Basic Principles and Practice, 2nd ed. *Tex Heart Inst J* 22:206-207
- [3] Amara U, Flierl MA, Rittirsch D, Klos A, Chen H, Acker B, Bruckner UB, Nilsson B, Gebhard F, Lambris JD, Huber-Lang M (2010) Molecular intercommunication between the complement and coagulation systems. *J Immunol* 185:5628-5636. doi:10.4049/jimmunol.0903678
- [4] Arbore G, West EE, Spolski R, Robertson AAB, Klos A, Rheinheimer C, Dutow P, Woodruff TM, Yu ZX, O'Neill LA, Coll RC, Sher A, Leonard WJ, Kohl J, Monk P, Cooper MA, Arno M, Afzali B, Lachmann HJ, Cope AP, Mayer-Barber KD, Kemper C (2016) T helper 1 immunity requires complement-driven NLRP3 inflammasome activity in CD4(+) T cells. *Science* 352:aad1210. doi:10.1126/science.aad1210
- [5] Arnold LW, Pennell CA, McCray SK, Clarke SH (1994) Development of B-1 cells: segregation of phosphatidyl choline-specific B cells to the B-1 population occurs after immunoglobulin gene expression. *J Exp Med* 179:1585-1595
- [6] Bahia El Idrissi N, Bosch S, Ramaglia V, Aronica E, Baas F, Troost D (2016) Complement activation at the motor end-plates in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroinflammation* 13:72. doi:10.1186/s12974-016-0538-2
- [7] Bao L, Gerard NP, Eddy RL, Jr., Shows TB, Gerard C (1992) Mapping of genes for the human C5a receptor (C5AR), human FMLP receptor (FPR), and two FMLP receptor homologue orphan receptors (FPRH1, FPRH2) to chromosome 19. *Genomics* 13:437-440
- [8] Barrington RA, Pozdnyakova O, Zafari MR, Benjamin CD, Carroll MC (2002) B lymphocyte memory: role of stromal cell complement and FcγRIIB receptors. *J Exp Med* 196:1189-1199
- [9] Benard M, Gonzalez BJ, Schouft MT, Falluel-Morel A, Vaudry D, Chan P, Vaudry H, Fontaine M (2004) Characterization of C3a and C5a receptors in rat cerebellar granule neurons during maturation. Neuroprotective effect of C5a against apoptotic cell death. *J Biol Chem* 279:43487-43496. doi:10.1074/jbc.M404124200
- [10] Bénard M, Raoult E, Vaudry D, Leprince J, Falluel-Morel A, Gonzalez BJ, Galas L, Vaudry H, Fontaine M (2008) Role of complement anaphylatoxin receptors (C3aR, C5aR) in the development of the rat cerebellum. *Mol Immunol* 45:3767-3774. doi:10.1016/j.molimm.2008.05.027
- [11] Bhakdi S, Tranum-Jensen J (1983) Membrane damage by complement. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes* 737:343-372. doi:https://doi.org/10.1016/0304-4157(83)90006-0
- [12] Boackle SA (2003) Complement and autoimmunity. *Biomed Pharmacother* 57:269-273. doi:https://doi.org/10.1016/S0753-3322(03)00084-2
- [13] Carroll MC (2000) The role of complement in B cell activation and tolerance. *Adv Immunol* 74:61-88
- [14] Carroll MC (2004) The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nat Immunol* 5:981-986. doi:10.1038/ni1113
- [15] Carroll MC (2008) Complement and humoral immunity. *Vaccine* 26 Suppl 8:128-33
- [16] Chu Y, Jin X, Parada I, Pesic A, Stevens B, Barres B, Prince DA (2010) Enhanced synaptic connectivity and epilepsy in C1q knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:7975-7980. doi:10.1073/pnas.0913449107
- [17] Cole DS, Hughes TR, Gasque P, Morgan BP (2006) Complement regulator loss on apoptotic neuronal cells causes increased complement activation and promotes both phagocytosis and cell lysis. *Mol Immunol* 43:1953-1964. doi:10.1016/j.molimm.2005.11.015
- [18] Coulthard LG, Hawksworth OA, Li R, Balachandran A, Lee JD, Seppehrband F, Kurniawan N, Jeanes A, Simmons DG, Wolvetang E, Woodruff TM (2017) Complement C5aR1 Signaling Promotes Polarization and Proliferation of Embryonic Neural Progenitor Cells through PKC-



- zeta. *J Neurosci* 37:5395-5407. doi:10.1523/JNEUROSCI.0525-17.2017
- [19] Cravedi P, Leventhal J, Lakhani P, Ward SC, Donovan MJ, Heeger PS (2013) Immune cell-derived C3a and C5a costimulate human T cell alloimmunity. *Am J Transplant* 13:2530-2539. doi:10.1111/ajt.12405
- [20] Del Conde I, Cruz MA, Zhang H, Lopez JA, Afshar-Kharghan V (2005) Platelet activation leads to activation and propagation of the complement system. *J Exp Med* 201:871-879. doi:10.1084/jem.20041497
- [21] Depboylu C, Schafer MK, Arias-Carrion O, Oertel WH, Weihe E, Hoglinger GU (2011) Possible involvement of complement factor C1q in the clearance of extracellular neuromelanin from the substantia nigra in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 70:125-132. doi:10.1097/NEN.0b013e31820805b9
- [22] Doherty M, Richards N, Hornby J, Powell R (1988) Relation between synovial fluid C3 degradation products and local joint inflammation in rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and crystal associated arthropathy. *Ann Rheum Dis* 47:190-197
- [23] Drouin SM, Corry DB, Hollman TJ, Kildsgaard J, Wetsel RA (2002) Absence of the complement anaphylatoxin C3a receptor suppresses Th2 effector functions in a murine model of pulmonary allergy. *J Immunol* 169:5926-5933
- [24] Dunkelberger JR, Song WC (2010) Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res* 20:34-50. doi:10.1038/cr.2009.139
- [25] Esser AF (1994) The membrane attack complex of complement. Assembly, structure and cytotoxic activity. *Toxicology* 87:229-247
- [26] Fearon DT, Locksley RM (1996) The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science* 272:50-53
- [27] Ferguson AR, Youd ME, Corley RB (2004) Marginal zone B cells transport and deposit IgM-containing immune complexes onto follicular dendritic cells. *Int Immunol* 16:1411-1422. doi:10.1093/intimm/dxh142
- [28] Fey G, Colten HR (1981) Biosynthesis of complement components. *Fed Proc* 40:2099-2104
- [29] Fischer WH, Hugli TE (1997) Regulation of B cell functions by C3a and C3a(desArg): suppression of TNF- $\alpha$ , IL-6, and the polyclonal immune response. *J Immunol* 159:4279-4286
- [30] Fleming SD, Shea-Donohue T, Guthridge JM, Kulik L, Waldschmidt TJ, Gipson MG, Tsokos GC, Holers VM (2002) Mice deficient in complement receptors 1 and 2 lack a tissue injury-inducing subset of the natural antibody repertoire. *J Immunol* 169:2126-2133
- [31] Flierman R, Daha MR (2007) The clearance of apoptotic cells by complement. *Immunobiology* 212:363-370. doi:10.1016/j.imbio.2006.11.005
- [32] Fluiter K, Opperhuizen AL, Morgan BP, Baas F, Ramaglia V (2014) Inhibition of the membrane attack complex of the complement system reduces secondary neuroaxonal loss and promotes neurologic recovery after traumatic brain injury in mice. *J Immunol* 192:2339-2348. doi:10.4049/jimmunol.1302793
- [33] Folaranmi T, Rubin L, Martin SW, Patel M, MacNeil JR, Centers for Disease C (2015) Use of Serogroup B Meningococcal Vaccines in Persons Aged  $\geq 10$  Years at Increased Risk for Serogroup B Meningococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 64:608-612
- [34] Georgy MS, Pongracic JA (2012) Chapter 22: Hereditary and acquired angioedema. *Allergy Asthma Proc* 33 Suppl 1:73-76. doi:10.2500/aap.2012.33.3555
- [35] Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, Dowzell K, Williams A, Jones N, Thomas C, Stretton A, Morgan AR, Lovestone S, Powell J, Proitsi P, Lupton MK, Brayne C, Rubinsztein DC, Gill M, Lawlor B, Lynch A, Morgan K, Brown KS, Passmore PA, Craig D, McGuinness B, Todd S, Holmes C, Mann D, Smith AD, Love S, Kehoe PG, Hardy J, Mead S, Fox N, Rossor M, Collinge J, Maier W, Jessen F, Schurmann B, Heun R, van den Bussche H, Heuser I, Kornhuber J, Wiltfang J, Dichgans M, Frolich L, Hampel H, Hull M, Rujescu D, Goate AM, Kauwe JS, Cruchaga C, Nowotny P, Morris JC, Mayo K, Sleegers K, Bettens K, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C, Livingston G, Bass NJ, Gurling H, McQuillin A, Gwilliam R, Deloukas P, Al-Chalabi A, Shaw CE, Tsolaki M, Singleton AB, Guerreiro R, Muhleisen TW, Nothen MM, Moebus S, Jockel KH, Klopp N, Wichmann HE, Carrasquillo MM, Pankratz VS, Younkin SG, Holmans PA, O'Donovan M, Owen MJ, Williams J (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 41:1088-1093. doi:10.1038/ng.440
- [36] Haviland DL, McCoy RL, Whitehead WT, Akama H, Molmenti EP, Brown A, Haviland JC, Parks WC, Perlmutter DH, Wetsel RA (1995) Cellular expression of the C5a anaphylatoxin receptor (C5aR): demonstration of C5aR on nonmyeloid cells of the liver and lung. *J Immunol* 154:1861-1869
- [37] Helmy KY, Katschke KJ, Jr., Gorgani NN, Kljavin NM, Elliott JM, Diehl L, Scales SJ, Ghilardi N, van Lookeren Campagne M (2006) CRIg: a macrophage complement receptor required







- for phagocytosis of circulating pathogens. *Cell* 124:915-927. doi:10.1016/j.cell.2005.12.039
- [38] Heurich B, El Idrissi NB, Donev RM, Petri S, Claus P, Neal J, Morgan BP, Ramaglia V (2011) Complement upregulation and activation on motor neurons and neuromuscular junction in the SOD1 G93A mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuroimmunol* 235:104-109. doi:10.1016/j.jneuroim.2011.03.011
- [39] Hollmann TJ, Haviland DL, Kildsgaard J, Watts K, Wetsel RA (1998) Cloning, expression, sequence determination, and chromosome localization of the mouse complement C3a anaphylatoxin receptor gene. *Mol Immunol* 35:137-148
- [40] Hopken UE, Lu B, Gerard NP, Gerard C (1996) The C5a chemoattractant receptor mediates mucosal defence to infection. *Nature* 383:86-89. doi:10.1038/383086a0
- [41] Hsu MH, Ember JA, Wang M, Prossnitz ER, Hugli TE, Ye RD (1997) Cloning and functional characterization of the mouse C3a anaphylatoxin receptor gene. *Immunogenetics* 47:64-72
- [42] Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, Rittirsch D, Neff TA, McGuire SR, Lambris JD, Warner RL, Flierl MA, Hoesel LM, Gebhard F, Younger JG, Drouin SM, Wetsel RA, Ward PA (2006) Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 12:682-687. doi:10.1038/nm1419
- [43] Ingram G, Hakobyan S, Robertson NP, Morgan BP (2009) Complement in multiple sclerosis: its role in disease and potential as a biomarker. *Clin Exp Immunol* 155:128-139. doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03830.x
- [44] Janeway CA Jr TP, Walport M, et al. (2001) *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th edn. Garland Science, New York
- [45] Kane KK (1984) Fibrinolysis--a review. *Ann Clin Lab Sci* 14:443-449
- [46] Keaney J, Campbell M (2015) The dynamic blood-brain barrier. *FEBS J* 282:4067-4079. doi:10.1111/febs.13412
- [47] Kinoshita T, Thyphronitis G, Tsokos GC, Finkelman FD, Hong K, Sakai H, Inoue K (1990) Characterization of murine complement receptor type 2 and its immunological cross-reactivity with type 1 receptor. *Int Immunol* 2:651-659
- [48] Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J (2005) Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 308:385-389. doi:10.1126/science.1109557
- [49] Konttinen YT, Ceponis A, Meri S, Vuorikoski A, Kortekangas P, Sorsa T, Sukura A, Santavirta S (1996) Complement in acute and chronic arthritides: assessment of C3c, C9, and protectin (CD59) in synovial membrane. *Ann Rheum Dis* 55:888-894
- [50] Kopf M, Abel B, Gallimore A, Carroll M, Bachmann MF (2002) Complement component C3 promotes T-cell priming and lung migration to control acute influenza virus infection. *Nat Med* 8:373-378. doi:10.1038/nm0402-373
- [51] Korty PE, Brando C, Shevach EM (1991) CD59 functions as a signal-transducing molecule for human T cell activation. *J Immunol* 146:4092-4098
- [52] Krarup A, Wallis R, Presanis JS, Gal P, Sim RB (2007) Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2. *PLoS One* 2:e623. doi:10.1371/journal.pone.0000623
- [53] Krych-Goldberg M, Atkinson JP (2001) Structure-function relationships of complement receptor type 1. *Immunol Rev* 180:112-122
- [54] Kwan WH, van der Touw W, Heeger PS (2012) Complement regulation of T cell immunity. *Immunol Res* 54:247-253. doi:10.1007/s12026-012-8327-1
- [55] Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, Zelenika D, Bullido MJ, Tavernier B, Letenneur L, Bettens K, Berr C, Pasquier F, Fievet N, Barberger-Gateau P, Engelborghs S, De Deyn P, Mateo I, Franck A, Helisalmi S, Porcellini E, Hanon O, European Alzheimer's Disease Initiative I, de Pancorbo MM, Lendon C, Dufouil C, Jaillard C, Leveillard T, Alvarez V, Bosco P, Mancuso M, Panza F, Nacmias B, Bossu P, Piccardi P, Annoni G, Seripa D, Galimberti D, Hannequin D, Licastro F, Soininen H, Ritchie K, Blanche H, Dartigues JF, Tzourio C, Gut I, Van Broeckhoven C, Alperovitch A, Lathrop M, Amouyel P (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet* 41:1094-1099. doi:10.1038/ng.439
- [56] Lassmann H (2015) Immune Response in the Human Central Nervous System in Multiple Sclerosis and Stroke. In: David S (ed) *In Neuroinflammation: New Insights into Beneficial and Detrimental Functions*. First edn. John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, NJ. doi:10.1002/9781118732748.ch1
- [57] Laudisi F, Spreafico R, Evrard M, Hughes TR, Mandriani B, Kandasamy M, Morgan BP, Sivasankar B, Mortellaro A (2013) Cutting edge: the NLRP3 inflammasome links complement-mediated inflammation and IL-1beta release. *J Immunol* 191:1006-1010. doi:10.4049/jimmunol.1300489



- [58] Li Q, Nacion K, Bu H, Lin F (2009) The complement inhibitor FUT-175 suppresses T cell autoreactivity in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am J Pathol* 175:661-667. doi:10.2353/ajpath.2009.081093
- [59] Liebner S, Dijkhuizen RM, Reiss Y, Plate KH, Agalliu D, Constantin G (2018) Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease. *Acta Neuropathol* 135:311-336. doi:10.1007/s00401-018-1815-1
- [60] Liszewski MK, Farries TC, Lublin DM, Rooney IA, Atkinson JP (1996) Control of the complement system. *Adv Immunol* 61:201-283
- [61] Liu J, Miwa T, Hilliard B, Chen Y, Lambris JD, Wells AD, Song WC (2005) The complement inhibitory protein DAF (CD55) suppresses T cell immunity in vivo. *J Exp Med* 201:567-577. doi:10.1084/jem.20040863
- [62] Lubbers R, van Essen MF, van Kooten C, Trouw LA (2017) Production of complement components by cells of the immune system. *Clin Exp Immunol* 188:183-194. doi:10.1111/cei.12952
- [63] Mastellos DC, Ricklin D, Yancopoulos D, Risitano A, Lambris JD (2014) Complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: exploiting our current knowledge to improve the treatment landscape. *Expert Rev Hematol* 7:583-598. doi:10.1586/17474086.2014.953926
- [64] McGeer PL, Klegeris A, Walker DG, Yasuhara O, McGeer EG (1994) Pathological proteins in senile plaques. *Tohoku J Exp Med* 174:269-277
- [65] Mead RJ, Singhrao SK, Neal JW, Lassmann H, Morgan BP (2002) The membrane attack complex of complement causes severe demyelination associated with acute axonal injury. *J Immunol* 168:458-465
- [66] Medzhitov R, Janeway C, Jr. (2000) Innate immunity. *N Engl J Med* 343:338-344. doi:10.1056/NEJM200008033430506
- [67] Melchers F, Erdei A, Schulz T, Dierich MP (1985) Growth control of activated, synchronized murine B cells by the C3d fragment of human complement. *Nature* 317:264. doi:10.1038/317264a0
- [68] Meri S, Morgan BP, Davies A, Daniels RH, Olavesen MG, Waldmann H, Lachmann PJ (1990) Human protectin (CD59), an 18,000-20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers. *Immunology* 71:1-9
- [69] Mevorach D, Mascarenhas JO, Gershov D, Elkon KB (1998) Complement-dependent clearance of apoptotic cells by human macrophages. *J Exp Med* 188:2313-2320
- [70] Michailidou I, Naessens DM, Hametner S, Guldenaar W, Kooi EJ, Geurts JJ, Baas F, Lassmann H, Ramaglia V (2017) Complement C3 on microglial clusters in multiple sclerosis occur in chronic but not acute disease: Implication for disease pathogenesis. *Glia* 65:264-277. doi:10.1002/glia.23090
- [71] Michailidou I, Willems JG, Kooi EJ, van Eden C, Gold SM, Geurts JJ, Baas F, Huitinga I, Ramaglia V (2015) Complement C1q-C3-associated synaptic changes in multiple sclerosis hippocampus. *Ann Neurol* 77:1007-1026. doi:10.1002/ana.24398
- [72] Moller T (2010) Neuroinflammation in Huntington's disease. *J Neural Transm (Vienna)* 117:1001-1008. doi:10.1007/s00702-010-0430-7
- [73] Monk PN, Scola AM, Madala P, Fairlie DP (2007) Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. *Br J Pharmacol* 152:429-448. doi:10.1038/sj.bjp.0707332
- [74] Morariu MA, Dalmaso AP (1978) Experimental allergic encephalomyelitis in cobra venom factor-treated and C4-deficient guinea pigs. *Ann Neurol* 4:427-430. doi:10.1002/ana.410040507
- [75] Morgan BP, Campbell AK, Compston DA (1984) Terminal component of complement (C9) in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Lancet* 2:251-254
- [76] Nataf S, Carroll SL, Wetsel RA, Szalai AJ, Barnum SR (2000) Attenuation of experimental autoimmune demyelination in complement-deficient mice. *J Immunol* 165:5867-5873
- [77] Niculescu T, Weerth S, Niculescu F, Cudrici C, Rus V, Raine CS, Shin ML, Rus H (2004) Effects of complement C5 on apoptosis in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 172:5702-5706
- [78] Ochsenbein AF, Zinkernagel RM (2000) Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity. *Immunol Today* 21:624-630. doi:https://doi.org/10.1016/S0167-5699(00)01754-0
- [79] Oikonomopoulou K, Ricklin D, Ward PA, Lambris JD (2012) Interactions between coagulation and complement--their role in inflammation. *Semin Immunopathol* 34:151-165. doi:10.1007/s00281-011-0280-x
- [80] Ottonello L, Corcione A, Tortolina G, Airoidi I, Albesiano E, Favre A, D'Agostino R, Malavasi F, Pistoia V, Dallegri F (1999) rC5a directs the in vitro migration of human memory and naive tonsillar B lymphocytes: implications for B cell trafficking in secondary lymphoid tissues. *J Immunol* 162:6510-6517
- [81] Panda AK, Parida JR, Tripathy R, Pattanaik SS, Ravindran B, Das BK (2012) Mannose binding lectin: a biomarker of systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis Res Ther* 14:R218. doi:10.1186/ar4057





