



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών

# Η φυσιολογία του αμυλοειδούς και η επαγωγή της μυοκαρδιακής ιστικής βλάβης

Νικολάου Παναγιώτα Ευσταθία  
BPharm, Msc in Pharmacology

*Εργαστήριο Φαρμακολογίας του τμήματος Φαρμακευτικής,  
Σχολή Θετικών Επιστημών του ΕΚΠΑ*

**Σύγκρουση συμφερόντων: Ουδεμία**  
**Conflicts of interests: None**

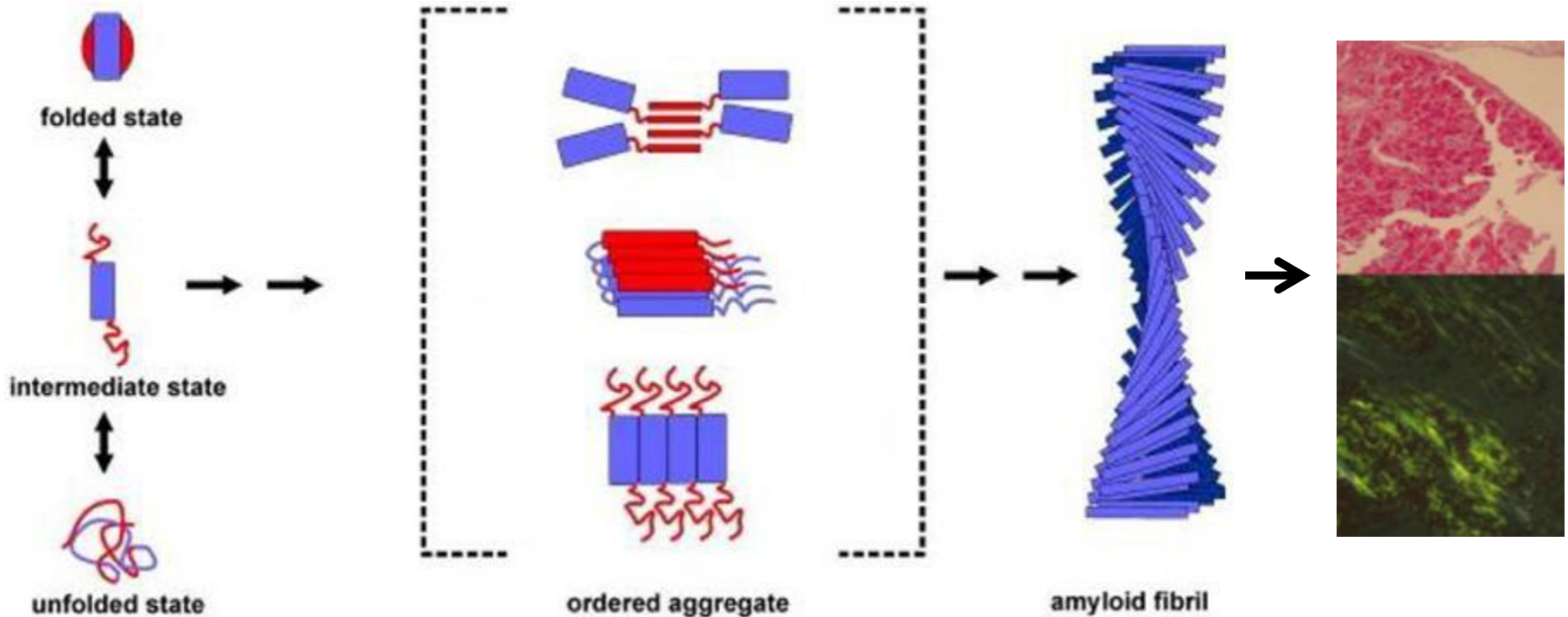
# Θεματολογία

1. Τι είναι η αμυλοείδωση σε μοριακό επίπεδο;
2. Παράγοντες που καθιστούν μία πρωτεΐνη αμυλοειδογενή
3. Σύστημα ελέγχου των πρωτεϊνών
4. Μηχανισμοί επαγωγής ιστικής βλάβης : Το παράδειγμα της καρδιοτοξικότητας από την αμυλοείδωση ελαφριάς αλύσου

**1. Τι είναι η αμυλοείδωση σε μοριακό επίπεδο;**

# Αμυλοείδωση είναι μία διαταραχή της «αναδίπλωσης» των πρωτεϊνών

Αμυλοείδωση είναι κάθε παθοφυσιολογική κατάσταση στην οποία η λανθασμένη αναδίπλωση πρωτεϊνών οδηγεί στην παραγωγή ινιδίων που εναποτίθενται στην εξωκυττάρια περιοχή ποικίλων ιστών

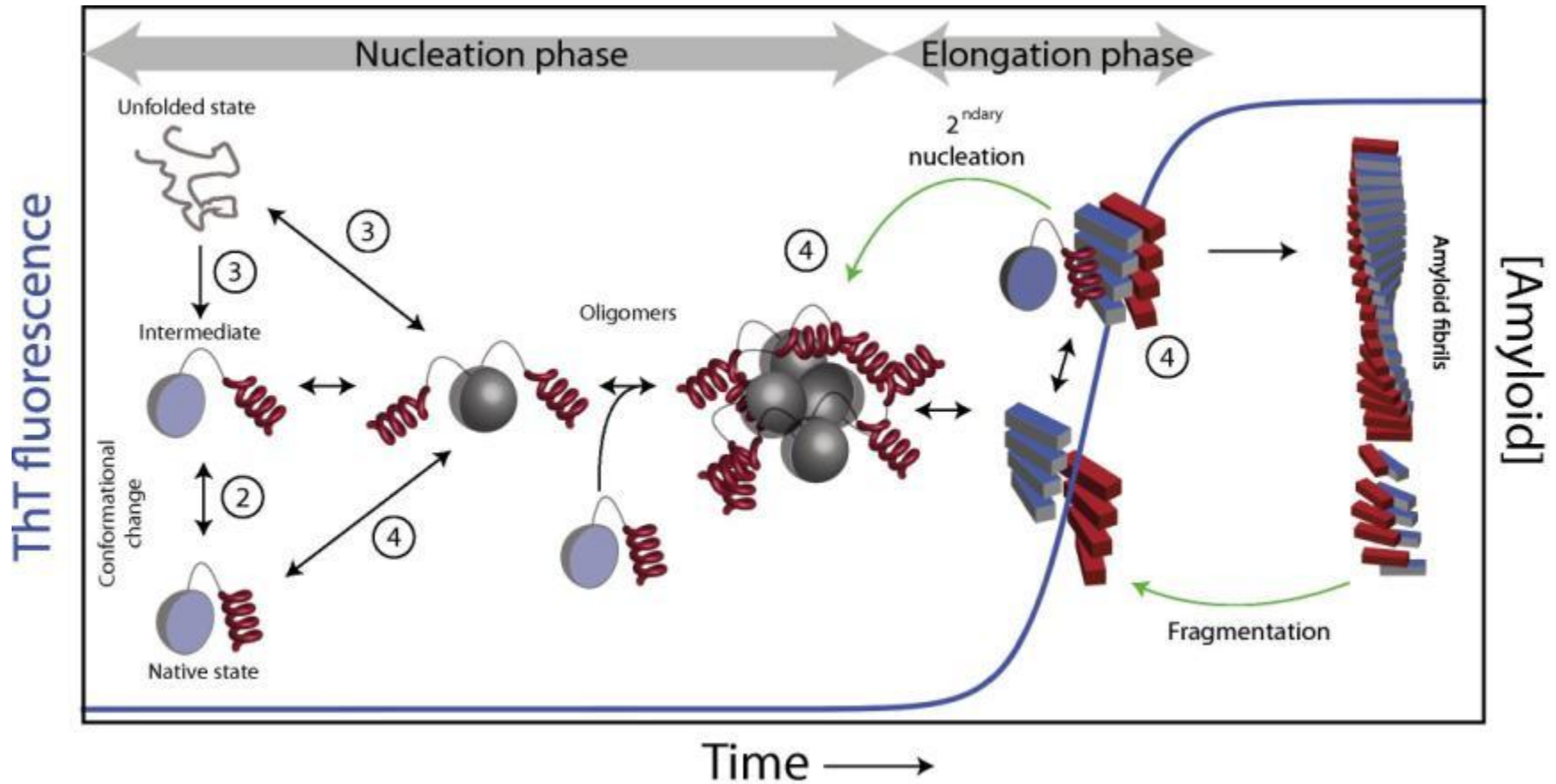


# Η αμυλοείδωση διακρίνεται σε διαφορετικούς τύπους από την πρωτεΐνη που την προκαλεί

31 διαφορετικοί τύποι αμυλοείδωσης όσες και οι πρωτεΐνες που έχουν βρεθεί να σχηματίζουν ινίδια αμυλοειδούς

Fibril protein	Precursor protein	Systemic and/or localized	Acquired or hereditary	Target organs
AL	Immunoglobulin Light Chain	S, L	A, H	All organs except CNS
AH	Immunoglobulin Heavy Chain	S, L	A	All organs except CNS
AA	(Apo) Serum Amyloid A	S	A	All organs except CNS
ATTR	Transthyretin, wild type	S	A	Heart mainly in males, Ligaments, Tenosynovium
Aβ2M	Transthyretin, variants	S	H	PNS, ANS, heart, eye, leptomeninges
	β2-Microglobulin, wild type	L	A	Musculoskeletal System
AApoA1	β2-Microglobulin, variant	S	H	ANS
	Apolipoprotein A I, variants	S	H	Heart, liver, kidney, PNS, testis, larynx (C terminal variants), skin (C terminal variants)
AApoAII	Apolipoprotein A II, variants	S	H	Kidney
AApoAIV	Apolipoprotein A IV, wild type	S	A	Kidney medulla and systemic
AGel	Gelsolin, variants	S	H	PNS, cornea
ALys	Lyszyme, variants	S	H	Kidney
ALLECT2	Leukocyte Chemotactic Factor-2	S	A	Kidney, primarily
AFib	Fibrinogen α, variants	S	H	Kidney, primarily
ACys	Cystatin C, variants	S	H	PNS, skin
ABn	ABnPP, variants	S	H	CNS
ADan*	ADanPP, variants	L	H	CNS
Aβ	Aβ protein precursor, wild type	L	A	CNS
	Aβ protein precursor, variant	L	H	CNS
APp	Prion protein, wild type	L	A	CJD, Fatal insomnia
	Prion protein variants	L	H	CJD, GSS syndrome, Fatal insomnia
ACal	(Pro)calcitonin	L	A	C-cell thyroid tumors
AIAPP	Islet Amyloid Polypeptide]	L	A	Islets of Langerhans, Insulinomas
AANF	Atrial Natriuretic Factor	L	A	Cardiac atria
APro	Prolactin	L	A	Pituitary prolactinomas, aging pituitary
AIns	Insulin	L	A	Iatrogenic, local injection
ASPC‡	Lung Surfactant Protein	L	A	Lung
AGal7	Galectin 7	L	A	Skin
ACor	Corneodesmosin	L	A	Cornified epithelia, Hair follicles
AMed	Lactadherin	L	A	Senile aortic, Media
Aker	Kerato-epithelin	L	A	Cornea, hereditary
ALac	Lactoferrin	L	A	Cornea
AOAAP	Odontogenic Ameloblast-Associated Protein	L	A	Odontogenic tumors
ASem1	Semenogelin I	L	A	Vesicula seminalis
AEnf	Entervitide	L	A	Iatrogenic

# Η δημιουργία των αμυλοειδών επιτελείται σε διακριτές φάσεις



## **2. Παράγοντες που καθιστούν μία πρωτεΐνη αμυλοειδογενή**

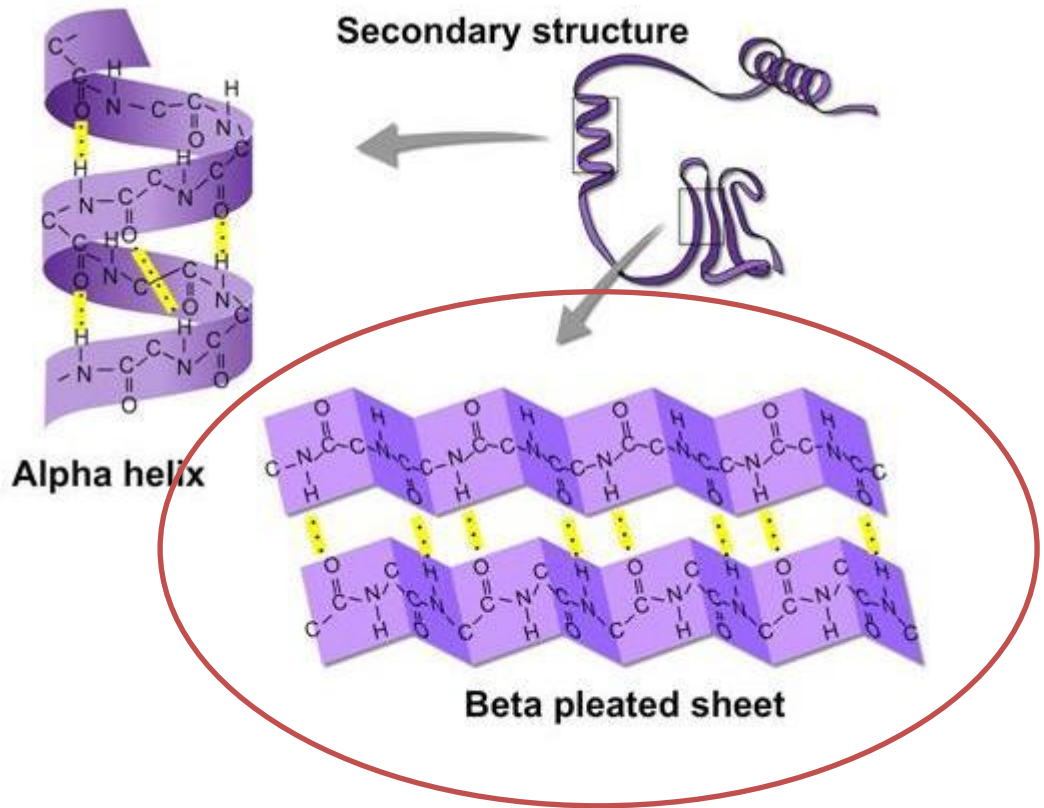


# Η αναδίπλωση των πρωτεϊνών σχετίζεται με την ικανότητά τους να σχηματίζουν αμυλοειδή

- Οι πρωτεΐνες είναι γραμμικά πολυμερή δομούμενα από μονομερή: **τα αμινοξέα**
- Η λειτουργία τους εξαρτάται από την **τρειςδιάστατη δομή** τους στο χώρο

Η τρειςδιάστατη δομή στο χώρο αποκτάται αυτόματα και εξαρτάται από την δευτεροταγή δομή  
**α-έλικα** ή  
**β-πτυχωτή επιφάνεια**  
(παράλληλη ή αντιπαράλληλη)