- [82] Papadimitriou JC, Ramm LE, Drachenberg CB, Trump BF, Shin ML (1991) Quantitative analysis of adenine nucleotides during the prelytic phase of cell death mediated by C5b-9. *J Immunol* 147:212-217
- [83] Qiao F, Atkinson C, Song H, Pannu R, Singh I, Tomlinson S (2006) Complement plays an important role in spinal cord injury and represents a therapeutic target for improving recovery following trauma. *Am J Pathol* 169:1039-1047. doi:10.2353/ajpath.2006.060248
- [84] Ramaglia V, Hughes TR, Donev RM, Ruseva MM, Wu X, Huitinga I, Baas F, Neal JW, Morgan BP (2012) C3-dependent mechanism of microglial priming relevant to multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:965-970. doi:10.1073/pnas.1111924109
- [85] Ramaglia V, King RH, Nourallah M, Wolterman R, de Jonge R, Ramkema M, Vigar MA, van der Wetering S, Morgan BP, Troost D, Baas F (2007) The membrane attack complex of the complement system is essential for rapid Wallerian degeneration. *J Neurosci* 27:7663-7672. doi:10.1523/JNEUROSCI.5623-06.2007
- [86] Richaud-Patin Y, Pérez-Romano B, Carrillo-Maravilla E, Rodriguez AB, Simon AJ, Cabiedes J, Jakez-Ocampo J, Llorente L, Ruiz-Argüelles A (2003) Deficiency of red cell bound CD55 and CD59 in patients with systemic lupus erythematosus. *Immunol Lett* 88:95-99. doi:https://doi.org/10.1016/S0165-2478(03)00066-X
- [87] Ricklin D, Hajshengallis G, Yang K, Lambris JD (2010) Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol* 11:785-797. doi:10.1038/ni.1923
- [88] Ricklin D, Lambris JD (2013) Progress and Trends in Complement Therapeutics. *Adv Exp Med Biol* 735:1-22. doi:10.1007/978-1-4614-4118-2\_1
- [89] Ritis K, Doumas M, Mastellos D, Micheli A, Giaglis S, Magotti P, Rafail S, Kartalis G, Sideras P, Lambris JD (2006) A novel C5a receptor-tissue factor cross-talk in neutrophils links innate immunity to coagulation pathways. *J Immunol* 177:4794-4802
- [90] Rosales C, Uribe-Querol E (2017) Phagocytosis: A Fundamental Process in Immunity. *Biomed Res Int* 2017:9042851. doi:10.1155/2017/9042851
- [91] Rosen AM, Stevens B (2010) The role of the classical complement cascade in synapse loss during development and glaucoma. *Adv Exp Med Biol* 703:75-93. doi:10.1007/978-1-4419-5635-4\_6
- [92] Ross GD (2000) Regulation of the adhesion versus cytotoxic functions of the Mac-1/CR3/alphaMbeta2-integrin glycoprotein. *Crit Rev Immunol* 20:197-222
- [93] Ross GD, Medof ME (1985) Membrane complement receptors specific for bound fragments of C3. *Adv Immunol* 37:217-267
- [94] Rus H, Cudrici C, Niculescu F (2005) C5b-9 complement complex in autoimmune demyelination and multiple sclerosis: dual role in neuroinflammation and neuroprotection. *Ann Med* 37:97-104
- [95] Rus H, Cudrici C, Niculescu F (2006) C5b-9 complement complex in autoimmune demyelination: dual role in neuroinflammation and neuroprotection. *Adv Exp Med Biol* 586:139-151. doi:10.1007/0-387-34134-X\_10
- [96] Rus H, Cudrici C, Niculescu F, Shin ML (2006) Complement activation in autoimmune demyelination: dual role in neuroinflammation and neuroprotection. *J Neuroimmunol* 180:9-16. doi:10.1016/j.jneuroim.2006.07.009
- [97] Schafer Dorothy P, Lehrman Emily K, Kautzman Amanda G, Koyama R, Mardinly Alan R, Yamasaki R, Ransohoff Richard M, Greenberg Michael E, Barres Ben A, Stevens B (2012) Microglia Sculpt Postnatal Neural Circuits in an Activity and Complement-Dependent Manner. *Neuron* 74:691-705. doi:https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.026
- [98] Sekar A, Bialas AR, de Rivera H, Davis A, Hammond TR, Kamitaki N, Tooley K, Presumey J, Baum M, Van Doren V, Genovese G, Rose SA, Handsaker RE, Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics C, Daly MJ, Carroll MC, Stevens B, McCarroll SA (2016) Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature* 530:177-183. doi:10.1038/nature16549
- [99] Seya T, Hirano A, Matsumoto M, Nomura M, Ueda S (1999) Human membrane cofactor protein (MCP, CD46): multiple isoforms and functions. *Int J Biochem Cell Biol* 31:1255-1260
- [100] Sim RB, Day AJ, Moffatt BE, Fontaine M (1993) Complement factor I and cofactors in control of complement system convertase enzymes. *Methods Enzymol* 223:13-35
- [101] Sivasankar B, Longhi MP, Gallagher KM, Betts GJ, Morgan BP, Godkin AJ, Gallimore AM (2009) CD59 blockade enhances antigen-specific CD4+ T cell responses in humans: a new target for cancer immunotherapy? *J Immunol* 182:5203-5207. doi:10.4049/jimmunol.0804243
- [102] Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Huberman AD, Stafford B, Sher A, Litke AM, Lambris JD, Smith SJ, John SW, Barres BA (2007) The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell* 131:1164-1178. doi:10.1016/j.cell.2007.10.036



- [103] Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Huberman AD, Stafford B, Sher A, Litke Alan M, Lambris JD, Smith SJ, John SWM, Barres BA (2007) The Classical Complement Cascade Mediates CNS Synapse Elimination. *Cell* 131:1164-1178. doi:https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.036
- [104] Suzuki KG, Kasai RS, Hirosewa KM, Nemoto YL, Ishibashi M, Miwa Y, Fujiwara TK, Kusumi A (2012) Transient GPI-anchored protein homodimers are units for raft organization and function. *Nat Chem Biol* 8:774-783. doi:10.1038/nchembio.1028
- [105] Tornqvist E, Liu L, Aldskogius H, Holst HV, Svensson M (1996) Complement and clusterin in the injured nervous system. *Neurobiol Aging* 17:695-705
- [106] Triantafilou K, Hughes TR, Triantafilou M, Morgan BP (2013) The complement membrane attack complex triggers intracellular Ca<sup>2+</sup> fluxes leading to NLRP3 inflammasome activation. *J Cell Sci* 126:2903-2913. doi:10.1242/jcs.124388
- [107] Trouw LA, Blom AM, Gasque P (2008) Role of complement and complement regulators in the removal of apoptotic cells. *Mol Immunol* 45:1199-1207. doi:10.1016/j.molimm.2007.09.008
- [108] Trouw LA, Daha MR (2011) Role of complement in innate immunity and host defense. *Immunol Lett* 138:35-37. doi:https://doi.org/10.1016/j.imlet.2011.02.014
- [109] Turnberg D, Botto M (2003) The regulation of the complement system: insights from genetically-engineered mice. *Mol Immunol* 40:145-153
- [110] van Lookeren Campagne M, Wiesmann C, Brown EJ (2007) Macrophage complement receptors and pathogen clearance. *Cell Microbiol* 9:2095-2102. doi:10.1111/j.1462-5822.2007.00981.x
- [111] Vignesh P, Rawat A, Sharma M, Singh S (2017) Complement in autoimmune diseases. *Clin Chim Acta* 465:123-130. doi:https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.12.017
- [112] Walport MJ (2001) Complement. *N Engl J Med* 344:1140-1144. doi:10.1056/nejm200104123441506
- [113] Walport MJ (2001) Complement. First of two parts. *N Engl J Med* 344:1058-1066. doi:10.1056/NEJM200104053441406
- [114] Walport MJ (2001) Complement. Second of two parts. *N Engl J Med* 344:1140-1144. doi:10.1056/NEJM200104123441506
- [115] Wang XJ, Yan ZQ, Lu GQ, Stuart S, Chen SD (2007) Parkinson disease IgG and C5a-induced synergistic dopaminergic neurotoxicity: role of microglia. *Neurochem Int* 50:39-50. doi:10.1016/j.neuint.2006.07.014
- [116] Ward PA (2004) The dark side of C5a in sepsis. *Nat Rev Immunol* 4:133-142. doi:10.1038/nri1269
- [117] Wong EKS, Goodship THJ, Kavanagh D (2013) Complement therapy in atypical haemolytic uraemic syndrome (aHUS). *Mol Immunol* 56:199-212. doi:10.1016/j.molimm.2013.05.224
- [118] Woodruff TM, Crane JW, Proctor LM, Buller KM, Shek AB, de Vos K, Pollitt S, Williams HM, Shiels IA, Monk PN, Taylor SM (2006) Therapeutic activity of C5a receptor antagonists in a rat model of neurodegeneration. *FASEB J* 20:1407-1417. doi:10.1096/fj.05-5814com
- [119] Zelek WM, Xie L, Morgan BP, Harris CL (2019) Compendium of current complement therapeutics. *Molecular Immunology* 114:341-352. doi:https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.07.030
- [120] Zipfel PF, Skerka C (2009) Complement regulators and inhibitory proteins. *Nat Rev Immunol* 9:729-740. doi:10.1038/nri2620





## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙ-CD20 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΑΝΟΣΟΔΙΑΜΕΣΟΛΑΒΟΥΜΕΝΕΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

Ευαγγελία Κεσιδού<sup>1,3</sup>, Ναταλία Κωνσταντινίδου<sup>2</sup>, Χρήστος Μπακιρτζής<sup>2</sup>, Μαρίνα-Κλεοπάτρα Μποζικη<sup>1,2</sup>, Ιωάννης Νικολαΐδης<sup>2</sup>, Πασχάλης Θεοτόκης<sup>1</sup>, Ελένη Πολυζωίδου<sup>1,2</sup>, Ελένη Γρηγοριάδου<sup>2</sup>, Χαρίλαος Ταλουμτζής<sup>2,4</sup>, Κωνσταντίνα Συμεωνίδου<sup>3</sup>, Νικόλαος Γρηγοριάδης<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Πειραματικής Νευρολογίας και Νευροανοσολογίας, Β' Νευρολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>2</sup> Κέντρο Πολλαπλής Σκλήρυνσης, Β' Νευρολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>3</sup> Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας, Τομέας Φυσιολογίας, Φαρμακολογίας, Βιολογικών Επιστημών και Προληπτικής Ιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>4</sup> 424 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Εκπαιδεύσεως, Τμήμα Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη

### Περίληψη

Οι anti-CD20 θεραπείες εφαρμόζονται και μελετώνται πολλά χρόνια, θέτοντας ισχυρή βάση για το ρόλο που διαδραματίζουν τα Β-λεμφοκύτταρα στις ανοσοδιαμεσολαβούμενες νόσους. Η ραγδαία εξέλιξη των τεχνολογιών της γενετικής μηχανικής άνοιξε το δρόμο για τη δημιουργία ομοίων και πιο ευεργετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων καταλληλότερων προς την ανθρώπινη φύση. Τα τελευταία χρόνια πέραν της χρησιμοποίησής τους κατά κόρον σε κακοήθειες του αίματος, διεξήχθησαν μελέτες για τη χορήγηση αυτών σε νευρολογικές παθήσεις με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Το παρόν ανασκοπικό άρθρο πραγματεύεται τους μηχανισμούς δράσης των anti-CD20 μονοκλωνικών αντισωμάτων, καθώς και τις anti-CD20 θεραπείες που χορηγούνται σε φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες παθήσεις του νευρικού συστήματος.

**Λέξεις κλειδιά:** Β-λεμφοκύτταρα, Μονοκλωνικά αντισώματα, CDC, ADCC, Rituximab, Ofatumumab, Ocrelizumab, Ublituximab

## MECHANISMS OF ACTION OF ANTI-CD20 MONOCLONAL ANTIBODIES IN IMMUNE-MEDIATED NEUROLOGICAL DISORDERS

Evangelia Kesidou<sup>1,3</sup>, Natalia Konstantinidou<sup>2</sup>, Christos Bakirtzis<sup>2</sup>, Marina-Kleopatra Boziki<sup>1,2</sup>, Ioannis Nikolaidis<sup>2</sup>, Paschalis Theotokis<sup>1</sup>, Eleni Polyzoidou<sup>1,2</sup>, Eleni Grigoriadou<sup>2</sup>, Charilaos Taloumtzis<sup>2,4</sup>, Constantina Symeonidou<sup>3</sup>, Nikolaos Grigoriadis<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Experimental Neurology and Neuroimmunology, B' Department of Neurology, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>2</sup> Multiple Sclerosis Center, B' Department of Neurology, Aristotle University of Thessaloniki

<sup>3</sup> Laboratory of Experimental Physiology, Sector of Biological Sciences and Preventive Medicine, School of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

<sup>4</sup> 424 General Military Hospital of Thessaloniki, Department of Gastroenterology, Thessaloniki, Macedonia, Greece

### Abstract

Anti-CD20 monoclonal antibodies count many years of research interest, settling a solid base for the significant impact of B-lymphocytes in immune-mediated disorders. Moving forward, the progress in genetic-engineering technologies has paved the way for the development of increasingly beneficial monoclonal antibodies compatible with human-nature. The last decade, additionally to their vast dispensation in order to manipulate types of blood cancer, clinical trials have emerged to evaluate their efficiency in neurological diseases giving encouraging results. This review article provides details about anti-CD20 monoclonal anti-



bodies mechanisms of action, as well as the established anti-CD20 regimens that are being administered in inflammatory and autoimmune diseases of the nervous system.

**Key words:** B-lymphocytes, Monoclonal antibodies, CDC, ADCC, Rituximab, Ofatumumab, Ocrelizumab, Ublituximab

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ B-λεμφοκύτταρα και Μονοκλωνικά αντισώματα

Η φυσική ή έμφυτη ανοσία και η επίκτητη ή προσαρμοστική ή ειδική ανοσία είναι συνιστώσες του ανοσοποιητικού συστήματος που αλληλεπιδρούν συνεχώς για τη διατήρηση της ομοιόστασης. Οι μικροοργανισμοί που κατάφεραν και διέφυγαν της φυσικής ανοσίας θα αντιμετωπιστούν από τις ανοσοαποκρίσεις των B- και T-λεμφοκυττάρων. Συνεπώς, η ποικιλία των αντιγόνων του περιβάλλοντος είναι τεράστια και θα πρέπει τα λεμφοκύτταρα να ανταποκρίνονται με εξειδίκευση.

Έκινώντας με μια σύντομη ιστορική αναδρομή, η πρώτη αναφορά στα B-λεμφοκύτταρα χρονολογείται το 1890 όταν οι Emil von Behring και Shibasaburo Kitasato [1] απέδειξαν τη σημασία της κυκλοφορίας αντιτοξινών στην ανοσία έναντι της διφθερίτιδας και του τετάνου. Εν συνεχεία, θεωρητικοί συλλογισμοί του Paul Ehrlich και μετέπειτα πειραματισμοί του Felix Haurowitz ανέδειξαν ένα μοντέλο παραγωγής αντισωμάτων. Κατά τη δεκαετία του 1930, καθώς αναπτύχθηκε η μέθοδος της ηλεκτροφόρησης πρωτεϊνών, καταδείχτηκε ότι τα αντισώματα είναι γ-σφαιρίνες και έγινε προσπάθεια κατανόησης της σχέσης που υπάρχει μεταξύ αυτών και των αντιγόνων. Μια δεκαετία αργότερα η μικροσκοπία ανοσοφθορισμού επέτρεψε να καταστεί σαφές ότι μετά από ανοσοποίηση με συγκεκριμένο αντιγόνο έχουμε την παραγωγή αντισωμάτων εξειδικευμένων έναντι του αντιγόνου, αυτό δηλαδή που ονομάζουμε χυμική ανοσία. Διαθέτοντας όλα αυτά τα στοιχεία στη φαρέτρα τους, το 1965 οι Good, Cooper and Raymond Peterson [2] αποκάλυψαν σε επιστημονική τους εργασία τη διακριτή προέλευση των δύο κύριων κυττάρων της επίκτητης ανοσίας, δηλαδή των B- και T-λεμφοκυττάρων. Τη δεκαετία του 1970 επαναστατικές πειραματικές τεχνικές, όπως η σύντηξη ενός καρκινικού κυττάρου με φυσιολογικό B-λεμφοκύτταρο οδήγησε στη δημιουργία υβριδωμάτων, από τα οποία μπορούσαν να παραχθούν σε μεγάλες ποσότητες ομοιογενείς ανοσοσφαιρικές πρωτεΐνες που ονομάζονται μονοκλωνικά αντισώματα. Για αυτήν την πρωτοποριακή δουλειά οι César Milstein και Georges J. F. Köhler τιμήθηκαν το 1984 με το βραβείο Nobel

Φυσιολογίας ή Ιατρικής. Η παρασκευή υβριδικών λεμφοειδών κυτταρικών σειρών αποτέλεσε σταθμό στις Ιατρικές επιστήμες, καθώς τα B-κυτταρικά υβριδώματα που δημιουργούνται οδήγησαν στη δημιουργία διαφόρων μονοκλωνικών αντισωμάτων που μέσω τεχνικών γενετικής μηχανικής μπορούν να μετατραπούν σε εξανθρωποποιημένα και να υπηρετούν επάξια το ρόλο τους ως θεραπευτικές επιλογές σε πολλαπλά νοσήματα. Η αποτελεσματικότητα των θεραπειών αυτών επιτάχυνε την αποδοτικότερη, ασφαλέστερη και γρηγορότερη παραγωγή τους μέσω άλλων νεότερων επιστημονικών τεχνικών όπως μέσω recombinant DNA (rDNA) technology, μέσω phage display κ.ά. [3, 4].

Το 1980, η τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων βοήθησε στο να χαρακτηριστεί το πρώτο ειδικό μόριο δείκτης των B-λεμφοκυττάρων το B1, ευρέως πλέον γνωστό ως CD20 [5]. Ο αντιγονικός B1 δείκτης ήταν διακριτός από τους ως τότε εγκαθιδρυμένους B-λεμφοκυτταρικούς φαινοτυπικούς δείκτες, όπως τα μεμβρανοσυνδεδεμένα μόρια Ig και οι υποδοχείς του συμπληρώματος και του Fc τμήματος. Ομοίως, το 1986 αναγνωρίστηκε επιπλέον το μόριο επιφανείας CD40, μέσω του οποίου τα B-λεμφοκύτταρα αλληλεπιδρούν με τα CD4+ T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα, καθώς και στο πέρασμα του χρόνου με την πρόοδο της τεχνολογίας ταυτοποιήθηκαν και άλλα μόρια CD (Cluster of differentiation) για κάθε ξεχωριστό υπότυπο των B-λεμφοκυττάρων.

## Μηχανισμοί δράσης anti-CD20 Μονοκλωνικών Αντισωμάτων

Πολλαπλοί μοριακοί μηχανισμοί δράσης των anti-CD20 θεραπειών έχουν προταθεί οι οποίοι οδηγούν σε απαλοιφή B-λεμφοκυττάρων (B cell depletion therapies – BCDTs).

Αυτοί οι μηχανισμοί συνίστανται στην α) Ενεργοποίηση κυτταροτοξικότητας εξαρτώμενη από το συμπλήρωμα (complement dependent cytotoxicity – CDC) [6], που οδηγεί άμεσα σε φαγοκυττάρωση ή λύση των κυττάρων στόχων μέσω δημιουργίας συμπλόκου C5bC6C7 με το C8 και μόρια του C9, σχηματίζοντας το σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης (membrane attack complex ή MAC) και χωρίς τη συμμετοχή αντισωμάτων, β) Κινητοποίηση κυτταροτοξικότητας





εξαρτώμενη από αντισώματα (antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC) [7]. Η ADCC περιλαμβάνει κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος που έχουν ικανότητα έκκρισης κυτταροτοξικών πρωτεϊνών ή ουσιών (όπως κύτταρα φυσικοί φονείς – NK, μονοκύτταρα, μακροφάγα και κοκκιοκύτταρα) που οδηγούν σε φαγοκυττάρωση/οψωνοποίηση του αντιγόνου και λύση του κυττάρου στόχος. Η οψωνοποίηση είναι μια διαδικασία ενίσχυσης της φαγοκυττάρωσης μέχρι και 4.000 φορές παρουσία οψωνινών π.χ. ειδικών αντισωμάτων, πρωτεϊνών του συμπληρώματος και κολληκτινών. Επιπλέον, το μονοπάτι ADCC θεωρείται μέρος της επίκτητης ανοσίας. γ) Άμεση ενεργοποίηση προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου μέσω αποπτωτικού μονοπατιού (programmed cell death (PCD) [8]. Το PCD γενικότερα αναφέρεται στην κυτταρική αυτοκτονία ως φυσιολογική διαδικασία για την εξουδετέρωση μη σωστά λειτουργικών, κατεστραμμένων ή μολυσμένων από ιούς κυττάρων με στόχο τη διατήρηση της ομοιόστασης. Περιλαμβάνει διακριτές μορφές κυτταρικού θανάτου, απόπτωση ή κυτταρικός θάνατος τύπου I, αυτοφαγία ή κυτταρικός θάνατος τύπου II και νέκρωση ή κυτταρικός θάνατος τύπου III, που η καθεμία χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένες μορφολογικές καταστάσεις και μπορεί να διακριθεί από τις υπόλοιπες. Η απόπτωση αποτελεί το πιο καλά μελετημένο μονοπάτι κυτταρικού θανάτου και ενεργοποιείται μέσω της χορήγησης μονοκλωνικών αντισωμάτων. Οι τρεις αυτοί μηχανισμοί αποτελούν τους θεμελιώδεις τρόπους δράσης γενικότερα των μονοκλωνικών αντισωμάτων και επιπρόσθετα μετά από ενδελεχείς μελέτες βρέθηκε ότι τα anti-CD20 μπορούν να προκαλέσουν δ) Ενεργοποίηση φαγοκυττάρωσης εξαρτώμενη από αντίσωμα (antibody dependent cellular phagocytosis – ADCP) [9]. Η διαδικασία αυτή σχετίζεται με τη φαγοκυττάρωση οψωνοποιημένου στόχου συνήθως από μακροφάγα, που προσελλκούνται στην περιοχή και δρουν μέσω υποδοχέων Fc. Πέραν των μακροφάγων μπορούν να δράσουν ουδετερόφιλα και ώριμα δενδριτικά κύτταρα. Ο ρόλος των ανθρώπινων υποδοχέων του Fc, δηλαδή οι FcγRI, FcγRII και FcγRIII διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο ADCP. ε) Προαγωγή μη αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου από ενεργές ρίζες οξυγόνου (ROS dependent non-apoptotic cell death) [10], ο οποίος σχετίζεται με την υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου ROS μέσω NADPH οξειδάσης που μπορούν να οδηγήσουν σε μη αναστρέψιμη οξειδωτική βλάβη σε λιπίδια, πρωτεΐνες και DNA με αποτέλεσμα σοβαρή δυσλειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης και των μιτοχονδρίων και στ) Ενεργοποίηση μη αποπτωτικού κυτταρικού θανάτου (μη εξαρτώμενο από κασπάσες) μέσω ομοτυπικής προσκόλλησης που διαμεσολαβείται από το λυσοσωμικό μονοπάτι (homotypic adhesion and lysosome mediated non-apoptotic cell death) [11]. Το συγκεκριμένο μονοπάτι αναγνωρίστηκε από την έρευνα δύο μονοκλωνικών anti-CD20, του tositumomab [12] αρχικά και έπειτα του obinutu-

zumab [13], κατά το οποίο επάγεται ανεξάρτητος από κασπάσες κυτταρικός θάνατος που σχετίζεται με την ικανότητά τους να προκαλούν ομοτυπική προσκόλληση, η οποία είναι η σύνδεση και η αλληλεπίδραση δύο πανομοιότυπων κυττάρων με την ακτίνη του κυτταροσκελετού να διαδραματίζει βασικό ρόλο. Επιπλέον, το μονοπάτι περιλαμβάνει διόγκωση των λυσοσωμάτων και απελευθέρωση του περιεχομένου τους, όπως της καθεψίνης-B, στο μικροπεριβάλλον του κυτταροπλάσματος (η διαδικασία αυτή ονομάζεται lysosomal membrane permeabilization – LMP) και καταλήγει σε κυτταρικό θάνατο.