Η αναδίπλωση μίας πρωτεΐνης είναι μία **συνεργειακή διαδικασία**



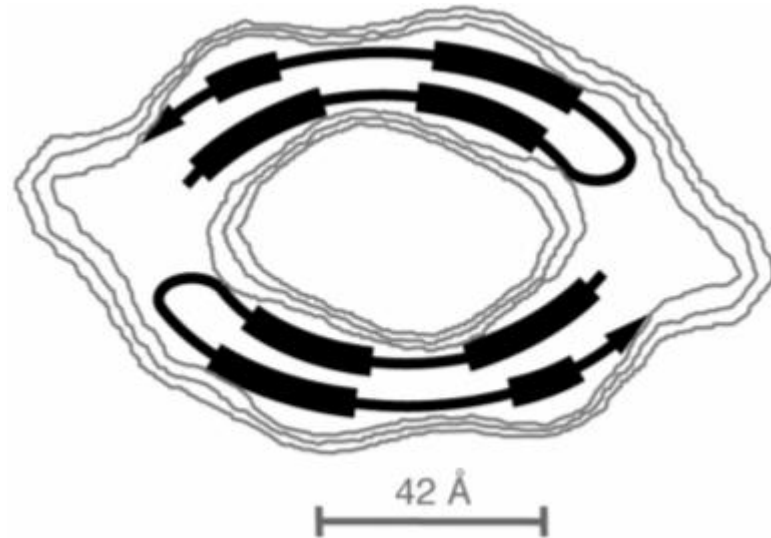
# Γιατί οι πρωτεΐνες οδηγούν στο σχηματισμό συσσωματώματων;

Η ίδια η διαδικασία της αναδίπλωσης είναι περίπλοκη :

- Διεργασία της μορφής «ή όλα ή τίποτα»
- Συνεργειακή αναδίπλωση: θερμοδυναμική ιδιότητα

Η φυσική αναδίπλωση γίνεται μόνο κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες διαφορετικά η ελεύθερη αλυσίδα «μπερδεύεται» και σχηματίζει συσσωματώματα

Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες πρωτεΐνες που δεν συμμετέχουν σε ασθένειες μπορούν να σχηματίσουν αμυλοειδή, όπως η **PI3κινάση**.



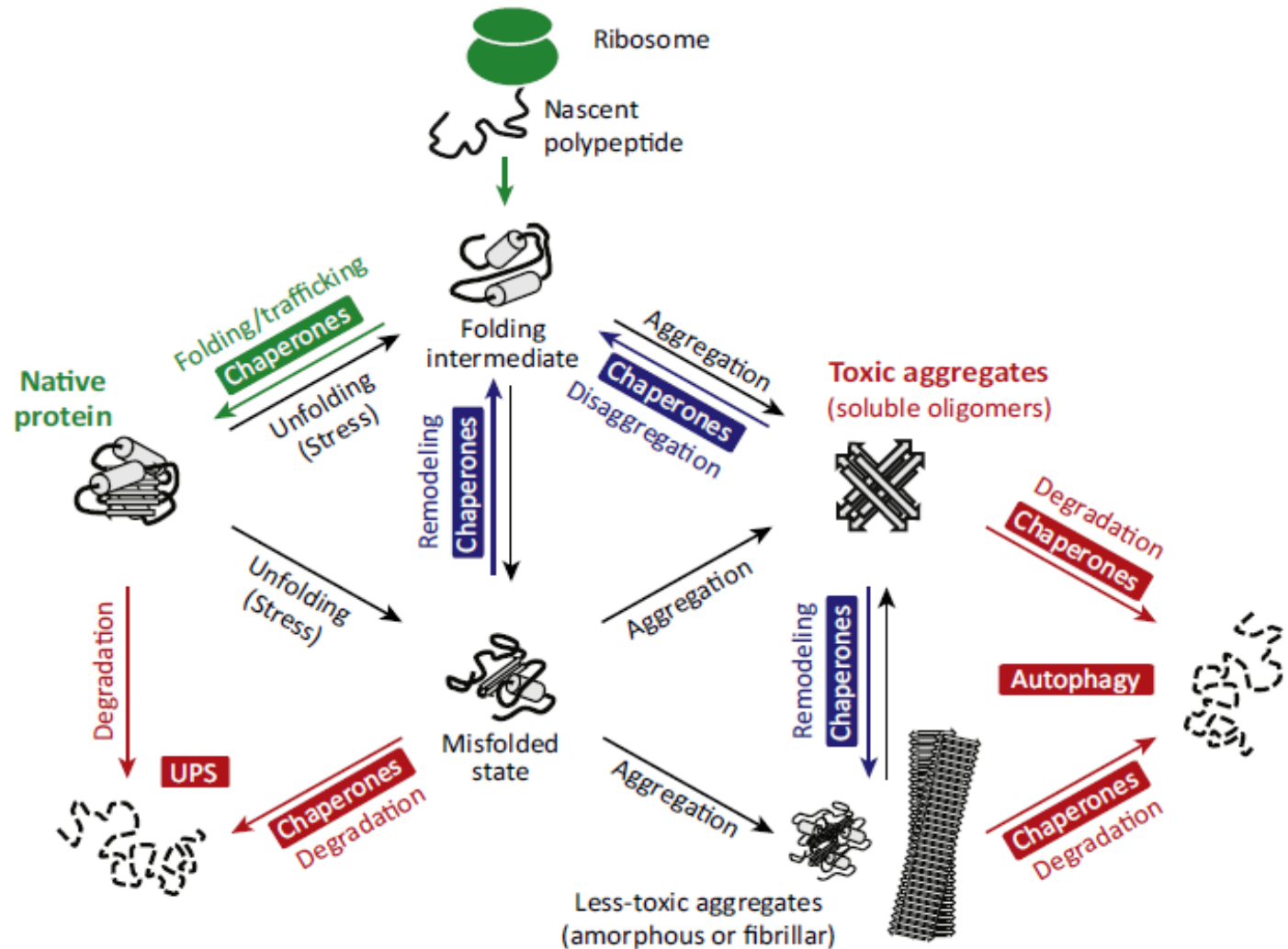
# Παράγοντες που καθιστούν μία πρωτεΐνη αμυλοειδογενή

1. Η **δομή** της είναι εγγενώς περισσότερο ευάλωτη στο να αποκτά παθολογική διαμόρφωση ή είναι **μεταλλαγμένη** :
2. Η **πρωτεόλυση** μίας πρόδρομης πρωτεΐνης οδηγεί στην αποκάλυψη μίας αλληλουχίας που ευνοεί το σχηματισμό ολιγομερών
3. Υπάρχει για μεγάλο χρονικό διάστημα σε πολύ **μεγάλη συγκέντρωση** στον ορό του αίματος
4. Η διαφορά των συνθηκών μεταξύ ενδοκυτταρικού και εξωκυτταρικού περιβάλλοντος