Υπάρχει μια σαφής συσχέτιση μεταξύ κάποιων χαρακτηριστικών ( $K_D$  constants, οι επίτοποι, η βιολογική ενεργότητα κ.ά.) και του τρόπου δράσης του κάθε μονοκλωνικού αντισώματος. Παραδείγματος χάριν σε μελέτες που σύγκριναν μονοκλωνικά αντισώματα με χαμηλή και υψηλή  $K_D$ , φάνηκε ότι αυτά που είχαν μικρότερη  $K_D$  δε μπορούσαν να ενεργοποιήσουν το μονοπάτι της απόπτωσης συγκριτικά με αυτά με την υψηλότερη  $K_D$  [14]. Επιπλέον, τα μονοκλωνικά αντισώματα ανάλογα με τον εκάστοτε αντιγονικό επίτοπο του CD20 που αλληλεπιδρούν ασκούν διαφορετικής έντασης CDC. Ακόμα, μελέτες των έξι διαφορετικών υποδοχέων hFcγR (υποδοχείς Fc), συμπεριλαμβανομένων και των πολυμορφισμών τους καθόρισαν τη συγγένεια σύνδεσης με τις τέσσερις υποκατηγορίες IgG και δείχτηκε ότι τα IgG1 και IgG3 συνδέονται με όλους τους hFcγRs, τα IgG2 δεσμεύονται σε τρεις hFcγRs και τα IgG4 δεσμεύονται σε έξι hFcγRs [15], δεδομένα τα οποία εξηγούν γιατί τα μονοκλωνικά αντισώματα δρουν διαφορετικά σε κάθε ασθενή και συνεπώς απαιτείται βελτιστοποίηση των βιολογικών θεραπειών.

### Anti-CD20 κυτταρικές θεραπείες σε ανοσοδιαμεσολαβούμενες διαταραχές

Η αρχική πίστη ότι τα B-λεμφοκύτταρα συμμετέχουν μόνο με την έκκριση (αυτό)-αντισωμάτων, εκριζώθηκε, καθώς πειραματικά δεδομένα απέδειξαν ότι συμμετέχουν ενεργά με πολλαπλούς τρόπους στην αιτιοπαθογένεια της φλεγμονής και της αυτοανοσίας. Αυτό υποστηρίχτηκε από την πρόσφατη επιτυχία των BCDTs, μέσω στόχευσης των CD20, CD19 και BAFF [16], θεραπευτικά σχήματα για αυτοάνοσης αρχής ασθένειες, όπως είναι η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ), ο συστηματικός ερυθρεμάτωδης λύκος (ΣΕΛ), η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ).

Το CD20 είναι μια μη γλυκοζυλιωμένη φωσφοπρωτεΐνη που ανάλογα με τις φωσφορυλιώσεις που θα υποστεί μπορεί να ταυτοποιηθεί με ηλεκτροφόρηση από τα 33 έως τα 37 kDa [17]. Το γονίδιο CD20 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11 και η πρωτεΐνη CD20 που κωδικοποιεί αποτελείται από τέσσερις υδρόφοβες διαμεμβρανικές περιοχές. Αν και οι ρόλοι του δεν είναι καλά αποσαφηνισμένοι, φαίνεται ότι εμπλέκεται στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης



των Β-λεμφοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, το CD20 κατευθύνει τα Β-λεμφοκύτταρα από τη φάση ηρεμίας (G0) στη φάση G1 και ασκεί ρυθμιστικό ρόλο για την έναρξη της μίτωσης (S φάση). Επιπλέον, το CD20 είναι διαμεμβρανικός ιοντικός δίαυλος υπεύθυνος για τη ρύθμιση της μεταφοράς ασβεστίου ενδοκυττάρια [18, 19]. Η δέσμευση διαφόρων anti-CD20 αντισωμάτων μπορεί να επάγει την ενεργοποίηση του μονοπατιού τυροσινικής κινάσης, αλλά και πρωτεϊνικών κινασών που φωσφορυλιώνουν κατάλοιπα σερίνης/θρεονίνης. Η έκφραση του CD20 από το pre B-lymphocyte μέχρι και το στάδιο plasmablast (ακριβώς πριν γίνει ώριμο πλάσματοκύτταρο ικανό να εκκρίνει αντισώματα) το καθιστά ιδανικό μόριο στόχο για θεραπείες που αφορούν τη Β-λεμφοκυτταρική σειρά διαφοροποίησης [20, 21].

Βιολογικές anti-CD20 θεραπείες που αρχικά αναπτύχθηκαν για την αντιμετώπιση αιματολογικών κακοηθειών, χρησιμοποιούνται πλέον και για την αντιμετώπιση ανοσοδιαμεσολαβούμενων παθήσεων του νευρικού συστήματος με βάση την παθοφυσιολογία της εκάστοτε νόσου.

### Rituximab

Η ριτουξιμάμπη είναι ένα anti-CD20 χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1 που συντίθεται από ανθρώπινες σταθερές περιοχές, ενώ οι μεταβλητές είναι από γονιδίωμα μύς. Το αντίσωμα παράγεται στο εργαστήριο με μεθόδους γενετικής μηχανικής από κυτταρικές καλλιέργειες CHO (Chinese hamster ovary) και στοχεύει έναν μη γραμμικό αντιγονικό επίτοπο του CD20 και συγκεκριμένα τον 169-PANPSE-174 και 183-CYSIQ-187 [22]. Η ριτουξιμάμπη αποτελεί το σημαντικότερο σταθμό για τις anti-B θεραπείες, καθώς είναι το πρώτο anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα που εγκρίθηκε από τον FDA 26 Νοεμβρίου 1997 και 2 Ιουνίου 1998 από τον EMA για τη θεραπεία non-Hodgkin λεμφώματος συνεργικά με χημειοθεραπεία [23, 24].

Οι ενδείξεις χορήγησης του φαρμάκου επεκτάθηκαν και σε άλλες παθήσεις με βάση το μηχανισμό δράσης του και κατόπιν διεξαγωγής της κλινικής μελέτης REFLEX, μία διετή πολυκεντρική, τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη το 2006, χορηγήθηκε έγκριση για τη Ρευματοειδή Αρθρίτιδα (ΡΑ) [25]. Δύο κλινικές δοκιμές, η CCL8 [26] και η REACH [27] απέδειξαν την αποτελεσματικότητα της ριτουξιμάμπης σε συνδυασμό με φλουδαραβίνη και κυκλοφωσφαμίδη για τη Χρόνια Λεμφοκυτταρική Λευχαιμία (ΧΛΛ) παίρνοντας έγκριση 19 Φεβρουαρίου 2010. Ακολούθησαν πολλές ακόμη μελέτες εξετάζοντας τη βιολογική ενεργότητα του φαρμάκου και σε άλλες νόσους και το 2011 λαμβάνεται έγκριση για το οζώδες λέμφωμα [28], το 2018 για την κοινή πέμφιγα (Pemphigus vulgaris) [29] καθώς και λίγο αργότερα για την μακροσφαιριναιμία Waldenström [30]. Περαιτέρω έρευνες και πιο συγκεκριμένα η πολυκεντρική κλινική μελέτη PePRS το 2019 έδωσε στη ριτουξιμάμπη έγκριση για δύο αγγειίτιδες, την κοκκιωμάτωση με πολυαγγειίτιδα (GPA) και τη μικροσκοπική πολυαγγειίτιδα (MPA) [31].







Όσον αφορά το νευρικό σύστημα η ριτουξιμάμπη χορηγήθηκε πρώτη φορά σε ασθενείς με υποτροπιάζουσα-διαλείπουσα πολλαπλή σκλήρυνση (ΥΔΠΣ) το 2006 παρατηρώντας μεγάλη πτώση του αριθμού των Β- και Τ-λεμφοκυττάρων στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ) [32]. Το 2008 δημοσιεύτηκαν αποτελέσματα από μελέτες φάσης I και II (HERMES) σε ασθενείς με ΥΔΠΣ με ενθαρρυντικά ευρήματα μείωσης κατά 91% του αριθμού των εστιών σε μαγνητική εγκεφάλου [33]. Στην πρωτοπαθώς προϊούσα μορφή της νόσου (ΠΠΠΣ) το 2009 διενεργήθηκε η τυχαίοποιημένη διπλά τυφλή μελέτη OLYMPUS καταδεικνύοντας την καθυστέρηση στην πρόοδο της νόσου, ιδιαιτέρως σε νεότερες ηλικίες [34] και ακολούθησαν και άλλες συγκριτικές μελέτες με μικρό δείγμα ασθενών φανερώνοντας την ευεργετική δράση της ριτουξιμάμπης και σε πιο ανθεκτικές μορφές ΠΣ [35, 36]. Στην παρούσα χρονική στιγμή δεν έχει ληφθεί έγκριση για την ΠΣ και δίνεται ως υπό μελέτη φάρμακο σε κλινικές μελέτες, καθώς και σε ασθενείς με ΥΔΠΣ ως off-label (αριθμός κλινικής μελέτης: NCT00097188) και συνήθως αν συνυπάρχει ρευματολογική πάθηση.

Επιπροσθέτως, η ριτουξιμάμπη δοκιμάστηκε το 2005 σε μελέτη με πολύ μικρό δείγμα ασθενών που έπασχαν από οπτική νευρομυελίτιδα και το ευρύτερο φάσμα της (NMOSD) αποφέροντας εξαιρετικά κλινικά αποτελέσματα και συγκεκριμένα ελάττωσε τα οξεία επεισόδια από 2,6/ασθενή/έτος σε 0/ασθενή/έτος, με συνακόλουθη νευρολογική βελτίωση στην πλειοψηφία τους [37]. Εν συνεχεία, μετά από μετα-αναλύσεις 26 κλινικών δοκιμών με 577 συμμετέχοντες καταδείχτηκε ότι το 62,9% των ασθενών ήταν ελεύθεροι υποτροπών, με μόνο το 16% να έχουν ανεπιθύμητες ενέργειες [38]. Ακόμα, η ριτουξιμάμπη από το 2017 ερευνάται σε κλινική μελέτη φάσης II με συμμετέχοντες ηλικίας 0-16 ετών για την αυτοάνοση εγκεφαλίτιδα anti-NMDA (NMDAR), τη δεύτερη πιο συχνή αυτοάνοση εγκεφαλίτιδα μετά την οξεία απομυελινωτική εγκεφαλομυελίτιδα (ADEM). Τα πρώτα αποτελέσματα δείχνουν μία τάση συσχέτισης του φαρμάκου με λιγότερες υποτροπές και ευεργετικό κλινικό αποτέλεσμα [39]. Τέλος, το φάρμακο χορηγήθηκε σε ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη απομυελινωτική πολυριζο-νευροπάθεια (CIPD) μέσω μονοκεντρικής κλινικής μελέτης, με 75% των ασθενών να ανταποκρίνονται επιτυχώς, ακόμα και εάν είχαν ως συνοσηρότητα αιματολογική ή αυτοάνοση νόσο [40]. Ακολούθησε για την CIPD πολυκεντρική τυχαίοποιημένη διπλά τυφλή κλινική δοκιμή RECIPE με ασθενείς που διέθεταν ή όχι αυτοαντισώματα IgG4, αποτελέσματα της οποίας θα ερμηνεύσουν καλύτερα το θεραπευτικό δυναμικό της ριτουξιμάμπης [41].

Η ριτουξιμάμπη δρα ενεργοποιώντας διάφορα μονοπάτια όπως PCD type I, ADCC, ADCP και CDC [42]. Σε σύγκριση με την οκρελιζουμάμπη (anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα), η ριτουξιμάμπη συνδέεται ασθενέστερα με τον υποδοχέα FcγRIIIa, ο οποίος εντο-

πίζεται σε περισσότερο από το 80% των ασθενών με ΠΣ, γεγονός που εξηγεί γιατί επάγεται κυρίως CDC συγκριτικά με το ADCC [43, 44]. Όπως φάνηκε σε μελέτες φαρμακοκινητικής, η ενδοφλέβια χορήγηση ριτουξιμάμπης προκαλεί ταχεία και σημαντική μείωση του αριθμού των κυκλοφορούντων Β-λεμφοκυττάρων στο αίμα και στο ΕΝΥ [45]. Επίσης, φαίνεται ότι υπάρχει δράση και σε πληθυσμούς προφλεγμονωδών CD3+ Τ-λεμφοκυττάρων που εκφράζουν CD20 [46]. Ως χιμαιρικό αντίσωμα, παρουσιάζει ανοσογονικότητα και σχετίζεται με συχνή εμφάνιση εξουδετερωτικών αντι-χιμαιρικών αντισωμάτων (HACA), που είναι ένας υπότυπος των εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι μονοκλωνικών θεραπειών (anti-drug antibodies – ADA), τα οποία αναστέλλουν τη σύνδεση της ριτουξιμάμπης στον αντιγονικό επίτοπο στόχο και προκαλούν ταχύτερη κάθαρση της φαρμακευτικής ουσίας από τον οργανισμό μειώνοντας τη δράση της.

Η ριτουξιμάμπη κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία MABTHERA, RITUXAN και TRUXIMA και ανάλογα με την πάθηση χορηγείται ενδοφλεβίως σε δόση 375-500 mg/m<sup>2</sup> επιφάνειας σώματος ανά μία ή δύο εβδομάδες και λόγω της μακράς δράσης του φαρμάκου συνήθως το θεραπευτικό σχήμα διαρκεί ένα μήνα και επαναλαμβάνεται αν χρειαστεί σε διάστημα 6 ή 12 μηνών. Λόγω της αυξημένης ανοσογονικότητας του φαρμάκου, ο κίνδυνος αντιδράσεων σχετιζόμενων με την έγχυση είναι υψηλός και θα πρέπει να λαμβάνεται μεθυλπρεδνιζολόνη, αντιισταμινικό φάρμακο και παρακεταμόλη (premedication) πριν την έγχυση.

Σχετικά με τις ανεπιθύμητες αντιδράσεις της ριτουξιμάμπης αναφέρεται η πιθανότητα ενεργοποίησης του ιού John Cunningham (JCV) με κίνδυνο ανάπτυξης προϊούσας πολυεστιακής λευκοεγκεφαλοπάθειας (PML), αναφέροντας την ύπαρξη περιστατικών που λάμβαναν ριτουξιμάμπη σε αιματολογικές κακοήθειες [47]. Επίσης, αναφέρεται η επανενεργοποίηση του ιού της ηπατίτιδας Β (HBV) σε χρόνιους ασυμπτωματικούς φορείς, αλλά και σε ασθενείς με φυσική ανοσία, λόγω εξάνθησης των Β-λεμφοκυττάρων μνήμης που παράγουν προστατευτικά anti-HBs. Συνεπώς, καθίσταται απαραίτητος ο προέλεγχος για την HBV με μέτρηση αυστραλιανού αντιγόνου HBsAg και του HBcAb, καθώς και, όπου απαιτείται, η χορήγηση προφυλακτικής θεραπείας με ανάλογα νουκλεοτιδίων για την HBV [48].

## OCRELIZUMAB

Η οκρελιζουμάμπη είναι ένα εξανθρωποποιημένο anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα και θεωρείται το εξανθρωποποιημένο ανάλογο της ριτουξιμάμπης (σχεδόν κατά 90% ανθρώπινο), στοχεύοντας έναν ελαφρώς διαφορετικό επίτοπο στο CD20 μόριο επιφάνειας των λεμφοκυττάρων, τον CD20 pos. 165–182 [49, 50]. Το εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα παράγεται στο εργαστήριο μέσω εισαγωγής μικρού



τμήματος DNA που προέρχεται από μυ ή επίμυ σε ανθρώπινες αλληλοουσίες περιοχής V, καθιστώντας το λιγότερο ανοσογονικό από τα χιμαιρικά αντισώματα [51].

Η δομή του βασίζεται στην ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη G1 (IgG1), που περιέχει τις ακολουθίες της βαριάς αλυσού VHIII και της ελαφράς αλυσού VκI. Παράγεται σε CHO και αποτελείται από δύο ταυτόσημες ελαφριές αλυσούσες με 213 κατάλοιπα αμινοξέων και δύο ταυτόσημες βαριές αλυσούσες με 451 ή 452 κατάλοιπα αμινοξέων.

Αν και δεν αποτέλεσε την πρώτη απόπειρα εισαγωγής των anti-CD20 θεραπειών στη θεραπευτική της ΠΣ, είναι το πρώτο anti-CD20 μονοκλωνικό αντίσωμα που είχε ευνοϊκά αποτελέσματα στην υποτροπιάζουσα ΠΣ (ΥΠΣ), καθώς επίσης και στην ΠΠΠΣ σε κλινικές μελέτες φάσης II [52]. Μέχρι και σήμερα, η οκρελιζουμάμμη είναι το μοναδικό εγκεκριμένο φάρμακο για ασθενείς που εμπίπτουν στην κατηγορία της ΠΠΠΣ, ως πολύ σημαντικό όπλο στην επιβράδυνση της προοδευτικότητας της νόσου [50, 53]. Έχει ακόμη δοκιμαστεί σε κλινική μελέτη φάσης III (αριθμός κλινικής μελέτης: NCT00626197) για την αποτελεσματικότητα και ασφάλειά του σε ασθενείς με κλάσης III/IV νεφρίτιδα ΣΕΛ, με αριθμητικά καλύτερα, αλλά όχι στατιστικά σημαντικά, αποτελέσματα υπέρ της οκρελιζουμάμμης. Ωστόσο, η κλινική δοκιμή τερματίστηκε λόγω σοβαρών/ευκαιριακών λοιμώξεων των ασθενών που έλαβαν οκρελιζουμάμμη σε σχέση με το placebo [39, 54].

Αρχικά, δοκιμάστηκε σε κλινική μελέτη φάσης II σε ασθενείς με ΥΔΠΣ, όπου συγκρίθηκε με placebo φάρμακο και με ιντερφερόνη β-1α. Η αποτελεσματικότητα της οκρελιζουμάμμης στην ΥΔΠΣ επικυρώθηκε σε δύο ταυτόσημες, πολυκεντρικές, τυχαίοποιημένες, διπλά τυφλές κλινικές μελέτες φάσεις III (OPERA I και II), συγκρίνοντάς την με την ιντερφερόνη β-1α. Μια φάσης III κλινική μελέτη (ORATORIO) διεξήχθη σε ομάδα ασθενών με ΠΠΠΣ για τη σύγκριση του μονοκλωνικού αντισώματος σε σχέση με placebo φάρμακο [55-57].

Η οκρελιζουμάμμη έλαβε τελικά έγκριση από τον FDA στις 28 Μαρτίου 2017 και από τον EMA στις 8 Ιανουαρίου 2018 για τις ΥΠΣ (ΥΔΠΣ και ενεργή δευτεροπαθώς προϊούσα μορφή – ΔΠΠΣ) και την ΠΠΠΣ σε ενήλικες.

Η οκρελιζουμάμμη συνδέεται στη μεγάλη αγκύλη του εξωκυττάρου τμήματος του CD20, σε έναν ελαφρώς διαφορετικό επίτοπο από τη ριτουξιμάμμη, και προκαλεί εξάλειψη των CD20+ B-λεμφοκυττάρων, δύο εβδομάδες μετά τη χορήγησή της. Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι η οκρελιζουμάμμη επιδεικνύει ισχυρότερη ADCC δράση κατά περίπου τέσσερις φορές σε σχέση με τη ριτουξιμάμμη. Αντίθετα, η ικανότητα της οκρελιζουμάμμης να εξαλείφει CD20+ κύτταρα μέσω του μηχανισμού CDC αποδείχθηκε περίπου τέσσερις φορές μικρότερη από αυτήν της ριτουξιμάμμης [9, 58]. Λιγότερο συχνόι μηχανισμοί δράσης του φαρμάκου

αποτελούν ο PCD type 1 και ο ADCP, οι οποίοι φάνηκε να σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις του φαρμάκου με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Επιπλέον, μελέτες έδειξαν πως πέρα από τα CD20+ CD19+ B-λεμφοκύτταρα, στο αίμα ασθενών με ΠΣ ανευρίσκεται και αριθμός CD3+ CD20+ T-λεμφοκυττάρων, που πιθανόν να αποτελούν στόχο της οκρελιζουμάμμης και γενικότερα των anti-CD20 θεραπειών [59].

Ως εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, η οκρελιζουμάμμη παρουσιάζει χαμηλότερη ανοσογονικότητα σε σχέση με τη χιμαιρική ριτουξιμάμμη, με συνέπεια την πολύ χαμηλότερη παραγωγή εξουδερευτικών αντισωμάτων σε σχέση με τη δεύτερη. Παρουσιάζει, έτσι, χαμηλότερα ποσοστά ανοχής στο φάρμακο και ένα βελτιωμένο προφίλ οφέλους-κινδύνου [60].

Η οκρελιζουμάμμη κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία OCREVUS και χορηγείται ενδοφλέβια με αρχική δόση σε 2 εγχύσεις των 300mg με μεσοδιάστημα 2 εβδομάδων και ακολούθως, οι δόσεις συνεχίζουν ανά 6μηνο και είναι των 600 mg. Προκειμένου να αποφευχθούν σχετιζόμενες με την έγχυση αντιδράσεις, προηγείται η χορήγηση μεθυλπρεδνιζολόνης, αντιισταμινικού φαρμάκου και παρακεταμόλης (pre-medication).