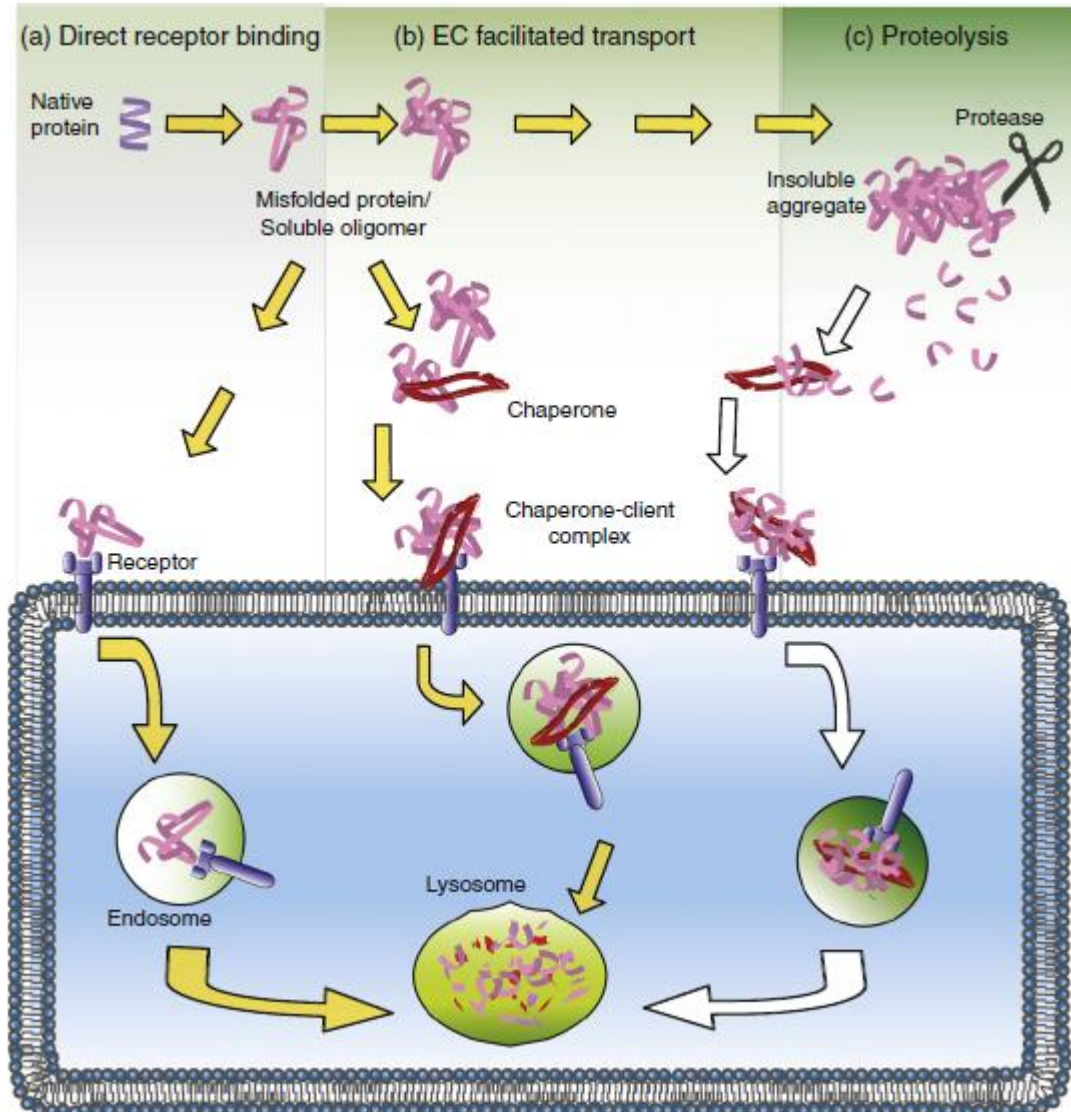
In vitro : Αλλαγές στο pH, στη θερμοκρασία και η προσθήκη παραγόντων αποσταθεροποίησης

### **3. Σύστημα ελέγχου - Πρωτεύουσα**

# Γενικευμένο δίκτυο ελέγχου της ομοιόστασης των πρωτεϊνών: Η πρωτεόσταση



# Ο ρόλος των εξωκυττάριων chaperones την πρωτεόσταση



Οι chaperones  
λειτουργούν και στον  
εξωκυττάριο χώρο

# Διαταραχή της λειτουργίας των chaperones ευνοεί το σχηματισμό αμυλοειδών

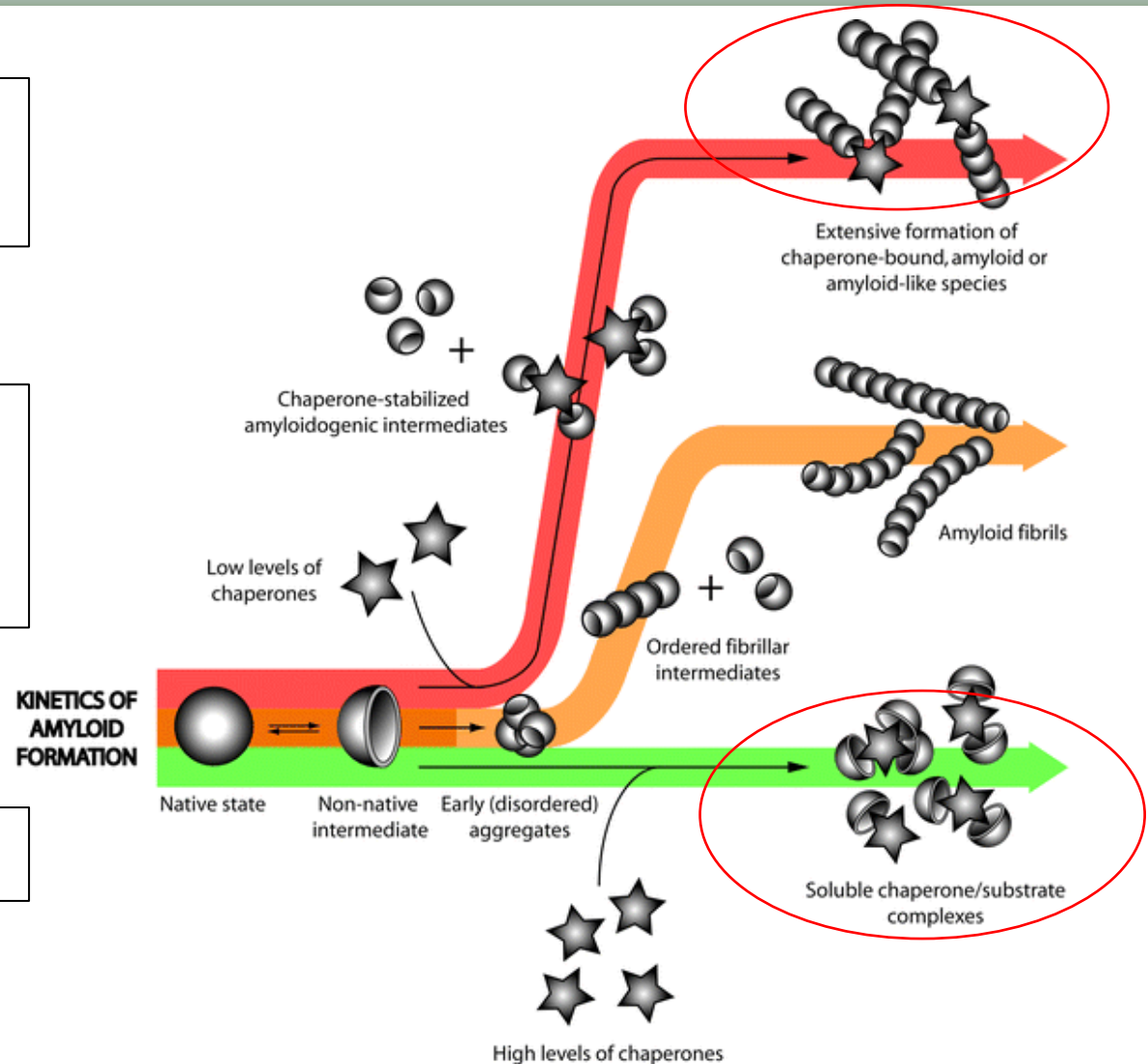
Διαταραχή λειτουργίας  
των chaperones



Σταθεροποίηση των  
αμυλοειδογενών  
ενδιαμέσων



Αδυναμία αποδόμησης



# Chaperones που εντοπίζονται στις εναποθέσεις των αμυλοειδών

Chaperones που εντοπίζονται σε αμυλοειδή αρκετών τύπων αμυλοείδωσης:

- **Clusterin**
- **Απτοσφαιρίνη**
- **$\alpha 2$  μακροσφαιρίνη ( $\alpha 2M$ )**

Γλυκοζαμινογλυκάνες :