Αναφορικά με τις λοιμώξεις ως απότοκων της λήψης του φαρμάκου, αξίζει να αναφερθεί ότι κατά τη διάρκεια των μελετών, δεν υπήρξε περιστατικό ενεργοποίησης του JCV, ωστόσο μετά την έγκριση του φαρμάκου υπήρξαν μεμονωμένα περιστατικά PML σε ασθενείς που ελάμβαναν οκρελιζουμάμμη. Επομένως, συστήνεται η επαγρύπνηση των θεραπόντων σε πρώιμα συμπτώματα PML [61, 62]. Αντένδειξη λήψης του φαρμάκου όπως και στη ριτουξιμάμμη, αποτελεί η ενεργός HBV, με εξατομίκευση της χορήγησής του σε οροθετικούς ασθενείς για το HBCAb ή φορείς του αυστραλιανού αντιγόνου HBsAg. Οπότε, πριν την έναρξη και της οκρελιζουμάμμης κρίνεται απαραίτητος ο προέλεγχος για ηπατίτιδα Β [63]. Τέλος, πολλές πρόσφατες μελέτες έχουν στρέψει το ενδιαφέρον τους στη συσχέτιση της θεραπείας με οκρελιζουμάμμη και της ικανότητας παραγωγής αντισωμάτων μετά τον εμβολιασμό έναντι του COVID-19. Στα πλαίσια αυτά, επισημαίνεται η ανεπαρκής ανοσοποίηση των ασθενών αυτών κατόπιν του εμβολιασμού τους, χωρίς αυτό να φαίνεται πως συσχετίζεται με το μειωμένο απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων που παρουσιάζουν οι ασθενείς αυτοί [64-66].

## OFATUMUMAB

Η οφατουμουμάμμη αποτελεί το πρώτο πλήρως ανθρώπινο anti-CD20 IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα και συνδέεται σε έναν τελείως διαφορετικό επίτοπο από τη ριτουξιμάμμη και την οκρελιζουμάμμη, και συγκεκριμένα σε ένα μη γραμμικό επίτοπο της δι-αμεμβρανικής φωσφοπρωτεΐνης CD20 των λεμφο-





κυττάρων, στα κατάλοιπα αμινοξέων 72-80 και 146-167 [43, 67]. Η σύνδεση πραγματοποιείται τόσο στη μικρή όσο και στη μεγάλη εξωκυττάρια αγκύλη του μορίου, με αποτέλεσμα να εξαλείφει αποτελεσματικότερα από τη ριτουξιμάμπη τα κύτταρα-στόχους [68]. Η διαφορά στην παραγωγή του, σε σχέση με την εξανθρωποποιημένη οκρελιζουμάμπη, έγκειται στη χρήση διαγονιδιακών ποντικών στο γονιδίωμα των οποίων έχει τοποθετηθεί ο ανθρώπινος γενετικός τύπος για την ανοσοσφαιρίνη [69].

Η πρώτη εγκεκριμένη ένδειξη χορήγησης του φαρμάκου υπό την εμπορική ονομασία ARZERRA ήταν στη ΧΛΛ σε ασθενείς με ανθεκτικές μορφές της νόσου από τον FDA στις 26 Οκτωβρίου 2009 και τον EMA στις 19 Απριλίου 2010. Ωστόσο, στις 28 Φεβρουαρίου 2019, ο EMA απέσυρε το φάρμακο, ύστερα από αίτημα της επίσημης δικαιούχου εταιρείας, για λόγους που δε σχετιζόνταν με την ασφάλεια του φαρμάκου (χρήση της οφατουμουμάμπης σε ένα νέο συνδυασμό με βενδαμουστίνη στη ΧΛΛ). Επιπλέον, η οφατουμουμάμπη έχει δοκιμαστεί σε κλινικές μελέτες φάσης III σε αυτοάνοσες παθήσεις, όπως η κοινή πέμφιγα (αριθμός κλινικής μελέτης: NCT01920477)[70] και η PA (αριθμός κλινικών μελετών: NCT00611455, NCT00603525) [71, 72], οι οποίες τερματίστηκαν για διάφορους λόγους που δεν αφορούσαν την ασφάλεια του φαρμάκου. Ακόμη, η οφατουμουμάμπη χορηγήθηκε ως εναλλακτική anti-CD20 θεραπεία αντί της ριτουξιμάμπης σε ορισμένο αριθμό ασθενών με ΣΕΛ ή ιδιοπαθή θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα με θετικά αποτελέσματα [73-75].

Άλλη νόσος για την οποία έλαβε έγκριση η οφατουμουμάμπη είναι η ΠΣ. Αρχικά, το φάρμακο δοκιμάστηκε σε 3 μελέτες φάσης II (APLIOS, APOLITOS, MIRROR) με θετικά αποτελέσματα, ειδικά στη μείωση εμφάνισης νέων εστιών απεικονιστικά. Η έγκριση του φαρμάκου για ασθενείς με ΥΠΣ βασίστηκε στα αποτελέσματα δύο ταυτόσημων πολυκεντρικών, τυχαιοποιημένων, διπλά τυφλών μελετών φάσης III (ASCLEPIOS I/II). Σε αυτές, έγινε σύγκριση της οφατουμουμάμπης με την περιφλουνομίδη σε ασθενείς με ΥΔΠΣ ή ΔΠΠΣ με ενεργότητα. Μετά την ολοκλήρωση όλων αυτών των μελετών, η κλινική δοκιμή ALITHIOS αξιολόγησε τη μακροπρόθεσμη ανεκτικότητα του φαρμάκου στους ασθενείς που συνέχισαν να λαμβάνουν οφατουμουμάμπη ή που άλλαξαν την αγωγή τους από περιφλουνομίδη στο υπό μελέτη φάρμακο [76]. Τελικά, η οφατουμουμάμπη πήρε έγκριση υπό την εμπορική ονομασία KESIMPTA από τον FDA στις 20 Αυγούστου 2020 και από τον EMA στις 26 Μαρτίου 2021 για ενήλικες ασθενείς με ΥΠΣ και ενεργό νόσο, όπως ορίζεται από τα κλινικά ή απεικονιστικά ευρήματα.

Ο κύριος μηχανισμός λύσης των CD20+ κυττάρων από την οφατουμουμάμπη είναι ο CDC και λιγότερο ο ADCC. Η CDC δράση της οφατουμουμάμπης είναι ισχυρότερη από αυτήν της ριτουξιμάμπης, γεγονός που εξηγείται από το ότι η οφατουμουμάμπη συνδέεται

ισχυρότερα και έχει πιο αργό ρυθμό αποσύνδεσης από το CD20 μόριο, σύμφωνα με μελέτες σύγκρισης των δύο φαρμάκων. Επιπλέον, η ριτουξιμάμπη φάνηκε να απαιτεί 10 φορές υψηλότερη συγκέντρωση CD20 μορίων στην επιφάνεια των κυττάρων, προκειμένου να κινητοποιήσει τη CDC, σε αντίθεση με την οφατουμουμάμπη, της οποίας η CDC δράση δε φάνηκε να εξαρτάται από την πυκνότητα των CD20 [58, 77]. Επομένως, η οφατουμουμάμπη προκαλεί λύση τόσο των κυττάρων με υψηλή πυκνότητα CD20 μορίων, όσο και αυτών με χαμηλή. Σε πρόσφατη μελέτη, φάνηκε πως η οφατουμουμάμπη μειώνει και τον αριθμό των περιφερικών CD20+ T-λεμφοκυττάρων και με αυτόν τον τρόπο τη μετανάστευσή τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) [78].

Η οφατουμουμάμπη άλλαξε τα δεδομένα χορήγησης των anti-CD20 θεραπειών, αφού αποτελεί την πρώτη θεραπεία της κατηγορίας της που μπορεί να χορηγηθεί κατ'οίκον από τον ίδιο τον ασθενή, υπό τη μορφή υποδόριας ένεσης των 20mg σε έτοιμη προγεμισμένη σύριγγα.

Ως πλήρως ανθρώπινο αντίσωμα, παρουσιάζει τη χαμηλότερη ανοσογονικότητα σε σχέση με τα χιμαιρικά και τα εξανθρωποποιημένα anti-CD20 μονοκλωνικά αντισώματα, κι επομένως σχετίζεται με πολύ χαμηλό αριθμό εξουδετερωτικών αντισωμάτων.

Όπως και οι υπόλοιπες anti-CD20 θεραπείες, η οφατουμουμάμπη μπορεί να συσχετιστεί με σχετιζόμενες με την έγχυση αντιδράσεις (που όμως κατά κανόνα παραμένουν ήπιες έως μέτριες), η χορήγησή της απαιτεί προέλεγχο για ηπατίτιδα Β και αντενδείκνυται σε ενεργή λοίμωξη από τον HBV ή ενεργή νεοπλασία, ενώ πάντα οι θεράποντες θα πρέπει να είναι σε επαγρύπνηση για τυχόν πρώιμα συμπτώματα PML [79, 80].

## UBLITUXIMAB

Η συμπλιτουξιμάμπη είναι ένα χιμαιρικό μονοκλωνικό anti-CD20 IgG1 αντίσωμα νέας γενιάς, το οποίο συνδέεται με έναν μοναδικό επίτοπο του CD20 μορίου επιφανείας, που περιλαμβάνει τα κατάλοιπα 168-171 και 158-159, και αφορά τη μεγάλη εξωκυττάρια αγκύλη του [81]. Παράγεται σε YB2/O κυτταρική σειρά κονίκλων και στη συνέχεια, τροποποιείται στο εργαστήριο με τεχνικές επεξεργασίας υδατανθράκων (glycoengineering), προκειμένου να μειωθεί η περιεκτικότητά του σε φουκόζη. Με αυτόν τον τρόπο, αυξάνεται η συγγένεια του αντισώματος προς τον FcγRIIIa υποδοχέα (CD16), καθιστώντας, έτσι την ADCC και την ADCP δράση του πολύ ισχυρότερη από την CDC για τη λύση των B-λεμφοκυττάρων (σε αντίθεση με τη ριτουξιμάμπη και την οφατουμουμάμπη που παρουσιάζουν ισχυρότερη CDC δράση) [58, 82, 83].

Το φάρμακο βρίσκεται ακόμη υπό μελέτη και αναμένεται, μετά την ολοκλήρωση και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, η πιθανή έγκρισή του για τις ΥΠΣ.



Μια κλινική μελέτη φάσης II απέδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητά του σε ασθενείς με ΥΠΣ. Ακολούθησαν δύο παράλληλες, μελέτες φάσης III (ULTIMATE III) που συγκρίνουν την αποτελεσματικότητα της συμπλιτουξιμάμπης με την τεριφλουονομίδη και των οποίων τα αποτελέσματα αναμένεται να αξιολογηθούν [84]. Επιπλέον, μια πιλοτική, κλινική μελέτη φάσης I (αριθμός κλινικής μελέτης: NCT02276963), εξέτασε την ασφάλεια του φαρμάκου ως προσθήκης του στην αντιμετώπιση των οξέων επεισοδίων διαταραχών της NMOSD, μαζί με την καθιερωμένη χορήγηση μεθυλπρεδνιζολόνης, με πολλή υποσχόμενα αποτελέσματα [85]. Πέραν των απομυελινωτικών παθήσεων του ΚΝΣ, μελέτες για την συμπλιτουξιμάμπη έχουν διεξαχθεί και αναμένονται τα αποτελέσματα, σε πληθυσμούς ασθενών με κακοήθειες του αιμοποιητικού συστήματος. Η μελέτη GENUINE (αριθμός κλινικής μελέτης: NCT02301156), μια τυχαίοποιημένη κλινική δοκιμή φάσης III, συγκρίνει το συνδυασμό ublituximab/ibrutinib έναντι της μονοθεραπείας με ibrutinib σε συγκεκριμένους ασθενείς με ΧΛΛ [86], ενώ μια μελέτη φάσης I συγκρίνει τη μονοθεραπεία με TGR-1202 έναντι του συνδυασμού του με συμπλιτουξιμάμπη σε ασθενείς με Non-Hodgkin λέμφωμα [87].

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Οι anti-CD20 θεραπείες αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της νευρολογικής θεραπευτικής, καθώς στοχεύουν σημαντικούς τελεστές του ανοσιακού συστήματος, τα Β-λεμφοκύτταρα που διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στις ανοσοδιαμεσολαβούμενες

παθήσεις του νευρικού συστήματος. Είναι πολύ σημαντικό να υπάρχει ολιστική προσέγγιση προς τα ανοσιακά κύτταρα όπως τα Β-λεμφοκύτταρα, καθώς αυτά δεν παρίστανται μόνο τους στο μικροπεριβάλλον που υπάρχουν, αλλά εμφανίζουν αλληλεπιδράσεις και με άλλα κύτταρα, με μικροοργανισμούς που συμβιώνουν, με προφλεγμονώδεις ουσίες που εκκρίνονται και έτσι διαμορφώνεται ο φαινότυπός τους. Συνεπώς, λαμβάνοντας υπόψιν διάφορες παραμέτρους, όπως τον ανοσοφαινότυπο των Β-λεμφοκυττάρων του κάθε ασθενή, σε συνεργασία με την πρόοδο των τεχνολογικών στρατηγικών για την παρασκευή πιο εξειδικευμένων μονοκλωνικών anti-B αντισωμάτων, θα προαχθεί η αύξηση της αποτελεσματικότητάς τους και η μείωση των παρενεργειών, όπως το να μην επηρεάζεται η ολική άμυνα του οργανισμού. Η δημιουργία ειδικών anti-B θεραπειών, δηλαδή η εξειδικευμένη στοχεύουσα θεραπεία που θα προσαρμόζεται στη μοναδικότητα του κάθε ασθενούς, δηλαδή στο γονιδίωμα που φέρει και στο περιβάλλον που αναπτύσσεται, στρατολογεί το μέλλον που ορίζεται με την εξέλιξη στην επιστήμη της Ιατρικής Ακριβείας.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Cooper, M.D., *The early history of B cells*. Nature Reviews Immunology, 2015. **15**(3): p. 191-197.
- [2] Cooper, M.D., R.D.A. Peterson, and R.A. Good, *Delineation of the Thymic and Bursal Lymphoid Systems in the Chicken*. Nature, 1965. **205**(4967): p. 143-146.
- [3] Scharff, M.D., et al., *The role of monoclonal antibodies and the recombinant DNA technol-*

**Πίνακας 1.** Anti-CD20 μονοκλωνικά αντισώματα για ανοσοδιαμεσολαβούμενες παθήσεις

| ΑΝΤΙ-CD20 ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΟ ΑΝΤΙΣΩΜΑ          | ΕΙΔΟΣ  | ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ                       | ΕΝΔΕΙΞΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ  |
|---|--|---|--|
| ΡΙτουξιμάμπη ( <i>Rituximab</i> )       | Χιμαιρικό IgG1                               | <b>CDC</b> > ADCC<br>PCD type 1<br>ADCP | non-Hodgkin λέμφωμα, PA, ΧΛΛ, οξώδες λέμφωμα, κοινή πέμφιγα, μακροσφαιραιμία Waldenström, GPA, MPA, ΥΔΠΣ (σε κλινικές μελέτες / off-label), NMOSD / NMDAR / CIDP (σε κλινικές μελέτες) |
| Οκρελιζουμάμπη ( <i>Ocrelizumab</i> )   | Εξανθρωποποιημένο IgG1                       | <b>ADCC</b> > CDC<br>PCD type 1<br>ADCP | ΥΠΣ (ΥΔΠΣ, ενεργή ΔΠΠΣ), ΠΠΠΣ, κλάσης III / IV νεφρίτιδα ΣΕΛ (σε κλινικές μελέτες)   |
| Οφατουμουμάμπη ( <i>Ofatumumab</i> )    | Πλήρως ανθρώπινο IgG1                        | <b>CDC</b> > ADCC                       | ΥΠΣ (ΥΔΠΣ, ενεργή ΔΠΠΣ), ανθεκτικές μορφές ΧΛΛ, κοινή πέμφιγα / PA (σε κλινικές μελέτες), ΣΕΛ / ιδιοπαθής θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα (δοκιμές σε ορισμένο αριθμό ασθενών)         |
| Ουμπλιτουξιμάμπη ( <i>Ublituximab</i> ) | Χιμαιρικό IgG1 νέας γενιάς (glycoengineered) | <b>ADCC, ADCP</b> > CDC                 | <b>Υπό μελέτη σε:</b> ΥΠΣ (ΥΔΠΣ, ενεργή ΔΠΠΣ), NMOSD, ΧΛΛ, non-Hodgkin λέμφωμα   |





- ogy in studying autoantibody production. Cell Immunol, 1986. **99**(1): p. 29-37.
- [4] Alfaleh, M.A., et al., *Phage Display Derived Monoclonal Antibodies: From Bench to Bedside*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 1986.
- [5] Stashenko, P., et al., *Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen*. J Immunol, 1980. **125**(4): p. 1678-85.
- [6] Beum, P.V., et al., *Complement activation on B lymphocytes opsonized with rituximab or ofatumumab produces substantial changes in membrane structure preceding cell lysis*. J Immunol, 2008. **181**(1): p. 822-32.
- [7] Weiner, G.J., *Building better monoclonal antibody-based therapeutics*. Nat Rev Cancer, 2015. **15**(6): p. 361-70.
- [8] Boross, P. and J.H. Leusen, *Mechanisms of action of CD20 antibodies*. Am J Cancer Res, 2012. **2**(6): p. 676-90.
- [9] Payandeh, Z., et al., *The applications of anti-CD20 antibodies to treat various B cells disorders*. Biomed Pharmacother, 2019. **109**: p. 2415-2426.
- [10] Honeychurch, J., et al., *Antibody-induced nonapoptotic cell death in human lymphoma and leukemia cells is mediated through a novel reactive oxygen species-dependent pathway*. Blood, 2012. **119**(15): p. 3523-33.
- [11] Alduaij, W., et al., *Novel type II anti-CD20 monoclonal antibody (GA101) evokes homotypic adhesion and actin-dependent, lysosome-mediated cell death in B-cell malignancies*. Blood, 2011. **117**: p. 4519-29.
- [12] Grønbaek, K. and M. Jäättelä, *Engaging the lysosomal compartment to combat B cell malignancies*. J Clin Invest, 2009. **119**(8): p. 2133-6.
- [13] Alduaij, W., et al., *Novel type II anti-CD20 monoclonal antibody (GA101) evokes homotypic adhesion and actin-dependent, lysosome-mediated cell death in B-cell malignancies*. Blood, 2011. **117**(17): p. 4519-29.
- [14] Uchiyama, S., et al., *Development of novel humanized anti-CD20 antibodies based on affinity constant and epitope*. Cancer Science, 2010. **101**(1): p. 201-209.
- [15] Bruhns, P., et al., *Specificity and affinity of human Fcγ receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses*. Blood, 2009. **113**(16): p. 3716-25.
- [16] Lee, D.S.W., O.L. Rojas, and J.L. Gommerman, *B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights*. Nature Reviews Drug Discovery, 2021. **20**(3): p. 179-199.
- [17] Pavlasova, G. and M. Mraz, *The regulation and function of CD20: an "enigma" of B-cell biology and targeted therapy*. Haematologica, 2020. **105**(6): p. 1494-1506.
- [18] Santos, M.A.O. and M.M. Lima, *CD20 role in pathophysiology of Hodgkin's disease*. Rev Assoc Med Bras (1992), 2017. **63**(9): p. 810-813.
- [19] Li, H., et al., *Store-operated cation entry mediated by CD20 in membrane rafts*. J Biol Chem, 2003. **278**(43): p. 42427-34.
- [20] Hauser, S.L., et al., *B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis*. N Engl J Med, 2008. **358**(7): p. 676-88.
- [21] Stathopoulos, P. and M.C. Dalakas, *Evolution of Anti-B Cell Therapeutics in Autoimmune Neurological Diseases*. Neurotherapeutics, 2022.
- [22] Asano, T., et al., *Epitope Mapping of Rituximab Using HisMAP Method*. 2022. **41**(1): p. 8-14.
- [23] Grillo-López, A.J., et al., *Rituximab: the first monoclonal antibody approved for the treatment of lymphoma*. Curr Pharm Biotechnol, 2000. **1**(1): p. 1-9.
- [24] Brown, J.R., et al., *The Role of Rituximab in Chronic Lymphocytic Leukemia Treatment and the Potential Utility of Biosimilars*. Oncologist, 2018. **23**(3): p. 288-296.
- [25] Cohen, S.B., et al., *Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks*. Arthritis Rheum, 2006. **54**(9): p. 2793-806.
- [26] Hallek, M., et al., *Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial*. Lancet, 2010. **376**(9747): p. 1164-74.
- [27] Robak, T., E. Lech-Maranda, and P. Robak, *Rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide or other agents in chronic lymphocytic leukemia*. Expert Rev Anticancer Ther, 2010. **10**(10): p. 1529-43.
- [28] Cheson, B.D., *Rituximab for follicular lymphoma: maintaining an open mind*. Nature Reviews Clinical Oncology, 2011. **8**(5): p. 257-258.
- [29] Joly, P., et al., *First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (Ritux 3): a prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial*. Lancet, 2017. **389**(10083): p. 2031-2040.
- [30] Dimopoulos, M.A., et al., *Phase 3 Trial of Ibrutinib plus Rituximab in Waldenström's Macroglobulinemia*. New England Journal of Medicine, 2018. **378**(25): p. 2399-2410.
- [31] Brogan, P., et al., *Phase IIa Global Study Evaluating Rituximab for the Treatment of Pediatric Patients With Granulomatosis With Polyangiitis or Microscopic Polyangiitis*. 2022. **74**(1): p. 124-133.



- [32] Cross, A.H., et al., *Rituximab reduces B cells and T cells in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients*. J Neuroimmunol, 2006. **180**(1-2): p. 63-70.
- [33] Hauser, S.L., et al., *B-Cell Depletion with Rituximab in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis*. New England Journal of Medicine, 2008. **358**(7): p. 676-688.
- [34] Hawker, K., et al., *Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: results of a randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial*. Ann Neurol, 2009. **66**(4): p. 460-71.
- [35] Durozard, P., et al., *Efficacy of rituximab in refractory RRMS*. Multiple Sclerosis Journal, 2018. **25**(6): p. 828-836.
- [36] Granqvist, M., et al., *Comparative Effectiveness of Rituximab and Other Initial Treatment Choices for Multiple Sclerosis*. JAMA Neurol, 2018. **75**(3): p. 320-327.
- [37] Cree, B.A., et al., *An open label study of the effects of rituximab in neuromyelitis optica*. Neurology, 2005. **64**(7): p. 1270-2.
- [38] Gao, F., et al., *Effectiveness of rituximab in neuromyelitis optica: a meta-analysis*. BMC Neurol, 2019. **19**(1): p. 36.
- [39] Lee, D.S.W. and O.L. Rojas, *B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights*. 2021. **20**(3): p. 179-199.
- [40] Roux, T., et al., *Rituximab in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with associated diseases*. J Peripher Nerv Syst, 2018. **23**(4): p. 235-240.
- [41] Shimizu, S. and M. Iijima, *Efficacy and Safety of Rituximab in Refractory CIDP With or Without IgG4 Autoantibodies (RECIPE): Protocol for a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial*. 2020. **9**(4): p. e17117.
- [42] Chisari, C.G., et al., *Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: a review*. 2022. **269**(1): p. 159-183.
- [43] Klein, C., et al., *Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD20 and their relationship to functional properties*. MAbs, 2013. **5**(1): p. 22-33.
- [44] Pawluczko-wycz, A.W., et al., *Binding of submaximal C1q promotes complement-dependent cytotoxicity (CDC) of B cells opsonized with anti-CD20 mAbs of ofatumumab (OFA) or rituximab (RTX): considerably higher levels of CDC are induced by OFA than by RTX*. J Immunol, 2009. **183**(1): p. 749-58.
- [45] Piccio, L., et al., *Changes in B- and T-lymphocyte and chemokine levels with rituximab treatment in multiple sclerosis*. Arch Neurol, 2010. **67**(6): p. 707-14.
- [46] Palanichamy, A., et al., *Rituximab efficiently depletes increased CD20-expressing T cells in multiple sclerosis patients*. J Immunol, 2014. **193**(2): p. 580-586.
- [47] Bennett, C.L., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with rituximab: a 20-year review from the Southern Network on Adverse Reactions*. Lancet Haematol, 2021. **8**(8): p. e593-e604.
- [48] Tsutsumi, Y., et al., *Hepatitis B virus reactivation with a rituximab-containing regimen*. World J Hepatol, 2015. **7**(21): p. 2344-51.
- [49] Florou, D., et al., *Anti-CD20 Agents for Multiple Sclerosis: Spotlight on Ocrelizumab and Ofatumumab*. 2020. **10**(10).
- [50] Lehmann-Horn, K., S. Kinzel, and M.S. Weber, *Deciphering the Role of B Cells in Multiple Sclerosis-Towards Specific Targeting of Pathogenic Function*. Int J Mol Sci, 2017. **18**(10).
- [51] Mallbris, L., et al., *Molecular Insights into Fully Human and Humanized Monoclonal Antibodies: What are the Differences and Should Dermatologists Care?* J Clin Aesthet Dermatol, 2016. **9**(7): p. 13-5.
- [52] Mulero, P., L. Midaglia, and X. Montalban, *Ocrelizumab: a new milestone in multiple sclerosis therapy*. Ther Adv Neurol Disord, 2018. **11**: p. 1756286418773025.
- [53] Lamb, Y.N., *Ocrelizumab: A Review in Multiple Sclerosis*. Drugs, 2022. **82**(3): p. 323-334.
- [54] Mysler, E.F., et al., *Efficacy and safety of ocrelizumab in active proliferative lupus nephritis: results from a randomized, double-blind, phase III study*. Arthritis Rheum, 2013. **65**(9): p. 2368-79.
- [55] Hauser, S.L., et al., *Five years of ocrelizumab in relapsing multiple sclerosis*. OPERA studies open-label extension, 2020. **95**(13): p. e1854-e1867.
- [56] Montalban, X., et al., *Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis*. New England Journal of Medicine, 2016. **376**(3): p. 209-220.
- [57] Hauser, S.L., et al., *Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis*. N Engl J Med, 2017. **376**(3): p. 221-234.
- [58] Cotchett, K.R., B.N. Dittel, and A.Z. Obeidat, *Comparison of the Efficacy and Safety of Anti-CD20 B Cells Depleting Drugs in Multiple Sclerosis*. Mult Scler Relat Disord, 2021. **49**: p. 102787.
- [59] Gingele, S., et al., *Ocrelizumab Depletes CD20 T Cells in Multiple Sclerosis Patients*. 2018. **8**(1).
- [60] Song, A., et al., *Immunogenicity with Repeated Dosing of Ocrelizumab in Patients with Multiple Sclerosis (P2.087)*. Neurology, 2016. **86**(16 Supplement): p. P2.087.
- [61] Rempe, T., et al., *Ocrelizumab treatment is not associated with an increase in anti-JCV antibody index (295)*. Neurology, 2020. **94**(15 Supplement): p. 295.





- [62] Hauser, S.L. and L. Kappos, *Safety of Ocrelizumab in Patients With Relapsing and Primary Progressive Multiple Sclerosis*. 2021. **97**(16): p. e1546-e1559.
- [63] Ciardi, M.R., et al., *Reactivation of Hepatitis B Virus With Immune-Escape Mutations After Ocrelizumab Treatment for Multiple Sclerosis*. Open Forum Infectious Diseases, 2018. **6**(1).
- [64] Achiron, A., et al., *Humoral immune response to COVID-19 mRNA vaccine in patients with multiple sclerosis treated with high-efficacy disease-modifying therapies*. Ther Adv Neurol Disord, 2021. **14**: p. 17562864211012835.
- [65] Tallantyre, E.C., et al., *COVID-19 Vaccine Response in People with Multiple Sclerosis*. 2022. **91**(1): p. 89-100.
- [66] Giovannoni, G., et al., *COVID-19 vaccines and multiple sclerosis disease-modifying therapies*. Mult Scler Relat Disord, 2021. **53**: p. 103155.
- [67] Lin, T.S., *Ofatumumab: a novel monoclonal anti-CD20 antibody*. Pharmgenomics Pers Med, 2010. **3**: p. 51-9.
- [68] Awan, F.T. and J.C. Byrd, *Chapter 77 - Chronic Lymphocytic Leukemia*, in *Hematology (Seventh Edition)*, R. Hoffman, et al., Editors. 2018, Elsevier. p. 1244-1264.
- [69] Beljanski, V., *Ofatumumab*, in *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, S.J. Enna and D.B. Bylund, Editors. 2010, Elsevier: New York. p. 1-4.
- [70] Klufas, D.M., et al., *Refractory pemphigus vulgaris successfully treated with ofatumumab*. JAAD Case Rep, 2020. **6**(8): p. 734-736.
- [71] Taylor, P.C., et al., *Ofatumumab, a fully human anti-CD20 monoclonal antibody, in biological-naive, rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial*. Ann Rheum Dis, 2011. **70**(12): p. 2119-25.
- [72] Zhang, B., *Ofatumumab*. MAbs, 2009. **1**(4): p. 326-31.
- [73] Doyle, A.J., et al., *The use of obinutuzumab and ofatumumab in the treatment of immune thrombotic thrombocytopenic purpura*. British Journal of Haematology, 2022. **198**(2): p. 391-396.
- [74] Haarhaus, M.L., E. Svenungsson, and I. Gunnarsson, *Ofatumumab treatment in lupus nephritis patients*. Clin Kidney J, 2016. **9**(4): p. 552-5.
- [75] Masoud, S., et al., *Ofatumumab for B cell depletion in patients with systemic lupus erythematosus who are allergic to rituximab*. Rheumatology (Oxford), 2018. **57**(7): p. 1156-1161.
- [76] Kang, C. and H.A. Blair, *Ofatumumab: A Review in Relapsing Forms of Multiple Sclerosis*. Drugs, 2022. **82**(1): p. 55-62.
- [77] Barth, M.J., et al., *Ofatumumab Exhibits Enhanced In Vitro and In Vivo Activity Compared to Rituximab in Preclinical Models of Mantle Cell Lymphoma*. Clin Cancer Res, 2015. **21**(19): p. 4391-7.
- [78] von Essen, M.R., et al., *Ofatumumab Modulates Inflammatory T Cell Responses and Migratory Potential in Patients With Multiple Sclerosis*. Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation, 2022. **9**(4): p. e200004.
- [79] Avila, J., J. Han, and I. Zaydan, *Progressive Multifocal Leukoencephalopathy Associated with Ofatumumab Presenting as Alexia without Agraphia: A Case Report (P4.319)*. Neurology, 2014. **82**(10 Supplement): p. P4.319.
- [80] Mitka, M., *FDA: Increased HBV reactivation risk with ofatumumab or rituximab*. Jama, 2013. **310**(16): p. 1664.
- [81] Butler, L.A., C.S. Tam, and J.F. Seymour, *Dancing partners at the ball: Rational selection of next generation anti-CD20 antibodies for combination therapy of chronic lymphocytic leukemia in the novel agents era*. Blood Reviews, 2017. **31**(5): p. 318-327.
- [82] Jain, N. and S. O'Brien, *Targeted therapies for CLL: Practical issues with the changing treatment paradigm*. Blood Reviews, 2016. **30**(3): p. 233-244.
- [83] Payandeh, Z., et al., *The applications of anti-CD20 antibodies to treat various B cells disorders*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019. **109**: p. 2415-2426.
- [84] Steinman, L., et al., *Efficacy and safety of ublituximab versus teriflunomide in relapsing multiple sclerosis: Results of the Phase 3 ULTIMATE I and II trials (4494)*. Neurology, 2021. **96**(15 Supplement): p. 4494.
- [85] Mealy, M.A. and M. Levy, *A pilot safety study of ublituximab, a monoclonal antibody against CD20, in acute relapses of neuromyelitis optica spectrum disorder*. Medicine (Baltimore), 2019. **98**(25): p. e15944.
- [86] Sharman, J.P., et al., *Ublituximab plus ibrutinib versus ibrutinib alone for patients with relapsed or refractory high-risk chronic lymphocytic leukaemia (GENUINE): a phase 3, multicentre, open-label, randomised trial*. Lancet Haematol, 2021. **8**(4): p. e254-e266.
- [87] Lunning, M., et al., *Ublituximab and umbralisib in relapsed/refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2019. **134**(21): p. 1811-1820.



## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ ΠΟΛΛΑΠΛΗ ΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Χριστίνα Μπιτσίνα<sup>1</sup>, Χρυστάλλα Κωνσταντίνου<sup>1</sup>, Πασχάλης Θεοτόκης<sup>1</sup>, Ιωάννης Νικολαΐδης<sup>1,2</sup>, Μαρίνα Κλεοπάτρα Μποζίκη<sup>1,2</sup>,  
Νικόλαος Γρηγοριάδης<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Εργαστήριο Πειραματικής Νευρολογίας και Νευροανοσολογίας, Β' Νευρολογική Κλινική Γ.Π.Ν.Θ. ΑΧΕΠΑ

<sup>2</sup> Κέντρο Πολλαπλής Σκλήρυνσης, Β' Πανεπιστημιακή Νευρολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

### Περίληψη

Η πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ) αποτελεί μία χρόνια αυτοάνοση απομυελινωτική φλεγμονώδη διαταραχή του κεντρικού νευρικού συστήματος, που σταδιακά οδηγεί σε αναπηρία. Παρόλο που η ΠΣ χαρακτηρίζεται από άγνωστη και ιδιαίτερα πολύπλοκη παθοφυσιολογία, είναι γνωστό ότι τόσο οι περιβαλλοντικοί παράγοντες όσο και το γενετικό υπόβαθρο συμβάλλουν ενεργά στον φαινότυπο της νόσου και να δύνανται να πυροδοτήσουν συγκεκριμένες ανοσοαποκρίσεις. Ωστόσο, πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα αναδεικνύουν τον κυτταρικό μεταβολισμό ως ένα σημαντικό διαμεσοληβητή αναφορικά με την ανάπτυξη της συγκεκριμένης νευροεκφυλιστικής ασθένειας μεταξύ άλλων. Η παρούσα ανασκόπηση στοχεύει στη περιγραφή των βασικών ρυθμιστικών επιδράσεων που έχει η διαταραχή του κυτταρικού μεταβολισμού στην παθογένεση και στην εξέλιξη της νόσου.

**Λέξεις κλειδιά:** πολλαπλή σκλήρυνση, κυτταρικός μεταβολισμός, νευροεκφύλιση, ανοσοποιητικό σύστημα, γλυκόλυση, οξειδωτικό στρες

## THE ROLE OF CELL METABOLISM IN MULTIPLE SCLEROSIS

Christina Bitsina<sup>1</sup>, Chrystalla Konstantinou<sup>1</sup>, Paschalis Theotokis<sup>1</sup>, Ioannis Nikolaidis<sup>1,2</sup>, Marina Kleopatra Boziki<sup>1,2</sup>, Nikolaos Grigoriadis<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Experimental Neurology and Neuroimmunology, Department of Neurology, AHEPA General Hospital

<sup>2</sup> Multiple Sclerosis Center, 2nd Neurological Department, AHEPA General Hospital, Aristotle University of Thessaloniki

### Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune demyelinating disorder of the central nervous system (CNS) that progressively leads to disability. Although MS is characterized by undetermined and quite complex pathophysiology, it is well known that both environmental factors and genetic background actively contribute to the disease phenotype and potentially trigger specific immune responses. However, emerging research evidence suggest that cell metabolism appears to be a crucial mediator for the progression of this particular neurodegenerative disease among others as well. The present review aims to outline the basic regulatory effects of perturbed cell metabolism mechanisms and pinpoint how it intereferes with the pathogenesis and the disease progression.

**Key words:** multiple sclerosis, cell metabolism, neurodegeneration, immune system, glycolysis, oxidative stress





## Εισαγωγή

Η Πολλαπλή Σκλήρυνση (ΠΣ) αποτελεί μια χρόνια αυτοάνοση ανοσοδιαμεσολαβούμενη φλεγμονώδη απομυελινωτική διαταραχή του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) αγνώστου αιτιοπαθοφυσιολογίας. Τα κατεξοχήν βασικά χαρακτηριστικά της νόσου είναι η νευροφλεγμονή, η δημιουργία απομυελινωτικών πλάκων ή εστιών, η καταστροφή νευραξόνων, η απώλεια ολιγοδενδροκυττάρων και το φαινόμενο της γλιόωσης [1] καθώς επίσης η παρουσία ολιγοκλωνικών ζωνών στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ΕΝΥ).

Αναφορικά με την παθοφυσιολογία της νόσου, η ΠΣ χαρακτηρίζεται από διαταραγμένες ανοσιακές αποκρίσεις έναντι των αντιγόνων του ελύτρου της μυελίνης που περικλείουν τους νευράξονες και έναντι των ολιγοδενδροκυττάρων, διαταραχή του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (ΑΕΦ) με αποτέλεσμα την μετανάστευση ενεργοποιημένων λεμφοκυττάρων, καθώς επίσης χημειοκινών και κυτοκινών από την περιφέρεια εντός του ΚΝΣ [2]. Ενώ δεν έχει ταυτοποιηθεί κάποιος σαφής αιτιολογικός παράγοντας που να προκαλεί την συγκεκριμένη ασθένεια, έχει προταθεί ότι είναι αποτέλεσμα τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών παραγόντων και ότι χαρακτηρίζεται εκτός από ιδιαίτερη πολυπλοκότητα και από μεγάλη ετερογένεια μεταξύ των ατόμων που πάσχουν από αυτή [3].

Με βάση κλινικά κριτήρια ασθενών όπως είναι για παράδειγμα η συχνότητα εμφάνισης των υποτροπών και ο ρυθμός ανάπτυξης απομυελινωτικών βλαβών εντός του ΚΝΣ, η ΠΣ κατατάσσεται σε τρεις διακριτές μορφές, με βάση τα ανανεωμένα κριτήρια του McDonald, οι οποίες είναι οι ακόλουθες: i) διαλείπουσα υποτροπιάζουσα (Relapsing-Remitting MS-RRMS), ii) η πρωτοπαθώς προοδευτική (πρωϊούσα) (primary progressive MS-PPMS) και iii) η δευτεροπαθώς προοδευτική (secondary progressive MS-SPMS) [4]. Η διάγνωση τεκμηριώνεται στη βάση δύο παραμέτρων, την διασπορά σε χώρο (Dissemination in space-DIS) και τη διασπορά στο χρόνο (Dissemination in time-DIT) [5], ενώ περιοχές των βλαβών εντοπίζονται κυρίως περικοιλιακά, υποφλοιωδώς, υποσκληνιδιακά και στον νωτιαίο μυελό.

## Κυτταρικός μεταβολισμός και ΠΣ

Πρόσφατα ερευνητικά ευρήματα στον ιατρικό τομέα αναδεικνύουν τη σημασία και την πιθανή εμπλοκή του κυτταρικού μεταβολισμού στο υπόβαθρο τόσο νευρολογικών όσο και ανοσολογικών ασθενειών στον άνθρωπο. Αυτό άλλωστε επιβεβαιώνεται και από το γεγονός ότι ο εγκέφαλος είναι ένα όργανο με υψηλές ενεργειακές και μεταβολικές απαιτήσεις με χαρακτηριστικό παράδειγμα την κατανάλωση 20% της συνολικής γλυκόζης και 20% του συνολικού οξυγόνου του ανθρώπινου οργανισμού [6]. Συγκεκριμένα, μελέτες υποστηρίζουν ότι στην ΠΣ έχουν εντοπιστεί αλλαγές στο μεταβολισμό διάφορων σηματοδοτικών μονοπα-

τιών, όπως αποδεικνύεται άλλωστε τόσο από μοντέλα πειραματόζων in vivo όσο και από μεταβολωμικές αναλύσεις ασθενών.

Ο κυτταρικός μεταβολισμός, αναφέρεται στο σύνολο των χημικών αντιδράσεων που μετατρέπουν θρεπτικά συστατικά και ενδογενή μόρια σε ενέργεια. Τα πιο αντιπροσωπευτικά μονοπάτια είναι της γλυκόλυσης (γνωστή και ως μονοπάτι Embden–Meyerhof) –μέσω της οποίας πραγματοποιείται το πρώτο στάδιο της κυτταρικής αναπνοής- και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης [7]. Το δε μονοπάτι της γλυκόλυσης έχει διαπιστωθεί ότι είναι απορρυθμισμένο σε ένα μεγάλο εύρος νευροεκφυλιστικών ασθενειών όπως είναι η νόσος Alzheimer, η νόσος του Huntington ενώ φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ διαταραχή στον μεταβολισμό της γλυκόζης και την παθογένεια της ΠΣ [8]. Ειδικότερα, διαταραχές τόσο στο μεταβολισμό της γλυκόζης όσο και του πυροσταφυλικού οξέος στους ασθενείς με ΠΣ ανιχνεύονται από τα υψηλά επίπεδα πυροσταφυλικού οξέος, α-κετογλουταρικού και κιτρικού οξέος τόσο στο αίμα όσο και στο ΕΝΥ [9].

### 2.1. Μεταβολικές διαταραχές στο μονοπάτι της γλυκόλυσης

Όπως είναι ήδη γνωστό, τα αυτοαντιδρώντα T-λεμφοκύτταρα φαίνεται να είναι από τους πιο σημαντικούς διαμεσολαβητές για την εκδήλωση της νόσου της ΠΣ. Ωστόσο, στον περιαγγειακό χώρο στον εγκέφαλο, τα μακροφάγα κύτταρα φαίνεται να είναι ο επικρατέστερος πληθυσμός κυττάρων, ενώ η μελέτη αυτών σε επίπεδο κυτταρικού μεταβολισμού μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για τον τρόπο αλληλεπίδρασης τους με άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς και πως αυτά συνηγορούν στην περαιτέρω εξέλιξη και πορεία της νόσου.

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που επιβεβαιώνουν ότι στα μακροφάγα, που εδράζονται στον περιαγγειακό χώρο, έχουν εντοπιστεί διάφορες αλλαγές σε επίπεδο γλυκόλυσης. Συγκεκριμένα, μία σχετικά πρόσφατη δημοσίευση που στηρίζεται πρωτίστως στο μοντέλο της πειραματικής αυτοάνοσης εγκεφαλομυελίτιδας – που μιμείται την νόσο της ΠΣ σε πειραματόζωα- ανέδειξε ότι τα μακροφάγα που εντοπίζονται στον περιαγγειακό χώρο είναι γλυκολυτικά σε μεγάλο βαθμό, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται από την υψηλή έκφραση του ενζύμου της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDHA), η οποία εντείνει το προφλεγμονώδες φαινότυπο των μακροφάγων [10]. Επιπλέον, τα συγκεκριμένα κύτταρα βρέθηκε ότι παράγουν σε μεγάλο βαθμό τον μονοκαρβοξυλικό μεταφορέα MCT-4, ο οποίος ευθύνεται για την έκκριση του γαλακτικού οξέος από τα γλυκολυτικά κύτταρα. Πέρα από αυτόν τον μηχανισμό ρύθμισης, διαπιστώθηκε μάλιστα ότι πιθανότατα τα κύτταρα αυτά να συνδράμουν και στον μηχανισμό με τον οποίο τα T-λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν από την περιφέρεια εντός του ΚΝΣ. Εξίσου ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί



το γεγονός ότι η χορήγηση του φαρμάκου CHCΑστα πειραματόζωα αυτά οδήγησε σε σημαντική μείωση των επιπέδων LDHA στα μακροφάγα και συνέβαλε στη βελτίωση της κλινικής εικόνας των πειραματόζωων.