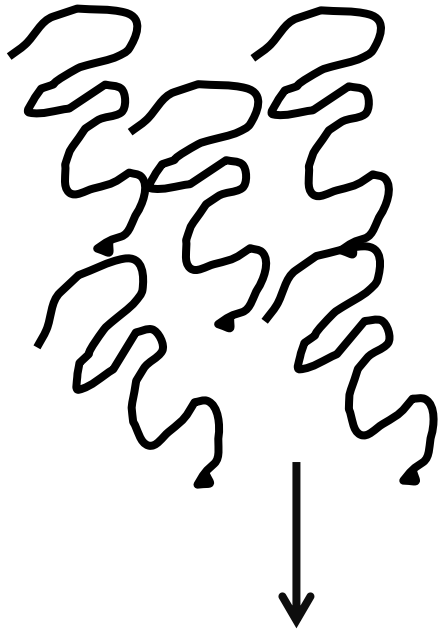
**Απολιποπρωτεΐνη E** και **serum amyloid P (SAP)** βρίσκονται απανταχού στα αμυλοειδή χωρίς να έχει διασαφηνιστεί αν έχουν τη δυνατότητα σταθεροποίησης των λανθασμένα διπλωμένων πρωτεϊνών



**4. Μηχανισμοί επαγωγής ιστικής βλάβης : Το παράδειγμα της καρδιοτοξικότητας από την αμυλοείδωση ελαφριάς αλύσου**

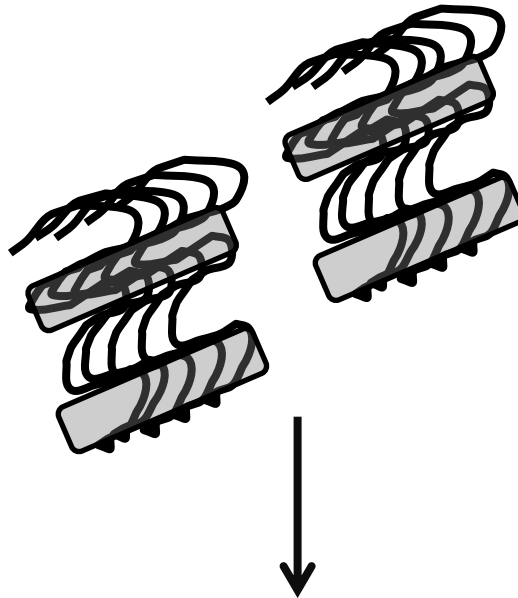
# Μηχανισμοί τοξικότητας

Μονομερή αμυλοειδογενών  
πεπτιδικών αλυσίδων



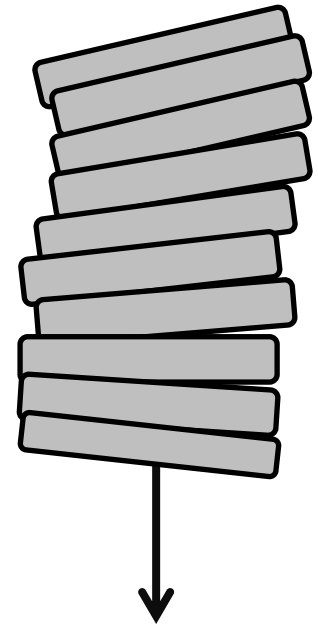
Αύξηση στρες και  
επιβλαβών κυτταρικών  
αποκρίσεων όπως η  
απόπτωση

Ολιγομερή /  
Πολυμερή /  
Συσσωματώματα



Αλληλεπίδραση  
με κυτταρικές  
μεμβράνες /  
υποδοχείς

Εναποθέσεις ινιδίων  
αμυλοειδών



Διαταραχή  
αρχιτεκτονικής και  
λειτουργίας του  
ιστού

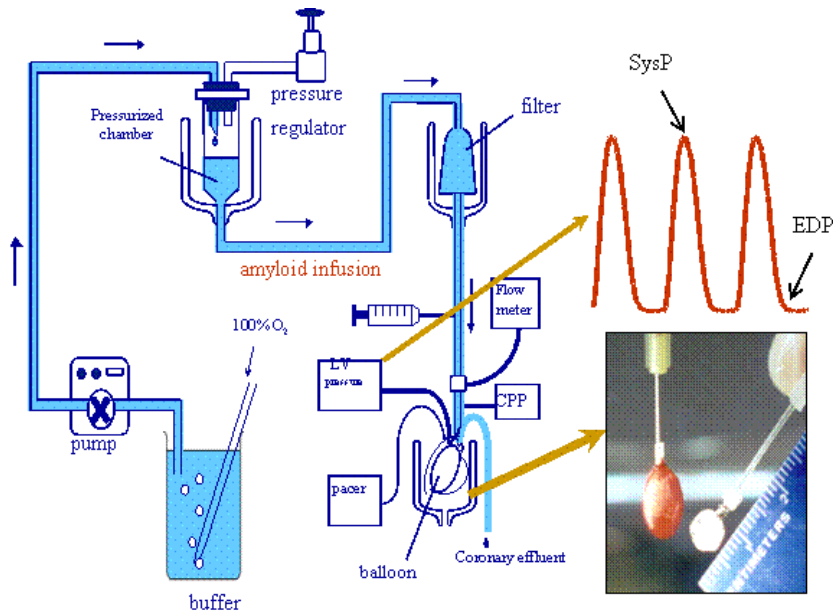
# Τύποι αμυλοείδωσης που προσβάλλουν το μυοκάρδιο

Nomenclature	Precursor of Amyloid Fiber	Type	Prevalence	Prognosis
AL (26)	Immunoglobulin light chain	Primary amyloid cardiomyopathy	50% in patients with AL amyloidosis	Median survival-11 mo
ATTR (28, 46, 79, 101)	Mutant transthyretin	Familial amyloid cardiomyopathy	30% in patients with familial amyloidosis	Median survival 9–13 yr
	Wild-type transthyretin	Senile systemic amyloid (SSA) cardiomyopathy	In most of patients with senile amyloidosis	Median survival-75 mo
AA (28)	Serum amyloid A	Secondary amyloid cardiomyopathy	Rare, only 2% in patients with AA amyloidosis	Good
AANF (48, 49)	Atrial natriuretic factor	Isolated atrial amyloidosis	Very common More than 40% in people older than 50	Good

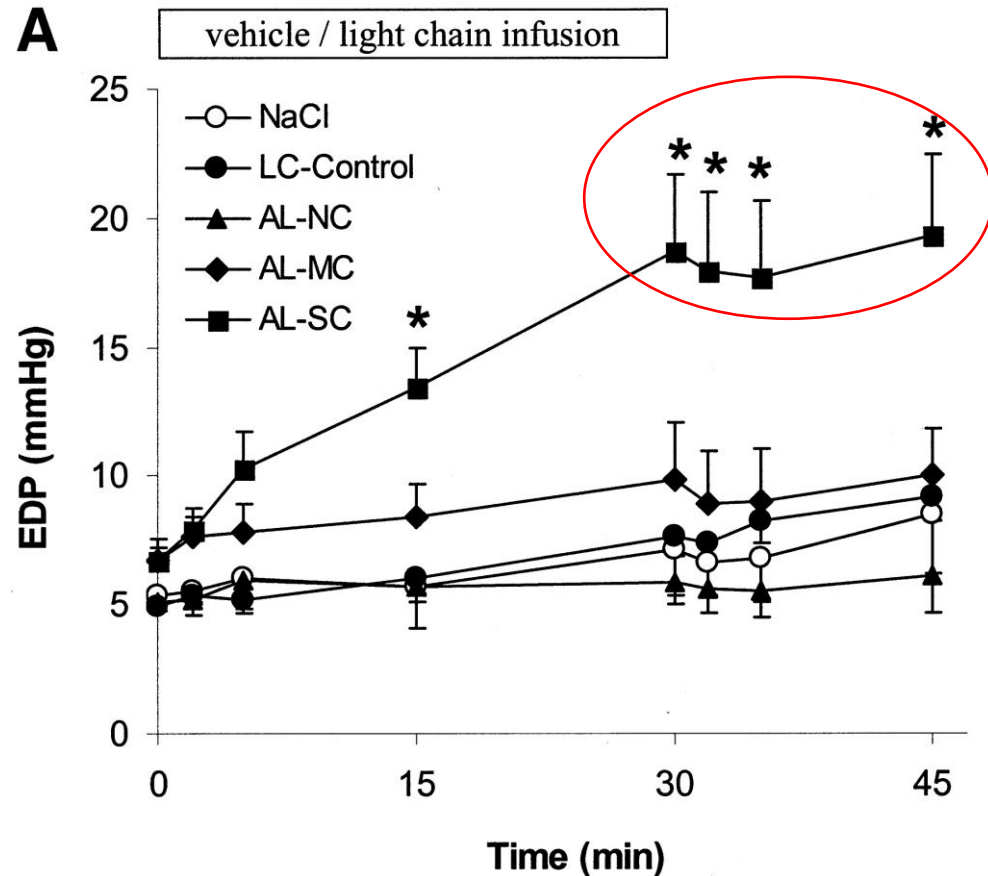
*Guan J. et al., Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(3): H544–H552.*