## 2.2. Διαταραχές στον μεταβολισμό των μιτοχονδρίων

Είναι γνωστό ότι τα μιτοχόνδρια είναι τα κατεξοχήν κυτταρικά οργάνδια παραγωγής ενέργειας υπό μορφής τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) τόσο μέσω του κύκλου του Krebs-μέσω της παραγωγής των ενζύμων NADH και FADH- όσο και μέσω της διαδικασίας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Επιπρόσθετα, ο μιτοχονδριακός μεταβολισμός έχει επίδραση στην λειτουργία των μονοπύρηνων μακροφάγων και οι μεταβολίτες που προκύπτουν ως ενδιάμεσα παράγωγα κυτταρικών διεργασιών από αυτόν φαίνεται να έχουν ρυθμιστικό ρόλο στην διαδικασία της φλεγμονής. Κατά το φλεγμονώδες στάδιο της νόσου, παρατηρούνται τόσο αλληγές στους διαύλους ιόντων ενώ παράλληλα αναπτύσσεται χρόνιο οξειδωτικό στρες. Ειδικότερα, το χρόνιο φλεγμονώδες περιβάλλον της ΠΣ οδηγεί σταδιακά σε διάρρηξη της νευρωνικής ομοιόστασης, αύξηση του οξειδωτικού στρες, που χαρακτηρίζεται από την αύξηση των δραστικών ή ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species-ROS) και προκαλεί περαιτέρω βλάβη στα μιτοχόνδρια και σε μακρομόρια (πχ. μιτοχονδριακό DNA, πρωτεΐνες, λιπίδια) [11]. Το αποτέλεσμα που προκύπτει είναι η μείωση παραγωγής ενέργειας, και κατά συνέπεια την μείωση παροχής ενέργειας στους απομυελινωμένους νευράξονες, ένα γεγονός το οποίο σταδιακά διαταράσσει την ιοντική ομοιόσταση και πυροδοτεί την ενεργοποίηση μηχανισμών απόπτωσης [12].

## 2.3. Διαταραχές στον μεταβολισμό του οξυγόνου

Ο μεταβολισμός του οξυγόνου λαμβάνει χώρα στο μιτοχονδριακό σύμπλοκο της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Μέσω αυτής της διαδικασίας παράγονται και ενεργές μορφές οξυγόνου οι οποίες εμπλέκονται σε φυσιολογικές διεργασίες του κυττάρου. Ωστόσο, η παραγωγή των ROS σε υψηλά επίπεδα μπορεί να αποβεί κυτταροτοξική και επιβλαβής για διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς εντός του ΚΝΣ. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα ολιγοδενδροκύτταρα, τα οποία τα είναι κατεξοχήν υπεύθυνα για την παραγωγή ελύτρου μυελίνης, που περιβάλλει τους νευράξονες στο ΚΝΣ. Τα κύτταρα αυτά λοιπόν είναι πιο ευάλωτα σε βλάβες οξειδωτικής βλάβης συγκριτικά με άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς νευρογλοίας όπως είναι τα αστροκύτταρα. Επομένως, το οξειδωτικό στρες οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο μέσω της απόπτωσης μειώνοντας σε σημαντικό βαθμό το απόθεμα των κυττάρων που είναι υπεύθυνο για την μυελίνωση των αξόνων.

Ένας άλλος μηχανισμός σύνθεσης των ROS προέρχεται από την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO) από ενεργοποιημένη μικρογλοία και μακροφάγα, μια αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) [13]. Η αλληλεπίδραση του μορίου αυτού με το υπεροξειδίο οδηγεί στο σχηματισμό του ONOO<sup>-</sup>, το οποίο είναι εξαιρετικά τοξικό για τα κύτταρα και προκαλεί την υπεροξειδωση των πρωτεϊνών, λιπιδίων και DNA.

## 2.4. Διαταραχές στον μεταβολισμό σιδήρου

Ο σίδηρος είναι ένα μέταλλο το οποίο συμμετέχει τόσο στην διαδικασία σύνθεσης της μυελίνης στα ολιγοδενδροκύτταρα αλλά επίσης ενέχει σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Ιδιαίτερο ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει στο ΚΝΣ κατά τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του εγκεφάλου ενώ η έλλειψη σιδήρου έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της ολιγοδενδρογένεσης, γεγονός το οποίο δυσχεραίνει την αποκατάσταση της βλάβης στους απομυελινωμένους άξονες. Από την άλλη πλευρά, υψηλές ποσότητες σιδήρου δεν είναι επίσης ωφέλιμες για την ομαλή λειτουργία του εγκεφάλου και μάλιστα έχουν εντοπιστεί στην λευκή ουσία ασθενών με ΠΣ καθώς ο σίδηρος σε ελεύθερη μορφή μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία οξειδωτικού στρες. Δεν έχει διασαφηνιστεί ακόμα εάν η εναπόθεση σιδήρου είναι αποτέλεσμα διαταραγμένων κυτταρικών διεργασιών ή εάν όντως ο σίδηρος είναι σημαντικός διαμεσοληβητής της νόσου. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα της φερριτίνης είναι ανεβασμένα στο ENY ασθενών με χρόνια πρωτοπαθώς προϊούσα ΠΣ αλλά όχι στην διαλείπουσα υποτροπιάζουσα [14].

## 2.5. Διαταραχές στον μεταβολισμό του ψευδάργυρου

Πέρα από τα διαταραγμένα επίπεδα σιδήρου, έχουν βρεθεί αλληγές στη συγκεντρώσεις τόσο του ψευδαργύρου όσο και του ασβεστίου σε ασθενείς με ΠΣ συγκριτικά με υγιή άτομα [13]. Διαταραχές στον μεταβολισμό του ιχνοστοιχείου αυτού έχουν συνδεθεί με επιπτώσεις στο νευρικό, ανοσοποιητικό και στο αναπαραγωγικό σύστημα. Επιπλέον, είναι κύριοι συμπαράγοντες διάφορων σημαντικά ενζύμων όπως είναι οι μεταλλοπρωτεάσες και ενέχουν ρυθμιστικό ρόλο στην πρωτεολυτική ικανότητα αυτών. Πολλές από τις μεταλλοπρωτεάσες αυτές μάλιστα, χρησιμοποιούν ως καταλυτικό υπόστρωμα την βασική πρωτεΐνη της μυελίνης MBP που συμμετέχει στην διεργασία της μυελίνωσης [15].

## 2.6. Διαταραχές στον μεταβολισμό της βιταμίνης D

Είναι γνωστό ότι η βιταμίνη D και ο ενεργός μεταβολίτης 1,25-διυδροξυβιταμίνη D διαδραματίζουν





σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης του μεταβολισμού του ασβεστίου, στο νευρικό και στο ανοσοιακό σύστημα. Πειραματικές όσο και κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη ασκεί ανοσοτροποποιητική δράση στο ΚΝΣ και στα περιφερικά όργανα του ΑΣ [16]. Επιπλέον, η έλλειψη βιταμίνης D θεωρείται παράγοντας κινδύνου που μπορεί να οδηγήσει στην εκδήλωση της νόσου της ΠΣ. Συγκεκριμένα, στο μοντέλο της ΠΑΕ έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση της βιταμίνης D έχει αντιφλεγμονώδη δράση καθώς μειώνει τον αριθμό των μακροφάγων διεισδυτικού τύπου, δηλαδή των προφλεγμονωδών μακροφάγων τύπου M1, και επιπροσθέτως ρυθμίζει την έκκριση συγκεκριμένων κυτταροκινών οι οποίες επάγουν την ενεργοποίηση ολιγοδενδροκυττάρων [17].

### 2.7. Ο ρόλος του μεταβολισμού των λιπιδίων

Ο άνθρωπος εγκέφαλος χρησιμοποιεί την γλυκόζη ως κύρια μορφή ενέργειας για την κάλυψη των αναγκών των διαφορετικών κυτταρικών πληθυσμών που τον απαρτίζουν και όχι λιπίδια. Παρόλα αυτά, ο λιπιδιακός μεταβολισμός φαίνεται να ενέχει σημαντικό ρόλο καθώς σε περιπτώσεις μεταβολικού στρες, τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος έχουν την δυνατότητα να αξιοποιούν εναλλακτικές μορφές ενέργειας όπως είναι για παράδειγμα τα λιπαρά οξέα. Δεδομένου λοιπόν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα συμμετέχει σε μεγάλο βαθμό στην εκδήλωση της νόσου είναι εύλογο ότι διαταραχές στον μεταβολισμό των λιπιδίων των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος πιθανότατα να έχει μία έμμεση ρυθμιστική επίδραση στην νόσο της ΠΣ. Χαρακτηριστικό παράδειγμα άλλωστε, αποτελεί το γεγονός ότι σε μοντέλο της ΠΑΕ, χορηγήθηκε αναστολέας **παλμιτοϋλτρανσφεράσης της καρνιτίνης** ενός ενζύμου το οποίο είναι απαραίτητο για το στάδιο της β-οξειδωσης των λιπιδίων (carnitine palmitoyltransferase 1-CPT-1), σε μία προσπάθεια διερεύνησης της επίδρασης του διαταραγμένου λιπιδιακού μεταβολισμού στην ΠΣ. Η αναστολή του CPT-1 στα αυτοαντιδρώντα T-λεμφοκύτταρα οδήγησε σε απόπτωση των κυττάρων αυτών ενώ επίσης παρατηρήθηκε μειωμένος αριθμός των προφλεγμονωδών κυτταροκινών που δημιουργούν παθολογικό μικροπεριβάλλον εντός του ΚΝΣ [18].

### 2.8. Ο ρόλος του μεταβολισμού του μαγνησίου

Πειραματικές μελέτες υποστηρίζουν ότι το μαγνήσιο ενέχει σημαντικό ρόλο σε ένα πλήθος νευρολογικών παθήσεων όπως στην περίπτωση της οξείας εγκεφαλικής βλάβης, στην επιληψία καθώς επίσης και στη νόσο Alzheimer και Parkinson [19]. Σε ασθενείς με ΠΣ, έχει παρατηρηθεί μείωση της συγκέντρωσης του μαγνησίου κυρίως στην περιοχή της λευκής ουσίας όπου λαμβάνουν χώρα μεγάλου εύρους παθολογικές και

κυτταρικές αλλοιώσεις [20]. Επίσης, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι το μαγνήσιο είναι σημαντικός ρυθμιστής της δομής και της σταθερότητας της μυελίνης που μεταδίδει τους νευράξονες είναι υπεύθυνη για την μετάδοση της νευρικής ώσης [21]. Ωστόσο, η ακριβής συσχέτιση και ο ακριβής μηχανισμός δράσης καθώς επίσης οι συνέπειες σε επίπεδο κυτταρικού μεταβολισμού χρήζουν περαιτέρω επιστημονικής και ερευνητικής διερεύνησης.

### 3. Θεραπευτικές προσεγγίσεις στην ΠΣ

Έχει διαπιστωθεί λοιπόν ότι ο κυτταρικός μεταβολισμός είναι ένας από τους πολλούς παράγοντες που φαίνεται να είναι απορρυθμισμένοι στην νόσο της ΠΣ. Η μεταβολωμική ανάλυση ενδέχεται να οδηγήσει στην ανάδειξη πιθανών βιοδεικτών, οι οποίοι δύνανται να αποκτήσουν διαγνωστική αξία και να συνδράμουν στην παρακολούθηση της πορείας των ασθενών. Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που στοχεύουν στην αποκατάσταση και διατήρηση της ακεραιότητας του ελύτρου της μυελίνης [22] που περικλείει τους νευράξονες και στην τροποποίηση του ενεργειακού κυτταρικού μεταβολισμού φαίνεται να είναι ελπιδοφόρες και ίσως στο μέλλον να επιφέρουν μεγάλη πρόοδο στον τομέα της θεραπείας [22, 23, 24].

Οι μεταβολικές θεραπείες έγκειται στην τροποποίηση βιοχημικών μονοπατιών με απώτερο σκοπό την βελτίωση του παθολογικού φαινότυπου και βελτίωση της πορείας της νόσου. Παράλληλα, η ιδέα του μεταβολικού επαναπρογραμματισμού φαίνεται να προσελκύει ιδιαίτερα το ενδιαφέρον των ερευνητών καθώς ανοίγει το δρόμο για καινούργιες πιο στοχευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Ειδικότερα, η τροποποίηση του μεταβολικού προφίλ των κυττάρων του ανοσοιακού συστήματος μπορεί να αποβεί μία αρκετά χρήσιμη στρατηγική αντιμετώπισης και προσπάθεια ελέγχου διάφορων αυτοάνοσων παθήσεων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω επαναπρογραμματισμού των μικρογλοιακών κυττάρων και των διηθούντων από την περιφέρεια προς το ΚΝΣ, προφλεγμονωδών μακροφάγων τύπου M1. Αλλαγή της σύστασης του μικροπεριβάλλοντος των κυττάρων αυτών μέσω αύξησης ή απομάκρυνσης συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών και ιχνοστοιχείων μπορεί να οδηγήσει στην μετάβαση από τύπου M1 σε τύπου M2 μακροφάγα κύτταρα τα οποία ασκούν αντι-φλεγμονώδη [25, 26, 27].

Συμπερασματικά, η ΠΣ είναι μία πολύπλοκη αυτοάνοση νόσος, όχι μόνο με εμφανείς μακροσκοπικά βλάβες αλλά και με επιπτώσεις σε σηματοδοτικά μονοπάτια κυτταρικού μεταβολισμού, τόσο σε κύτταρα του νευρικού συστήματος όσο και του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι εξελίξεις στην ιατρική έρευνα αναμένεται να αναδείξουν νέους τρόπους προσέγγισης της νόσου όχι μόνο διαγνωστικά, με την αναγνώριση βιοδεικτών, αλλά και σε ό,τι αφορά στην παρακολούθηση και διαχείριση της νόσου.



#### 4. Βιβλιογραφία

- [1] Calliope A. Dendrou, Lars Fugger and Manuel A. Friese, Immunopathology of Multiple Sclerosis, *Nature Reviews Immunology* (2015).
- [2] Lawrence Steinman, M.D., Multiple Sclerosis: A Coordinated Review Immunological Attack against Myelin in the Central Nervous System Cell, Vol. 85, 299-302(1996).
- [3] Thomas Korn, Pathophysiology of MS, *Journal of Neurology* (2008).
- [4] Hans Lassmann, Pathogenic Mechanisms Associated With Different Clinical Courses of Multiple Sclerosis, *Frontiers in Immunology* (2019).
- [5] Oh, Jiwon, Vidal-Jordana, Angela Montalban, Xavier, Multiple sclerosis: clinical aspects, *Current Opinion in Neurology*, Volume 31- Issue 6 p.752-759 (2008).
- [6] Mithilesh Kuman Jha, Brett M. Morrison, Glia-neuron energy metabolism in health and disease: New insights into the role of the nervous system metabolic transporters, *Experimental Neurology* (2018).
- [7] William G. Kaelin Jr and Craig B. Thompson, Clues from cell metabolism, *Nature* (2010).
- [8] Deepali Mathur, Gerardo Lopez-Rodas, Bonaventura Casanova, Maria Bungal Marti, Perturbed glucose metabolism: insights into multiple sclerosis pathogenesis, *Frontiers in neurology* (2014).
- [9] Rebecca M. Heidker , Mitchell R. Emerson, Steven M. LeVine, Metabolic pathways as possible therapeutic targets for progressive multiple sclerosis, *Neural Regeneration Research* (2017).
- [10] Deepak Kumar Kaushik, Anindita Bhattacharya, Reza Mirzaei, Khalil S. Rawji, Younghee Ahn, Jong M. Rho, V. Wee Wong, Enhanced glycolytic metabolism supports transmigration of brain-infiltrating macrophages in multiple sclerosis, *Journal of Clinical Investigation* (2019).
- [11] Isabella Peixoto de Barcelos, Regina M. Troxell, Jennifer S. Graves Mitochondrial Dysfunction and Multiple Sclerosis, *Biology* (2019).
- [12] Ranjan Dutta, Jennifer McDonough, Xinghua Yin, John Peterson, Ansi Chang, Thalia Torres, Tatyana Gudz, Wendy B. Macklin, David A. Lewis, Robert J. Fox, Richard Rudick, Karoly Mirnics, Bruce D. Trapp, Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. *Annals of Neurology* (2006).
- [13] Reginald C. Adielea, Chiedukam A. Adiele, Metabolic defects in multiple sclerosis, *Mitochondrion* (2017).
- [14] Steven Mc Levine, Anuradha Chakrabarty, The role of iron in the pathogenesis of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and Multiple Sclerosis, *Annals of the New York Academy of Sciences* (2004).
- [15] Mikkel Bredholt and Jette Lautrup Frederikse, Zinc in Multiple Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis, *American Society for Neurochemistry* (2016).
- [16] Georgi S. Slavov, Anastasiya G. Trenova, Mariya G. Manova, Ivanka I. Kostadinova, Tonka V. Vasileva, Zahari I. Zahariev, Vitamin D Immunomodulatory Potential in Multiple Sclerosis, *Folia Medica* (2013).
- [17] Sharmila J. Dudani, Shivani Kalhan, Sonia P. Sharm, Vitamin D and multiple sclerosis: Potential pathophysiological role and clinical implications *International Journal of Applied and Basic Medical Research* (2011).
- [18] Leah P. Shriver, Marianne Manchester Inhibition of fatty acid metabolism ameliorates disease activity in an animal model of multiple sclerosis, *Scientific Reports* (2011).
- [19] Robert Vink, Magnesium in the CNS: recent advances and developments, *Magnesium Research* (2016).
- [20] Yasui M, Ota K., Experimental and clinical studies on dysregulation of magnesium metabolism and the aetiopathogenesis of multiple sclerosis, *Magnesium Research* (1992).
- [21] P. Goldberg, M.C.Fleming, E.H.Picard, Multiple sclerosis: Decreased relapse rate through dietary supplementation with calcium, magnesium and vitamin D, *Medical Hypothesis* (2016).
- [22] Rujapope Sutiwisesak, Terry C. Burns, Moses Rodriguez, Arthur Warrington, Remyelination therapies for multiple sclerosis: optimizing translation from animal models into clinical trials, *Expert opinion on investigational drugs* (2021).
- [23] Aiden Haghikia, Reinhard Hohlfeld , Ralf Gold, Lars Fugger, Therapies for multiple sclerosis: translational achievements and outstanding needs, *Cell Press* (2012).
- [24] David Kremer, Rainer Akkermann, Patrick Küry and Ranjan Dutta Current advancements in promoting remyelination in multiple sclerosis, *Multiple Sclerosis Journal* (2019).
- [25] Deepak Kumar Kaushik, Voon Wee Yong Metabolic needs of brain-infiltrating leukocytes and microglia in multiple sclerosis, *Journal of Neurochemistry* (2020).
- [26] Fengna Chu<sup>1</sup>, Mingchao Shi, Chao Zheng, Donghui Shen, Jie Zhu, Xiang Zheng, Li Cui, The roles of Macrophages and Microglia in Multiple Sclerosis and Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, *Journal of Neuroimmunology* (2018).
- [27] Beth Kelly, Luke AJ O'Neil Metabolic reprogramming in macrophages and dendritic cells in innate immunity, *Cell Research* (2015).





## ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟ 8<sup>Ο</sup> ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑΣ – 8<sup>TH</sup> CONGRESS OF THE EUROPEAN ACADEMY OF NEUROLOGY (EAN)

Βιέννη, 25-28 Ιουνίου 2022

*Οι περιλήψεις έχουν δημοσιευτεί στο European Journal Of Neurology  
Volume 29, Supplement 1, June 2022*

Επιμέλεια:

**Βασίλειος Μαστοροδήμος**, Νευρολογική Κλινική ΠΑ.Γ.Ν.Η,  
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Ηράκλειο, Κρήτη

**Χάρης Αλεξόπουλος**, Εργαστήριο Βιολογίας Κυττάρου, Τμήμα Βιολογίας,  
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

**Μαρίνα Κλεοπάτρα Μποζίκη**, Β' Νευρολογική Πανεπιστημιακή Κλινική, ΠΓΝΘ ΑΧΕΠΑ,  
Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Σε μία πολυκεντρική μελέτη 9 κέντρων Πολλαπλής Σκλήρυνσης που ανήκουν στο δίκτυο MAGNIMS (**Rocca και συν. Spinal cord lesions and brain grey matter atrophy predict 5-year multiple sclerosis disease worsening EPR-172**), 367 MS ασθενείς και 179 υγιείς μάρτυρες παρακολούθηθηκαν προοπτικά με κλινική καταγραφή και απεικόνιση με MRI 3T για >5ετη (διάμεσος median 5.1 έτη). Οι στόχοι της μελέτης ήταν να διαπιστωθεί ποιοι κλινικοί και απεικονιστικοί προγνωστικοί δείκτες συσχετίζονται με την πρόοδο της αναπηρίας και συγκεκριμένα με την επίτευξη EDSS 3.0, 4.0, 6.0 και μετατροπή στην δευτεροπαθώς προϊούσα ΠΣ (SPMS). Η υψηλότερη τιμή EDSS και ο μεγαλύτερος αριθμός εστιών στο αυχενικό νωτιαίο μυελό (NM) ήταν οι δύο σημαντικότεροι προγνωστικοί δείκτες. Γενικότερα όμως ο συνδυασμός απεικονιστικών παραμέτρων τόσο από τον εγκέφαλο (ατροφία συνολική και της εν τω βάθει φαιάς ουσίας) όσο και από τον νωτιαίο μυελό (αριθμός εστιών, ατροφία NM) συμβάλουν στην πρόβλεψη της εξέλιξης της αναπηρίας ιδιαίτερα στους MS ασθενείς με την υποτροπιάζουσα μορφή.