Η κακή πρόγνωση των ασθενών με AL εκδήλωση στον καρδιακό ιστό δεν συσχετίζεται με την ποσότητα των αμυλοειδών στην καρδιά

# Οι ελαφριές αλυσίδες προκαλούν καρδιοτοξικότητα σε απομονωμένες καρδιές μυών

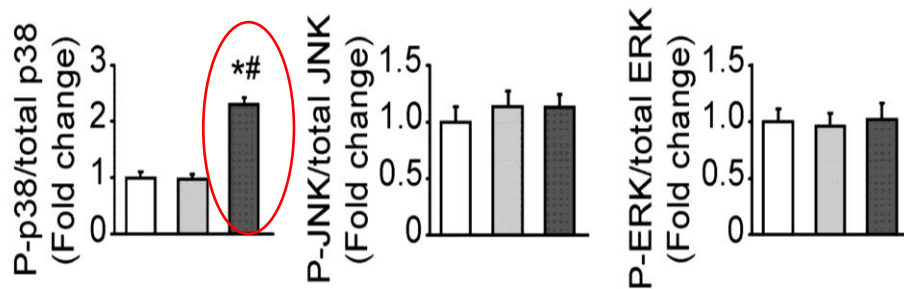


Σταδιακή αύξηση της διαστολικής πίεσης → **Εξέλιξη σε σοβαρή διαστολική δυσλειτουργία**



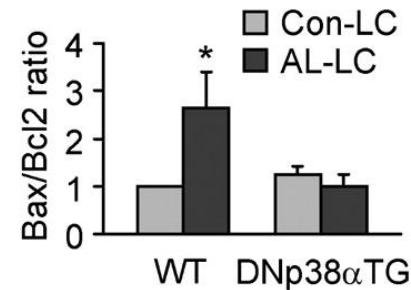
# Οι ελαφριές αλυσίδες προκαλούν καρδιοτοξικότητα *in vitro* και *in vivo*

**In vitro:** απομονωμένα καρδιομυοκύτταρα επιμύων εκτέθηκαν σε AL-LC, Con-LC ή vehicle

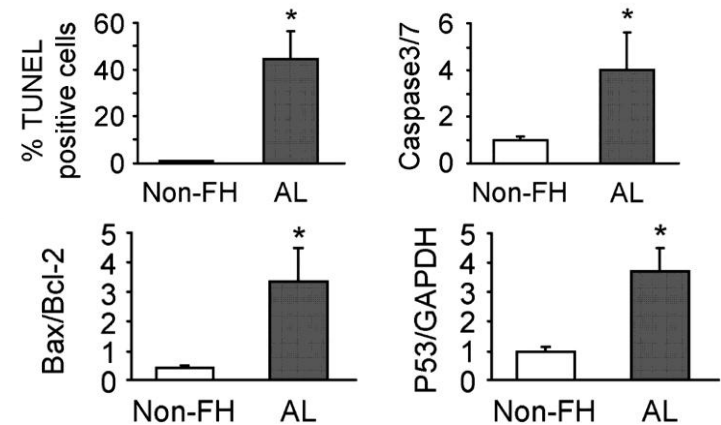


Η αναστολή της p38 MAPK με τον αναστολέα SB203580 μείωσε την παραγωγή ROS και την συστολική δυσλειτουργία από AL-LC