Οι **Friedmann και συν. (Natalizumab during pregnancy in women with Multiple Sclerosis**

**and its impact on children's development EPR-257)** παρουσίασαν τα αποτελέσματα έκθεσης στη ναταλιζουμάμπη (NZT) κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης με ιδιαίτερη αναφορά την όποια επίδραση στην ανάπτυξη των παιδιών. Τα δεδομένα ελήφθησαν από το **German Multiple Sclerosis and Pregnancy Registry** κι αφορούσαν σε 150 γυναίκες με ΠΣ που συγκρίθηκαν με 80 γυναίκες που διέκοψαν την ανοσοτροποποιητική αγωγή τους (κυρίως ιντερφερόνη βήτα ή οξική γλατιραμέρη) προ της εγκυμοσύνης (ομάδα ελέγχου). Οι 103 από τις 150 γυναίκες συνέχισαν την θεραπεία με NTZ και στο 2<sup>ο</sup>/3<sup>ο</sup> τρίμηνο της κύησης, ενώ οι υπόλοιπες 47 έλαβαν NTZ είτε εντός 3μηνών από την τελευταία έμμηνο ρύση είτε μόνο στη διάρκεια του 1<sup>ου</sup> τριμήνου. Οι δύο κοόρτες δεν διέφεραν σε δημογραφικά στοιχεία (ηλικία σύλληψης, δείκτη μάζας σώματος[BMI] ή διάρκεια νόσου. Περισσότερες αριθμητικά γυναίκες στην ομάδα της NTZ ανέφεραν κάπνισμα (24/150, 16%) ή χρήση αλκοόλ (8/150, 5%) κατά τη διάρκεια της κύησης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (11/81, 14.7% και 1/81, 1% τα αντίστοιχα νούμερα/ποσοστά). Από την άλλη αριθμητικά περισσότερες γυναίκες στην ομάδα ελέγχου εμφάνισαν υποτροπή στη διάρκεια της νόσου (22/81, 27%)σε σύγκριση με την ομάδα της NTZ (17/150, 11%). Οι



δύο κοόρτες δεν διέφεραν στην gestational week at birth (39<sup>η</sup>), αριθμητικά περισσότερες πρόωρες κύσεις αναφέρθηκαν στην ομάδα της NTZ (13/150, 8.7%) έναντι 5/81(6.2.%) στην ομάδα ελέγχου, ενώ τα ποσοστά θηλασμού κυμαίνονταν κοντά στο 70% (69% και 78% αντίστοιχα). Οι τιμές βάρους σώματος, ύψους και περιμέτρου κεφαλής στα βρέφη έως την ηλικία του 1 έτους δεν διέφεραν στις δύο κοόρτες. Αναπτυξιακή καθυστέρηση παρατηρήθηκε σε 6/150 παιδιά (4%)-κινητική στα 5(3.3%) και λόγου στο 1(0.7%)- στην ομάδα της NTZ και σε 2/81(2.5%) στην ομάδα ελέγχου, ποσοστά που κυμαίνονται εντός των αναμενόμενων στο γενικό πληθυσμό-5-6% για κινητική καθυστέρηση και 6-8% για την καθυστέρηση στο λόγο. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν πως τουλάχιστον έως την ηλικία του 1 έτους η έκθεση στην NTZ στην διάρκεια της εγκυμοσύνης δεν επιδρά αρνητικά σε αναπτυξιακές (growth) παραμέτρους και δεν σχετίζεται με αναπτυξιακή (developmental) καθυστέρηση. Επισημαίνουν όμως πως τα παιδιά θα παρακολουθηθούν έως την ηλικία των 5 ετών οπότε και θα εξαχθούν πιο ασφαλή συμπεράσματα.

Οι **Riedl και συν. (Autoimmune Screening Panel in Patients with Multiple Sclerosis – A Vienna MS Database Study EPR-072)** εξέτασαν την συχνότητα δεικτών συστηματικής αυτοανοσίας σε ασθενείς με ΠΣ, μια και είναι κοινός τύπος σε ασθενείς με υποψία ΠΣ να παραγγέλλεται ένα autoimmune screening panel. Μελέτησαν 212 ασθενείς με ΠΣ από το Vienna MS database που διαγνώστηκαν μεταξύ 2014-2021. Δέκα ασθενείς (4.4 %) ανέφεραν συμπτώματα ενδεικτικά συστηματικής αυτοάνοσης νόσου (αρθρίτιδα, δερματίτιδα, ρευματικό πυρετό, sicca syndrome). Θετικά ANA ανευρέθησαν σε 11.4% (24/210), χαμηλό C3 στο 19%(26/134) και C4 στο 2%, αντι-SMA στο 6.6 % (11/166), ενώ άλλα αυτοαντισώματα ανιχνεύθηκαν σε ποσοστά από 0.5-2.5%. Δεν ανευρέθησαν ασθενείς με θετικά **anti-SCL70, anti-SM, anti-u1RNP, anti-Jo1,c-ANCA, p-ANCA**. Τελικώς από τους ασθενείς με κλινικά συμπτώματα και θετικό autoimmune screening panel δύο διαγνώστηκαν με ρευματοειδή αρθρίτιδα και 1 με σύνδρομο **Sjögren, γεγονός** που οδήγησε τους συγγραφείς στα συμπεράσματα πως αφενός η συχνότητα αυτοαντισωμάτων σε ασθενείς με ΠΣ είναι χαμηλή και εντός των ορίων που παρατηρούνται στο γενικό πληθυσμό και αφετέρου η εφαρμογή ενός autoimmune screening panel έχει νόημα όταν υπάρχει και κλινική υποψία.

Καθώς τα 2 τελευταία έτη έχουν επισκιαστεί από την πανδημία COVID-19 έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα της λοίμωξης από COVID-19 σε ασθενείς με ΠΣ. Οι **Bstech και συν (Long-term outcome after COVID-19 infection in multiple sclerosis: a matched controlled study EPR-166)** ανακοίνωσαν τα ευρήματα μιας πανεθνικής Αυστριακής κοόρτης στα πλαίσια της Aut-MuSC-19

registry που περιλαμβάνει >350 ασθενείς από 32 κέντρα που παρακολούθηθηκαν για 12 μήνες. Η ομάδα ελέγχου προερχόταν από την Vienna MS database. Η ανάλυση τελικά συμπεριέλαβε 211 ασθενείς με ΠΣ και COVID-19 που συγκρίθηκαν με 211 ασθενείς με ΠΣ παρόμοιας ηλικίας, φύλου, BMI και κλινικών παραμέτρων [διάρκεια και τύπος νόσου, βαθμός αναπηρίας (EDSS), ανοσοτροποποιητική αγωγή (μέτριας, υψηλής αποτελεσματικότητας, antiCD20)]. Οι δύο ομάδες δεν διέφεραν στο βαθμό λεμφοπενίας (<Grade 3 περίπου 7%) και στην ύπαρξη συν-νοσηροτήτων (παχυσαρκίας, καρδιοαγγειακής νόσου, υπέρτασης, σακχαρώδη διαβήτη, ΧΑΠ, χρόνιας νεφρικής νόσου) ή καπνίσματος. Σχεδόν 90% των ασθενών με ΠΣ είχαν ήπια νόσηση από την COVID-19. Πλήρης αποκατάσταση 12 μήνες μετά παρατηρήθηκε στο 92% με την σοβαρότητα της αρχικής προσβολής να είναι ο μόνος προγνωστικός δείκτης για την ανάρρωση στην πολυπαραμετρική ανάλυση. Υπολειμματική επίμονη κόπωση, υποσμία και δύσπνοια καταγράφηκαν σε στατιστικά μεγαλύτερο ποσοστό τους πρώτους 6 μήνες αλλά στο έτος δεν διαφοροποιούνταν τα ποσοστά από την ομάδα ελέγχου. Οι ασθενείς με ΠΣ που νόσησαν με COVID-19 δεν είχαν αυξημένο κίνδυνο υποτροπής σε σχέση με την ομάδα ελέγχου {(8.6% vs. 7.0%), Odds ratio 1.1 (95% CI:0.67-2.4), p=0.7} ούτε εξέλιξης της αναπηρίας με την κλίμακα EDSS { 5.6% vs. 4.2%, Odds ratio 0.96 (95% CI:0.54-2.1), p=0.6}. **Συμπερασματικά αφενός η λοίμωξη από COVID-19 σε ασθενείς με ΠΣ δεν συνοδεύεται γενικά από τα συμπτώματα του long COVID αλλά αντιθέτως με πλήρη αποκατάσταση στην μεγάλη πλειονότητα των ασθενών κι αφετέρου δεν συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υποτροπών ή προόδου της αναπηρίας.**

Οι **Giovanonni και συν (Does Cognitive Impairment Predict Physical Disability Progression? Evidence from EXPAND, a Phase 3 Long-Term SPMS Study OPR-120)** διερεύνησαν κατά πόσον η γνωσιακή δυσλειτουργία συσχετίζεται προγνωστικά με την εξέλιξη της αναπηρίας. Έγινε χρήση των δεδομένων της EXPAND μιας πολυκεντρικής μελέτης φάσης III με χρήση της σιπονιμόδης ως θεραπευτικής επιλογής στην δευτεροπαθώς προϊούσα ΠΣ (SPMS). Προηγούμενες αναλύσεις έδειξαν πως η σιπονιμόδη ελαττώνει την επιβεβαιωμένη εξέλιξη της αναπηρίας (confirmed disability progression, CDP) στους 3 και 6 μήνες αλλά και την επιδείνωση της ταχύτητας νοητικής επεξεργασίας (cognitive processing speed, CPS) όπως μετράται με το Symbol Digit Modalities Test (SDMT) και μάλιστα για χρονικό διάστημα ως 5 έτη. Η τρέχουσα posthoc ανάλυση χρησιμοποιήσε δεδομένα τόσο από την κύρια φάση της EXPAND (corestudy) όσο και από την επέκτασή της (extension). Οι σκοποί της τρέχουσας ανάλυσης ήταν εάν η CPS όπως εκτιμάται με το SDMT, μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό δείκτη για την επιδείνωση της αναπηρίας





και συγκεκριμένα για την καθήλωση σε αναπηρικό αμαξίδιο (EDSS  $\geq 7$ ) και για την επιβεβαιωμένη εξέλιξη της νόσου στους 6 μήνες (6mCDP, 6-month confirmed disease progression). Οι ασθενείς της μελέτης κατηγοριοποιήθηκαν αναλόγως της επίδοσής τους στο baseline SDMT και στις μεταβολές των τιμών του στη διάρκεια της μελέτης (μήνες 0-24) σε 4 υποομάδες: χειρότερο τεταρτημόριο (worst quartile [WQ]), ενδιάμεσο τεταρτημόριο (intermediate quartile [Q2-Q3]), και το καλύτερο τεταρτημόριο (best quartile [BQ]). Οι ασθενείς που ανήκαν στο worst quartile [WQ] βάσει της επίδοσής τους στο SDMT στο τέλος και της μελέτης επέκτασης (δηλαδή μέχρι 5 έτη από το baseline) είχαν διπλάσιο κίνδυνο να εξαρτώνται από αναπηρικό αμαξίδιο (να επιδεινωθεί η αναπηρία σε EDSS  $\geq 7$ ) σε σύγκριση με αυτούς που ανήκαν στο best quartile [BQ] (HR: 1.81(1.17;2.78),  $p=0.007$ ). Η προγνωστική αξία του baseline SDMT ήταν μεγαλύτερη όσο πιο παρατεταμένη ήταν η παρακολούθηση (follow-up). Τόσο το baseline SDMT όσο και οι μεταβολές των τιμών του στη διάρκεια της μελέτης (on-study SDMT change) μπορούσαν να προβλέψουν την εμμένουσα επιδείνωση σε EDSS  $\geq 7$  (που συνεπάγεται καθήλωση σε αναπηρικό αμαξίδιο) αλλά όχι την 6μηνη επιβεβαιωμένη εξέλιξη της νόσου (6mCDP). Συνεπώς, σε συμφωνία με προηγούμενες μικρές μελέτες, υποστηρίζεται η χρησιμότητα της ταχύτητας νοητικής επεξεργασίας (CPS) ως ενός έμμεσου δείκτη της αποτελεσματικότητας του δικτύου (network efficiency) και του λειτουργικού εγκεφαλικού υπολοίπου (functional brain reserve). Επίσης επιβεβαιώνεται η χρησιμότητα της καταγραφής της ταχύτητας νοητικής επεξεργασίας (CPS) όπως μετράται με το SDMT στην καθημερινή ιατρική πρακτική, που θα μπορούσε να βοηθήσει στην αναγνώριση ασθενών που βρίσκονται σε κίνδυνο «σιωπηλής» εξέλιξης της νόσου. Τέλος βοηθά στο να τροποποιηθεί η ιδέα πως η ΠΣ δεν είναι μόνο μια ασθένεια που επιφέρει σωματική αναπηρία αλλά επηρεάζει προδήλως και την γνωσιακή λειτουργία, η δυσλειτουργία της οποίας θα πρέπει και να εξετάζεται (με τις ανάλογες δοκιμασίες) και να αντιμετωπίζεται όταν παραβλέπεται.

Οι **Ionel και συν. (Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) antibody-associated disease, induced by pembrolizumab, both or neither? EPO-648)** περιέγραψαν μια περίπτωση πολλαπλασιαστικής απομυελίνωσης του ΚΝΣ μετά χορήγηση του pembrolizumab σε μία 50χρονη γυναίκα με καρκίνο πνεύμονα. Η ασθενής εμφάνισε ΔΕ ομώνυμη ημιανοψία 5 μήνες μετά την χορήγηση του immune checkpoint inhibitor. Παράλληλα εμφάνισε θετικά anti-MOG (1/40). Διεκόπη το pembrolizumab, η ασθενής έλαβε μεγάλη δόση στεροειδών με εντυπωσιακή κλινική και απεικονιστική ύφεση. Παραταύτα η επιμονή των θετικών anti-MOG στον ίδιο χαμηλό τίτλο εγείρει τον προβληματισμό στους συγγραφείς, εάν το pembrolizumab

αποτελέσει τον εκλυτικό παράγοντα (trigger) για την εκδήλωση της MOG Associated Disease- μορφόντι η τοπογραφική εντόπιση και εξέλιξη των αλλοιώσεων δεν συνάδει με το σύνθετο πρότυπο της νόσου- ή η ανεύρεση των θετικών anti-MOG είναι επιφανόμενο που έχει παρατηρηθεί και σε άλλες απομυελινωτικές /αυτοάνοσες καταστάσεις.

Όσον αφορά το φλέγον θέμα της αυτοανοσίας που προκύπτει μετά την ανοσοθεραπεία του καρκίνου με αναστολείς των σημείων ανοσολογικού ελέγχου (ICI), η ομάδα του **Mariotto (Neuronal intermediate filament autoimmunity as an unusual complication of immune checkpoint inhibitors, EPO-191)** από το Πανεπιστήμιο της Βερόνας ανέφερε ότι η παρανεοπλασματική αυτοανοσία των νευρωνικών ενδιάμεσων ινιδίων (NIF) περιέπλεξε τη θεραπεία του καρκινώματος των κυττάρων Merkel με το μονοκλωνικό αντίσωμα avelumab. Σε αυτόν τον πληθυσμό, η αυτοανοσία NIF-IgG έχει περιγραφεί μόνο σε 5 ασθενείς που παρουσίασαν εγκεφαλοπάθεια, αταξία ή εγκεφαλομυελίτιδα. Ο πρόσθετος ασθενής που περιγράφηκε παρουσίασε ναυτία, διαταραχή της ισορροπίας και διπλωπία μετά τη θεραπεία με avelumab και αντιμετωπίστηκε με υψηλή δόση ενδοφλέβιων στεροειδών και ενδοφλέβιες ανοσοσφαιρίνες. Οι συγγραφείς καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η αβηλουμάπη αποτελεί δυνητικό εκλυτικό παράγοντα για αυτό το σπάνιο αυτοαντίσωμα και ότι ο έλεγχος αυτοανοσίας είναι επωφελής σε ασθενείς που εμφανίζουν νευρολογικά συμπτώματα μετά από θεραπεία με αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος. Σε μια σχετική μελέτη από την ομάδα του **Honnorat** στη Λυών (**Hu antibodies autoimmunity and immune checkpoint inhibitors, EPO-686**) συλλέχθηκαν δεδομένα από όλους τους ασθενείς με νευρολογικές ανεπιθύμητες ενέργειες σχετιζόμενες με το ανοσοποιητικό σύστημα μετά από θεραπεία με ICI και αντισώματα anti-Hu τα οποία ελήφθησαν από το γαλλικό μητρώο PNS. Ανέφεραν ότι η ανίχνευση anti-Hu μετά την έγκριση της θεραπείας με ICI για τον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα ήταν αυξημένη, προσδιορίζοντας μια υποομάδα ασθενών με διακριτά κλινικά χαρακτηριστικά και χειρότερη πρόγνωση σε σύγκριση με τους κλασικούς ασθενείς με PNS anti-Hu. Σε μια άλλη μελέτη από την ίδια ομάδα (**Autoimmune neurological syndromes associated with melanoma EPO-693**) καταγράφηκαν τα ανοσοδιαμεσοσλαβούμενα νευρολογικά σύνδρομα που σχετίζονται με το μελάνωμα, ανεξάρτητα από τη θεραπεία με ICI. Η αναδρομική κοορτή περιελάμβανε 235 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με ICI και 197 ασθενείς χωρίς ICI. Διαπιστώθηκε οι ασθενείς με μελάνωμα που δεν έλαβαν ICI εμφανίζουν κυρίως μυοσίτιδα ενώ η ομάδα που έλαβε θεραπεία με ICI κυρίως περιφερική νευροπάθεια. Αμφιβληστροειδοπάθεια, με παρουσία αντισωμάτων κατά του



αμφιβληστροειδούς, παρατηρήθηκε αποκλειστικά σε ασθενείς χωρίς την συγκεκριμένη θεραπεία. Δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση, σε καμία από τις δύο ομάδες με κάποιο συγκεκριμένο παρανεοπλασματικό αυτοαντίσωμα. **Η ίδια ομάδα (Immune-related neurological disorders in patients with renal and bladder cancer, EPR-269)** ανέφερε επίσης ανοσοδιαμεσολαβούμενες νευρολογικές διαταραχές σε ασθενείς με καρκίνο του νεφρού και της ουροδόχου κύστης. Πρόκειται για καρκίνους που σπάνια συνδέονται με σύνδρομο PNS. Και πάλι συγκρίθηκαν ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με ICI και ασθενείς χωρίς ICI. Οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία μόνο σπάνια πληρούν τα κριτήρια για πιθανό ή πιθανό PNS, ενώ στους ασθενείς χωρίς ICI ο παρανεοπλασματικός χαρακτήρας των νευρολογικών συμπτωμάτων φαίνεται να εδραιώνεται μόνο σε ασθενείς με νευροενδοκρινή καρκίνο της ουροδόχου κύστης.

**Η ομάδα του Khalil** από το Γκράτς, (**Serum neurofilament light levels in relation to the Brain-Age Paradigm in normal ageing, EPO-193**) μέτρησε τα επίπεδα των ελαφρών αλυσών των νευροϊνιδίων (neurofilament light, NfL) στον ορό σε 328 νευρολογικά φυσιολογικά άτομα, τα οποία αποτελούσαν μέρος μιας προοπτικής μελέτης στην κοινότητα σχετικά με την υγεία του εγκεφάλου και τη γήρανση. Το sNfL είναι ένας βιοδείκτης που αυξάνεται μετά από νευροαξονική βλάβη και ο στόχος ήταν να συσχετιστούν τα επίπεδα αυτά με έναν απεικονιστικό δείκτη (Brain-PAD) που προβλέπει την υγεία του εγκεφάλου σε χρόνιες νευρολογικές παθήσεις, συμπεριλαμβανομένης της πολλαπλής σκλήρυνσης, αλλά και αντανάκλα τον νευροεκφυλισμό που σχετίζεται με την ηλικία. Τα επίπεδα της sNfL συσχετίστηκαν με τη χρονολογική και την προβλεπόμενη ηλικία του εγκεφάλου, αλλά δεν βρέθηκε συσχέτιση με τις τιμές του Brain-PAD. Σε μια σχετική μελέτη, η **ομάδα του Bittner** από το Mainz, (**Serum NfL predicts NEDA-status in a 6-year longitudinal cohort of MS patients, EPR-094**) διαπίστωσε ότι η sNfL θα μπορούσε να προβλέψει την κατάσταση NEDA (No Evidence of Disease Activity) σε μια δετή προοπτική κοορτή ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση (ΠΣ). Ο βιοδείκτης μπορούσε να εντοπίσει ασθενείς με ΠΣ με σοβαρή εστιακή αξονική βλάβη μετά από 6 χρόνια. **Η ομάδα του Dalmau** από τη Βαρκελώνη (**Neurofilament light chain levels in anti-NMDAR encephalitis and primary psychiatric psychosis, EPR-098**) μέτρησε επίσης τα επίπεδα της NfL σε εγκεφαλίτιδα με αντί-NMDAR αντισώματα. Διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα NfL στο ENY ήταν πιο πιθανό να είναι αυξημένα σε ασθενείς με NMDAR εγκεφαλίτιδα με προδρομικά συμπτώματα, επιληπτικές κρίσεις ή status, εισαγωγή στη ΜΕΘ και πλειοκυττάρωση του ENY. Από την άλλη πλευρά, τα επίπεδα NfL στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς που χρειάστηκαν εισαγωγή στη ΜΕΘ αλλά δεν έλα-

βαν ανοσοθεραπεία κατά τις πρώτες 4 εβδομάδες της νόσου. Τόσο τα επίπεδα στον ορό όσο και στο ENY δεν συσχετίστηκαν με την έκβαση κατά την παρακολούθηση 1 έτους. **Η ομάδα του Businaro** από την Pavia (**Progressive post-infectious neurological syndromes: clinical profile and neurofilament light chain quantification, EPR-186**) μέτρησε επίσης το sNfL σε προοδευτικά μεταλοιμώδη νευρολογικά σύνδρομα (PINS). Το PINS είναι μια άτυπη απομυελινοτική διαταραχή με προοδευτική πορεία που αφορά τον πρώτο και δεύτερο κινητικό νευρώνα και τη βοηθική περιοχή. Αυτές οι μικρές σειρές ασθενών είχαν υψηλότερα επίπεδα sNfL σε σύγκριση με τους μάρτυρες, γεγονός που υποδηλώνει χρόνια νευρωνική βλάβη. Αυτό υποστηρίζεται και από την κλινική παρατήρηση ότι η συσσώρευση αναπηρίας δεν δικαιολογείται από σημεία ενεργού φλεγμονής.