**In vivo:** Wild type και διαγονιδιακοί μύες για την p38

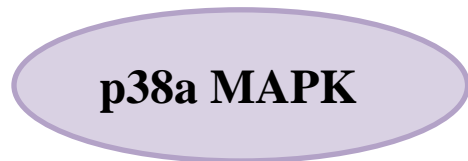


Δείκτες απόπτωσης σε καρδιακό ιστό ασθενών με AL



# Ενδοκυττάριοι μηχανισμοί σηματοδότησης εμπλέκονται στην καρδιοτοξικότητα από ελαφριές αλυσίδες

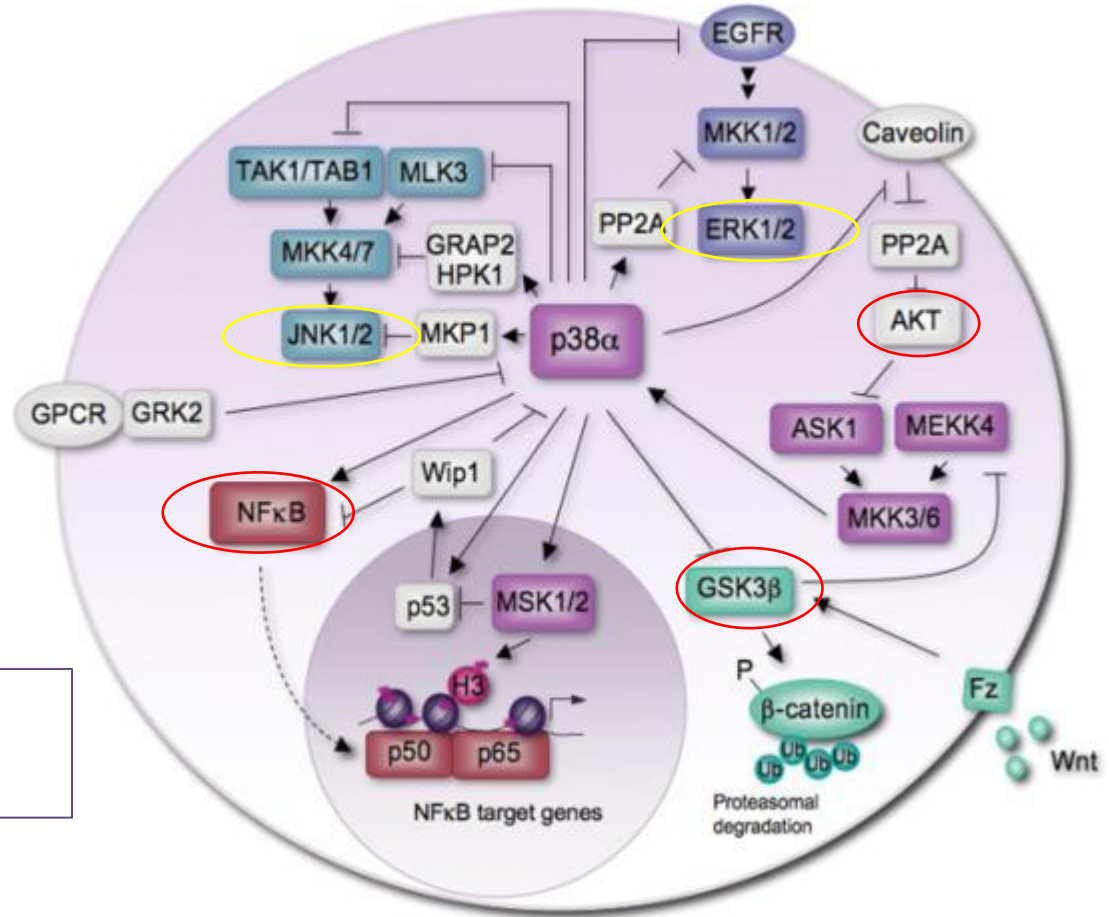
Καρδιοτοξικές  
ελαφριές αλυσίδες



ROS

Κυτταρική  
δυσλειτουργία

Κυτταρικός  
θάνατος



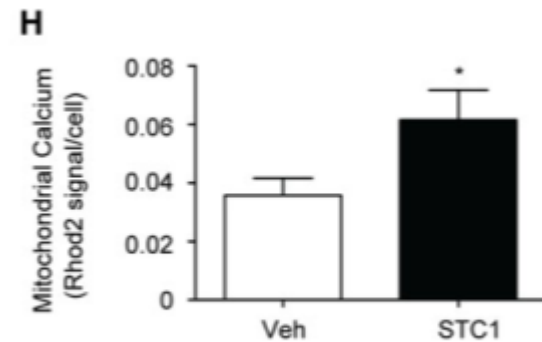
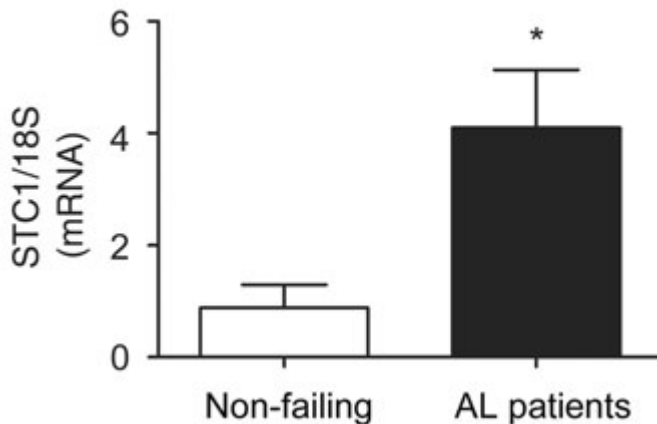
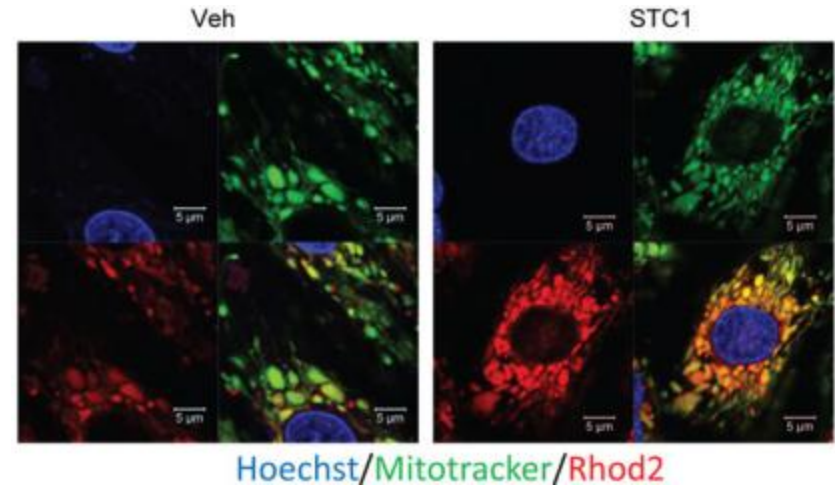
*Shi et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107:4188-93*

*Guan et al., Basic Res Cardiol. 2013;108(5):378*

*Ana Cuadrado, et al., Biochemical Journal, 2010,429(3)403-417*

# Αύξηση της στανιοκαλσίνης πιθανά επαγόμενη από την p38

Αυξημένη STC1 παρατηρείται στους ασθενείς με AL Zebrafish. μύες και απομονωμένα καρδιομυοκύτταρα επιμύων εμφανίζουν μυοκαρδιακή βλάβη μετά από αύξηση της STC1

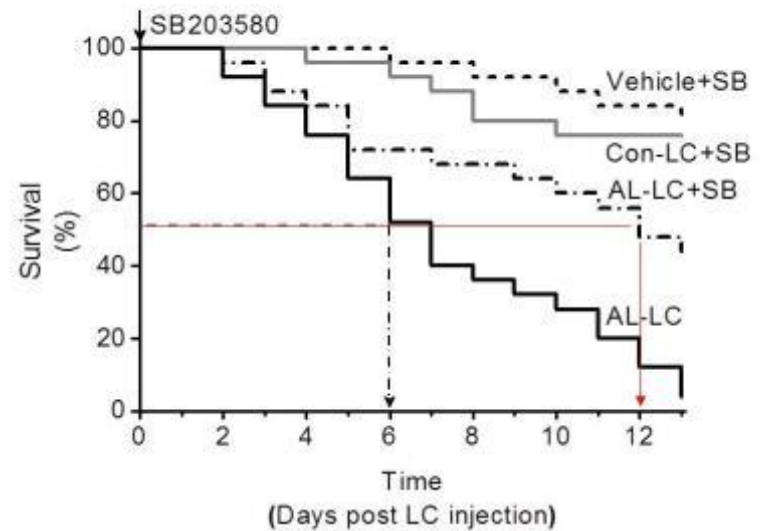
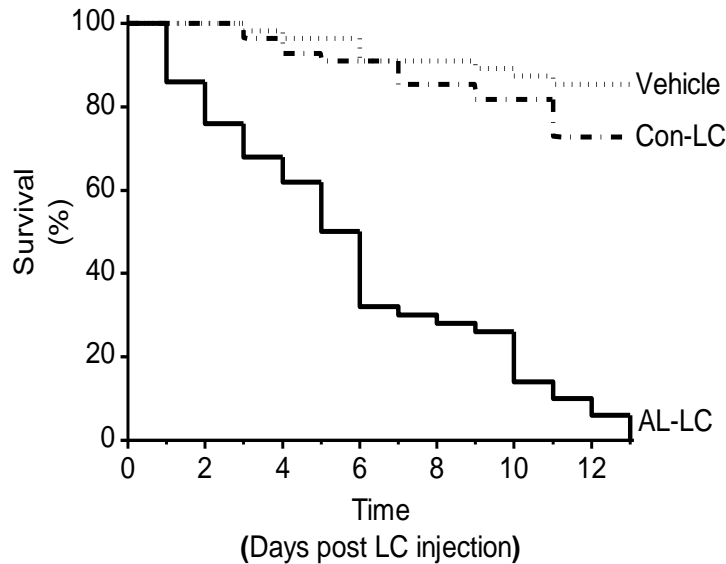
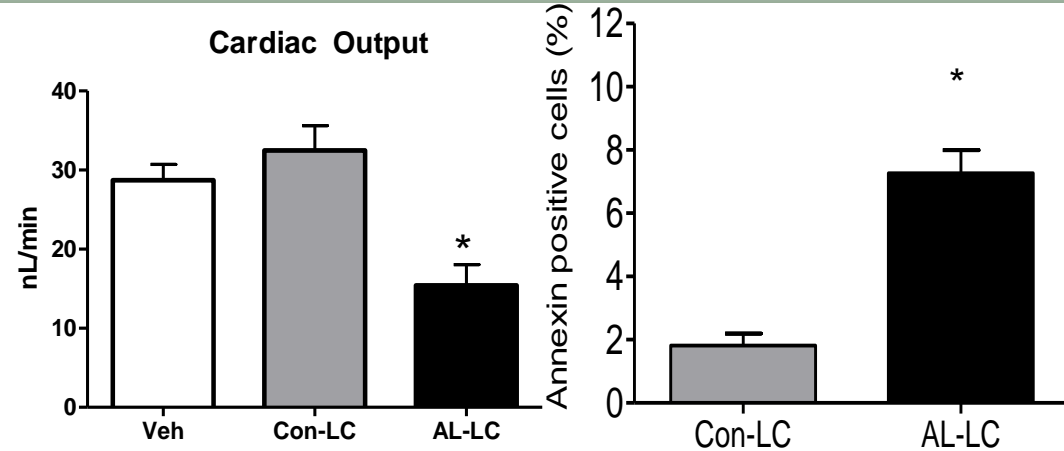
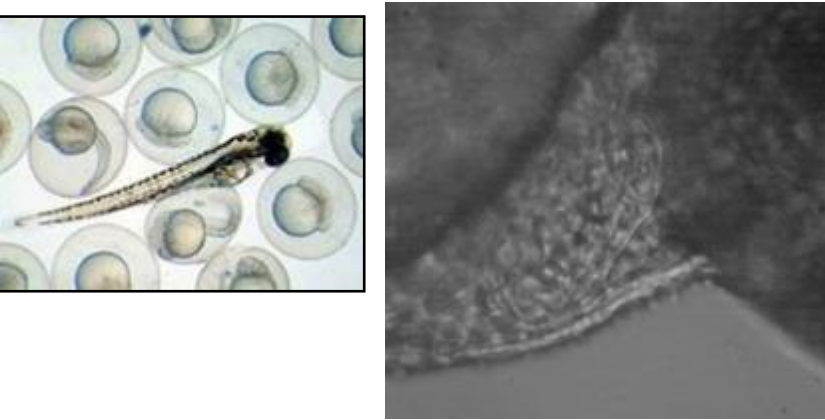