Μια άλλη μελέτη, **από την ομάδα του Aguzzi** στη Ζυρίχη (**No association between naturally occurring plasma tau autoantibodies and risk of neurological disease, EPO-194**) διερεύνησε κατά πόσον τα φυσικά αντισώματα anti-tau σχετίζονται με τον κίνδυνο νευρολογικής νόσου. Τα αντισώματα αυτά έχουν ανιχνευθεί στο πλάσμα ασθενών με νόσο Αλτσχάιμερ και Πάρκινσον με ασαφή ρόλο. Στη μελέτη εξετάστηκαν 24399 δείγματα πλάσματος από μια κοορτή πανεπιστημιακού νοσοκομείου. Οι συγγραφείς δεν βρήκαν καμία συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας αντισωμάτων και νευρολογικών διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης της άνοιας, του εγκεφαλικού επεισοδίου, της επιληψίας, της ημικρανίας, της πολλαπλής σκλήρυνσης και της τραυματικής εγκεφαλικής βλάβης.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά και η ανταπόκριση στη θεραπεία ασθενών με αυτοάνοσο νεοεμφανιζόμενο ανθεκτικό επιληπτικό νόσημα (A-NORSE) μελετήθηκαν **από τους Vogrig et al**, από το Udine (**Auto-immune new-onset refractory status epilepticus (A-NORSE): electroclinical features and response to treatment, EPR-092**). Το NORSE είναι μια κλινική διάγνωση σε ασθενείς χωρίς διάγνωση επιληψίας όπου αποκλείονται ενεργά δομικά, τοξικά και μεταβολικά αίτια. Περιλαμβάνει ασθενείς με ιογενείς λοιμώξεις και αυτοάνοσα σύνδρομα, ακόμη και αν αυτά διαγνωστούν τις πρώτες 72 ώρες. Σε 12/878 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης, υπήρχε υποψία καθαρής αυτοάνοσης αιτιολογίας με βάση τα ευρήματα της μαγνητικής τομογραφίας, τα στοιχεία φλεγμονής στο ENY, την ανίχνευση αντι-νευρωνικών αντισωμάτων και την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία. Δεν έχει προσδιοριστεί ακόμη ένα συγκεκριμένο αυτοαντίσωμα A-NORSE. Σε μια σχετική μετα-ανάλυση από την ομάδα του **Serrano-Castro στη Μάλαγα**, (**Functional outcome in NORSE and FIRES patients treated with immunotherapy: a systematic review, EPO-050**) διαπιστώθηκε (16 μελέτες, 161 ασθενείς







με NORSE) ότι παρά την έλλειψη τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών, η ανοσοθεραπεία χορηγείται συχνά. Ωστόσο, τα ποσοστά λειτουργικής εξάρτησης και θνησιμότητας παραμένουν υψηλά σε αυτούς τους ασθενείς.

Σε μια μελέτη από την **ομάδα του Τζάρτου** στην Αθήνα (**A novel cell-based assay detects antibodies against alpha3-nAChR exclusively in autoimmune autonomic ganglionopathy, EPR-096**) δείχθηκε ότι αντισώματα έναντι των α3-περιεχόντων γαγγλιακών υποδοχέων ακετυλοχολίνης βρέθηκαν στους ορούς ασθενών με αυτοάνοση αυτόνομη γαγγλιοπάθεια (AAG). Η AAG είναι μια σπάνια αυτοάνοση δυσавтоνομία. Χρησιμοποιώντας μια λιγότερο ειδική μέθοδο RIA, 25 ασθενείς βρέθηκαν θετικοί, συμπεριλαμβανομένων ασθενών με ποικίλες διαγνώσεις. Σε αντίθεση, μια νέα μέθοδος cell-based assay (CBA), αποδείχθηκε εξαιρετικά ευαίσθητη για τον εντοπισμό μόνο ασθενών με AAG. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι αυτά τα αντισώματα είναι δυνητικά παθογόνα προκαλώντας αποτυχία της μετάδοσης σήματος μέσω των μεταγαγγλιακών αυτόνομων νευρικών ινών. Η **ομάδα του Dalmau** (**Encephalitis with Autoantibodies against the Glutamate Kainate Receptor (GluK2), EPR-268**) ανέφερε επίσης μια σειρά περιπτώσεων εγκεφαλίτιδας με αυτοαντισώματα έναντι των καινικών υποδοχέων του γλουταμινικού (GluK2). Η διεγερτική συναπτική μετάδοση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) διαμεσολαβείται σε μεγάλο βαθμό από 3 τύπους ιονότροπων υποδοχέων γλουταμινικού, τους NMDA, AMPA και καινικού. Η εγκεφαλίτιδα με αντισώματα έναντι των NMDAR και AMPAR είναι γνωστή και η παρούσα μελέτη έδειξε ότι όλοι οι υποδοχείς γλουταμινικού του ΚΝΣ μπορούν να αποτελέσουν στόχο της αυτοανοσίας. Αυτά τα νέα αντισώματα συσχετίζονται με εμφανή κλινική-παρεγκεφαλιδική συμμετοχή ή παρεγκεφαλίτιδα και παρόμοια με τα αντισώματα κατά NMDAR είναι ικανά να εσωτερικεύουν τους υποδοχείς GluK2 και να προκαλούν σημαντική μείωση των ρευμάτων που διαμεσολαβούνται από GluK2.

Η **ομάδα του Iorio** (**Real-world application of the updated diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes, EPR-099**) από τη Ρώμη δοκίμασε την εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη των νέων επικαιροποιημένων διαγνωστικών κριτηρίων για τα παρανεοπλασματικά νευρολογικά σύνδρομα. Ανέφεραν ότι η βαθμολογία PNS-Care είναι εξαιρετικά ευαίσθητη, επιτρέπει την αναγνώριση ενός ευρύτερου φάσματος συνδρόμων ως παρανεοπλασματικών και είναι επίσης εξαιρετικά ειδική. Ανέφεραν επίσης ότι τα νέα κριτήρια είναι εύκολα εφαρμόσιμα και χρήσιμα για την καθοδήγηση του ογκολογικού ελέγχου.

Η **ομάδα των Sommer** και Doppler από το Wurzburg (**Pathophysiological effects of autoantibodies**

**against the paranodal protein neurofascin155 in vivo, EPR-183**) εξέτασε τις παθοφυσιολογικές επιδράσεις των αυτοαντισωμάτων έναντι της παρανοδικής πρωτεΐνης νευροφασίνης 155. Τα αντισώματα αυτά, μαζί με αντισώματα κατά της contactin-1 και της CASPR-1, ανευρίσκονται σε < 10% των ασθενών με ανοσοδιαμεσολαβούμενες περιφερικές νευροπάθειες και ανήκουν στην υποκατηγορία IgG4 που σημαίνει ότι πιθανώς δεν είναι σε θέση να κινητοποιήσουν το συμπλήρωμα. Οι συγγραφείς εξέτασαν την επίδραση των αντισωμάτων κατά του NF155 σε ένα μοντέλο ενδοκοιλιακής παθητικής μεταφοράς σε αρουραίους. Διαπίστωσαν ότι η χρόνια παθητική μεταφορά προκάλεσε αισθητικοκινητικά ελλείμματα, ότι τα αντισώματα δεσμεύτηκαν στις οσφυϊκές νευρικές ρίζες αλλήλα και ότι το NF155 στις παρανόδους δεν διαχύθηκε. Σε ένα πείραμα ελέγχου όπου εγχύθηκε ένα αντίσωμα IgG3 κατά του pan-NF, δεν παρατηρήθηκε καμία αισθητικοκινητική διαταραχή, γεγονός που υποδηλώνει τη σημασία της υποκατηγορίας αλλήλα και του τίτλου του αντισώματος.

Η **ομάδα της Evoli** από τη Ρώμη (**B cell related predictive biomarkers of treatment response in myasthenia gravis, EPR-188**) μελέτησε υποψήφιους βιοδείκτες που σχετίζονται με τα Β-κύτταρα και αφορούν την ανταπόκριση στη θεραπεία στην αντι-AChR οροθετική μυασθένεια. Πιο συγκεκριμένα, στόχος τους ήταν να εντοπίσουν αλληγές σε υποσύνολλα Β-κυττάρων που θα μπορούσαν να συσχετιστούν με την ανταπόκριση στη θεραπεία. Διαπίστωσαν ότι η συχνότητα των μεταβατικών Β-κυττάρων (transitional B-cells) είναι υψηλότερη σε ασθενείς ανθεκτικούς στη συμβατική θεραπεία και με σοβαρή MG. Τα μεταβατικά Β-κύτταρα είναι προ-βλαστικά κύτταρα (όπως τα αφελή Β-κύτταρα) και εκφράζουν εκτός από τους υποδοχείς IgD και IgM των Β-κυττάρων CD19, CD20, CD24 και CD38. Ο αυξημένος αριθμός των κυττάρων παρουσίασε επίσης ένα προφλεγμονώδες προφίλ ευνοώντας, σύμφωνα με τους συγγραφείς, την υπόθεση ενός προ-βλαστικού ελαττώματος ανοσοολογικής ανοχής στη μυασθένεια. Προτάθηκε επίσης ότι τα επίπεδα των μεταβατικών Β-κυττάρων θα μπορούσαν να προβλέψουν την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία.

Οι **Spiezia A.L. και συν. (EPO-150)** στην ανακοίνωση με τίτλο **Changes in lymphocytes, neutrophils and immunoglobulins in year-1 cladribine treatment in multiple sclerosis** μελέτησαν τις αλλαγές σε λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και ανοσοσφαιρίνες σε ασθενείς με ΔΥΠΣ, κατά τους πρώτους 12 μήνες θεραπείας με κλαδριβίνη. Κατά τη διάρκεια θεραπείας με κλαδριβίνη υπάρχει έντονη και μακροχρόνια μείωση CD19 Β-κυττάρων και μέτρια εξάντληση Τ-κυττάρων. Εντούτοις, τα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης (Ig) δεν έχουν διερευνηθεί. Πρόκειται για μια αναδρομική μελέτη παρατήρησης σε δεδομένα που συλλέχθηκαν



από το 2018 έως το 2021. Συμπεριλήφθηκαν κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα κατά την έναρξη και μετά τους 2, 6 και 12 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας με κλαδριβίνη. Διαπιστώθηκε μείωση στον αριθμό των ολικών λεμφοκυττάρων στους 2, 6 και 12 μήνες. Τα ουδετερόφιλα ήταν χαμηλότερα στους 2 και 6 μήνες, αλλά όχι μετά από 12 μήνες. Δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα IgG, IgM και IgA σε διάστημα 12 μηνών. Ο αριθμός των CD19 (+) B-κυττάρων, των CD8 T-κυττάρων και των CD4 T-κυττάρων ήταν χαμηλότερος μετά από 2 και 6 μήνες, αλλά όχι μετά από 12 μήνες. Συμπερασματικά παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στο συνολικό αριθμό λεμφοκυττάρων στους 2 μήνες μετά τη θεραπεία με κλαδριβίνη και μέχρι το τέλος του 1ου έτους. Μετά από 12 μήνες, παρατηρήθηκε πλήρης ανασύσταση των CD19 B-λεμφοκυττάρων. Δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στα επίπεδα IgG, IgM και IgA σε διάστημα 12 μηνών.

Οι **Virgilio E. και συν. (EPO-137)** στην ανακοίνωση με τίτλο **Could Kappa Free Light Chains Represent a Marker of Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis Patients?** διερεύνησαν την πιθανή συσχέτιση μεταξύ δεικτών ενεργοποίησης των B-κυττάρων και της γνωσιακής έκπτωσης σε ασθενείς με ΔΥΠΣ, κατά τη διάγνωση. Η γνωσιακή έκπτωση αξιολογήθηκε σε 50 νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ΔΥΠΣ χρησιμοποιώντας την κλίμακα Brief International Cognitive for MS (BICAMS). LFLCs και KFLCs στο ENY και K-Index προσδιορίστηκαν με νεφελομετρία. Η παρουσία OCBs μελετήθηκε με ισοηλεκτρικό εστιασμό και ανοσοστύπωμα. Το 26% των ασθενών εμφάνισαν γνωσιακή έκπτωση. Το 92% των ασθενών είχαν OCBs, μέση ENY KFLC  $0,619 \pm 0,085$  g/dl και K-Index  $96,82 \pm 96,84$ . Ασθενείς με διαταραχή στη λεκτική μνήμη και γνωσιακή έκπτωση είχαν υψηλά επίπεδα KFLC ENY (αντίστοιχα  $p:0,0002$  και  $p<0,0001$ ) και K-Index (αντίστοιχα  $p:0,02$  και  $p:0,002$ ). Η γνωσιακή έκπτωση συσχετίστηκε με τη συγκέντρωση KFLCs στο ENY ( $r:-0,39$   $p:0,004$ ) και με το K-Index ( $r:-0,28$   $p:0,04$ ). Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές ή συσχετίσεις για τη συγκέντρωση LFLCs στο ENY. Οι ασθενείς με ή χωρίς OCBs παρουσίασαν παρόμοιες γνωστικές επιδόσεις ( $p>0,05$ ). Συμπερασματικά, προκαταρκτικά αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι τα επίπεδα KFLC στο ENY και το K-Index ενδέχεται να έχουν ρόλο στην ταυτοποίηση ασθενών με ΔΥΠΣ με γνωσιακή έκπτωση.

Οι **Giordano A. και συν. (EPR-053)** στην ανακοίνωση με τίτλο **Genetic variants in iron metabolism may contribute to the development and severity of progressive multiple sclerosis** διερεύνησαν την ενδεχόμενη συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών σε σχέση με το μεταβολισμό του σιδήρου στην προοδευτική ΠΣ. Με έναρξη τα δεδομένα του συνολικού του γονιδιώματος εντοπίστηκαν 66.760 πολυμορφισμοί

μεμονωμένων νουκλεοτιδίων (SNPs) σε 319 γονίδια τα οποία είτε είναι γνωστό ότι είναι σχετιζόμενα με την ομοίωση του σιδήρου, είτε υποδεικνύεται ότι έχουν επίδραση στην έκφραση αυτών των γονιδίων [Quantitative-Trait-Loci (QTL)] σε δημόσια αποθετήρια. Κατόπιν διερευνήθηκε πιθανή συσχέτιση μεταξύ των SNPs και της πορεία νόσου σε 946 ασθενείς, συγκριτικά με 250 ασθενείς με ΔΥΠΣ (διάρκεια νόσου  $\geq 20$  έτη, EDSS $\leq 3,5$ ) έναντι ασθενών με πρωτοπαθή ( $n=409$ ) ή δευτεροπαθή ( $n=287$ ) ΠΣ. Το σήμα της κορυφαίας κατάταξης αντιστοιχίστηκε στο χρωμόσωμα 14 στο γονίδιο Hypoxia-Inducible-Factor-1-alfa (HIF1A), με το κορυφαίο SNP (rs11621525\_A) να είναι προστατευτικό έναντι της προοδευτικής νόσου ( $p=5,62e-07$ ; OR=0,53). Ο πολυμορφισμός 11621525 Rs είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι διαμορφώνει την έκφραση του HIF1A, μέσω QTL επίδρασης τόσο στην έκφραση όσο και στην μεθυλίωση. Είναι ενδιαφέρον ότι το σήμα της δεύτερης κατάταξης αντιστοιχίστηκε στο χρωμόσωμα 8 στο γονίδιο MYC (πρωτ. SNP=rs3891248\_A;  $p=1.18e-05$ ; OR=0.50), ένα κεντρικό ρυθμιστή του κυτταρικού κύκλου και του ανοσοποιητικού συστήματος, η δραστηριότητα του οποίου διαμορφώνεται από την αλληλεπίδραση με το HIF1A. Ως δευτερογενής ανάλυση, ο πολυμορφισμός rs3891248\_AA συσχετίστηκε με μειωμένη βαρύτητα της νόσου στους ασθενείς με προοδευτική ΠΣ ( $n=649$ ), αξιολογούμενη με την κλίμακα Age-Related Multiple Sclerosis Severity score (beta=-2,16,  $p=0,031$ ). Συμπερασματικά, αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι γενετικοί πολυμορφισμοί σε γονίδια σχετιζόμενα με το μεταβολισμό του σιδήρου ενδέχεται να συμβάλλουν στην παθογένεση της προοδευτικής ΠΣ και να έχουν επιπτώσεις στη σοβαρότητα της νόσου.

Οι **Altmann P. και συν. (EPO-125)** στην ανακοίνωση με τίτλο **TELE MS: A randomized controlled trial investigating satisfaction with remote visits for people with multiple sclerosis** πραγματοποίησαν μια τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη ανοιχτή δοκιμή για τη Διερεύνηση της ικανοποίησης από απομακρυσμένες επισκέψεις για άτομα με ΠΣ (ΑμΠΣ). Συμμετείχαν 45 ΑμΠΣ που τυχαίοποιήθηκαν σε μία από τρεις ομάδες (1:1:1) ανάλογα με τον τρόπο της επόμενης προγραμματισμένης επίσκεψής τους: (i) τακτική επίσκεψη εξωτερικού ιατρείου ή (ii) τηλεφωνική επίσκεψη ή (iii) επίσκεψη μέσω συνομιλίας μέσω βίντεο. Η ικανοποίηση των ασθενών εκτιμήθηκε από το ερωτηματολόγιο αντίληψης τηλεϊατρικής (TMPQ) (TeleMedicine Perception Questionnaire, ελάχ.: 17 και μέγ.: 85 βαθμοί) ως κύριο καταληκτικό σημείο με την υπόθεση της μη κατωτερότητας των απομακρυσμένων επισκέψεων σε σύγκριση με τις συμβατικές επισκέψεις. Η ικανοποίηση του ιατρού αξιολογήθηκε με την κλίμακα PPSM (Patient and Physician Satisfaction with Monitoring, ελάχ.: 5 και μέγιστο: 25 βαθμοί)





ως δευτερεύον τελικό σημείο. Η μέση βαθμολογία TMPQ στις ατομικές ομάδες ήταν 58 (SD 6,7) βαθμοί για συμβατικές επισκέψεις, 65 (SD 7.5) βαθμοί για τηλεφωνικές επισκέψεις και 62 (SD 5.5) βαθμοί για επισκέψεις με οπτικοακουστικά μέσα. Η ικανοποίηση του ιατρού σε ολόκληρη την κοόρτη ήταν εξίσου υψηλή. Αναφορικά με την κλίμακα PPSM οι βαθμολογίες ήταν 23 (εύρος: 16-25) για όλη την κοόρτη, 19 (εύρος: 16-25) για συμβατικές επισκέψεις, 25 (εύρος: 17-25) για τηλεφωνικές επισκέψεις και 25 (16-25) για επισκέψεις με οπτικοακουστικά μέσα. Συμπερασματικά, οι τηλεοπτικές επισκέψεις δύνανται να αποφέρουν υψηλό επίπεδο ικανοποίησης για τους ασθενείς και για τους θεράποντες ιατρούς.

Οι **Díaz P.P. και συν. (EPO-135)** στη μελέτη με τίτλο **The impact of high-efficacy disease-modifying therapies in cognitive impairment in Multiple Sclerosis patients** μελέτησαν την επίδραση νοσο-τροποποιητικών αγωγών υψηλής αποτελεσματικότητας (high-efficacy disease-modifying therapies / heDMTs) στη διαταραχή της ταχύτητας αντίληψης της πληροφορίας (Information processing speed / IPS) σε ασθενείς με ΠΣ. Σε αυτή την μονοκεντρική προοπτική μελέτη η μέτρηση IPS πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία Processing Speed Test (PST) CogEval® σε ασθενείς με ΠΣ από τον Οκτώβριο του 2019 έως τον Ιανουάριο του 2022. Ως heDMTs θεραπεία ορίστηκαν το natalizumab, alemtuzumab και ocrelizumab

ή rituximab. Η ακατέργαστη βαθμολογία (RS) και τα Z-scores προσαρμόστηκαν με βάση την ηλικία, το φύλο και το επίπεδο εκπαίδευσης. Ως γνωστική έκπτωση ορίστηκε η βαθμολογία στο baseline κάτω από (ή συμπεριλαμβανομένης) της βαθμολογίας -2Z και/ή  $\geq 10\%$  επιδείνωση RS μετά από ένα έτος. Χρησιμοποιήθηκαν πολυμεταβλητά μοντέλα παλινδρόμησης. Συμμετείχαν 847 ασθενείς, 419 (68,1%) γυναίκες, με μέση ηλικία ( $\pm$ SD) τα 45 ( $\pm$ 11,4) έτη. Ασθενείς με υποτροπιάζουσα ΠΣ (79,1%) είχαν υψηλότερες τιμές Z-scores στο baseline και χαμηλότερου βαθμού ακτινολογική ενεργότητα και μέση βαθμολογία EDSS, συγκριτικά με ασθενείς με προοδευτική ΠΣ (20,9%). Για κάθε χρόνο καθυστέρησης έναρξης αγωγής heDMT, παρατηρήθηκε μείωση κατά -0,01 μονάδες στη βαθμολογία Z-scores κατά το baseline ( $\beta = -0,01$  [CI95% -0,02 έως -0,004],  $p = 0,01$ ), με ασθενή συσχέτιση ( $r = -0,21$ ). Σε ασθενείς με τουλάχιστον ένα έτος παρακολούθησης ( $n = 158$ ) το πολυμεταβλητό μοντέλο έδειξε ότι μόνο η εξέλιξη στην κλίμακα EDSS κατά τη διάρκεια αυτού του έτους προέβλεπε υψηλότερο κίνδυνο  $\geq 10\%$  επιδείνωσης στις βαθμολογίες RS (OR=5,84 [CI95% 2,09-16,84],  $p = 0,001$ ). Συμπερασματικά, αποτελέσματα από την παρούσα μελέτη υποδεικνύουν ότι έγκαιρη χορήγηση των heDMTs θα μπορούσε δυνητικά να αποτρέψει την έκπτωση της IPS στην ΠΣ, αν και αυτό το αποτέλεσμα ενδέχεται να απαιτεί παρατεταμένο χρονικό διάστημα.