## Περαιτέρω μελέτη απαιτείται για την εξέταση της μυοκαρδιακής λειτουργίας

- **Χορήγηση ελαφριών αλυσίδων απομονωμένων από ούρα ασθενών →**
  - Υψηλή υδατοδιαλυτότητα : Υπάρχει αβεβαιότητα για την τοξικότητα που επάγεται από τα συσσωματώματα
  - Μικρή αναπαραγωγιμότητα: Οι ελαφριές αλυσίδες κάθε ασθενή μπορεί να διαφέρουν στην αλληλουχία τους
- **Χορήγηση για περιορισμένο χρονικό διάστημα ημερών**
  - Παραμένουν άγνωστες οι χρόνιες επιδράσεις στην κυτταρική λειτουργία
- **Περαιτέρω διερεύνηση της ομοιόστασης του ασβεστίου προκαλούμενη από AL (όχι μόνο από την STC1 )**
- **Υπερηχογραφική αξιολόγηση/ ΗΚΓ / δείκτες μυοκαρδιακής βλάβης (τροπονίνη) σε πειραματικό μοντέλο μυών πρέπει να πραγματοποιείται**
  - Η διαταραχή στο μονοπάτι της p38 είναι άγνωστο αν είναι ικανή να προκαλέσει λειτουργικές μεταβολές όπως μείωση του κλάσματος εξώθησης ή διαταραχές στο ΗΚΓ

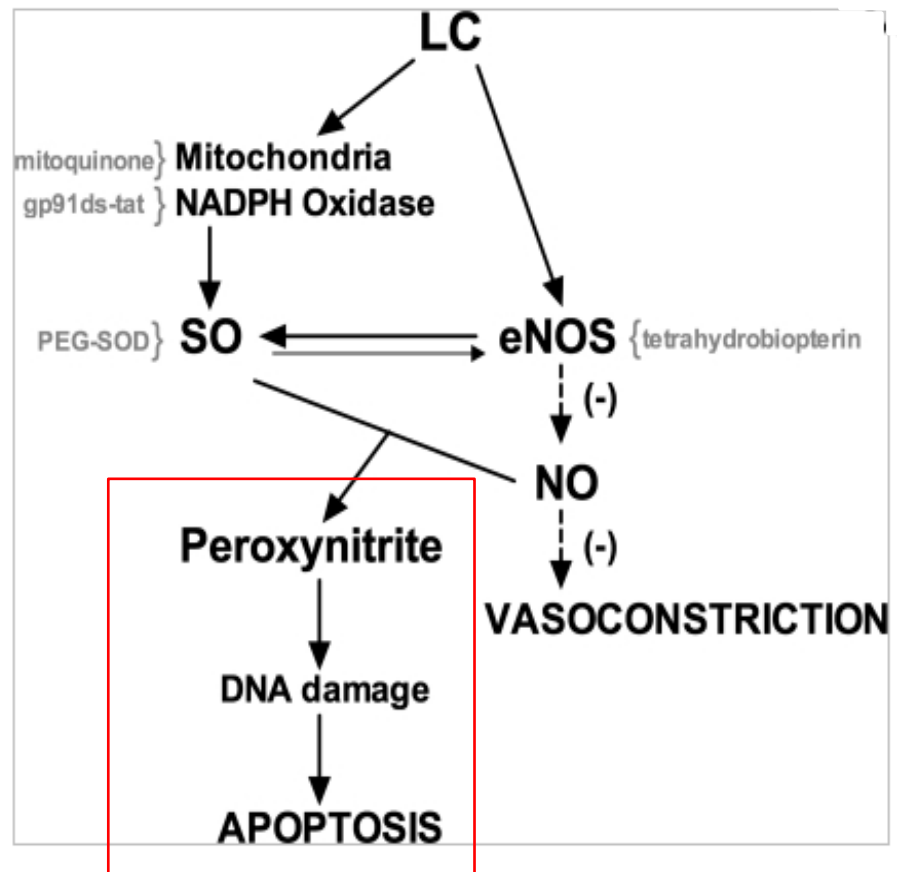


# Οι αμυλοειδογενείς ελαφριές αλυσίδες οδηγούν σε καρδιακή δυσλειτουργία, κυτταρικό θάνατο και μειωμένη επιβίωση



# Οι ελεύθερες αλυσίδες in vitro προκαλούν ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

1. **Οξεία έκθεση** αρτηριολίων σε ελαφριές αλυσίδες **επάγει μικροαγγειακή δυσλειτουργία** μειωμένη απόκριση στην βραδυκινίνη
2. **Απόπτωση και νέκρωση** επάγεται από ελαφριές αλυσίδες σε **HCAEC** συσχετίζεται με το οξειδωτικό στρες .



# Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ως μεσολαβητής ιστικής βλάβης χρήζει περαιτέρω διερεύνησης

Μελέτη που χρησιμοποιεί ελαφριές αλυσίδες απομονωμένες από ούρα ασθενών

→ Διερεύνηση της επίδρασης των ελαφριών αλυσίδων, των συσσωματωμάτων και των ινιδίων του αμυλοειδούς στα αγγεία μετά από χρόνια έκθεση

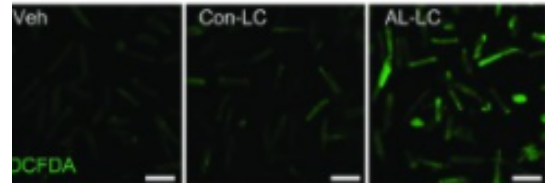
• Αναπτύσσονται αντιροπιστικοί μηχανισμοί;

→ Ο ρόλος της εναπόθεσης ινιδίων στα αγγεία πέραν του μηχανικού περιορισμού.

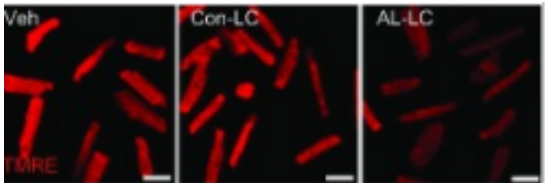
• Επίδραση των ελεύθερων αλυσίδων in vivo και διερεύνηση της μορφολογίας των αγγείων και της σηματοδότησης του ενδοθηλίου

→ Στοχευμένη φαρμακοθεραπεία μπορεί να βελτιώσει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

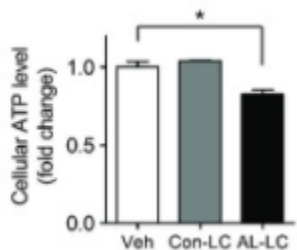
# Η τοξικότητα των αμυλοειδογενών ελαφριών αλυσίδων επηρεάζει ενδοκυτταρικά οργανίδια



Αύξηση των ROS (Mito-TEMPO)

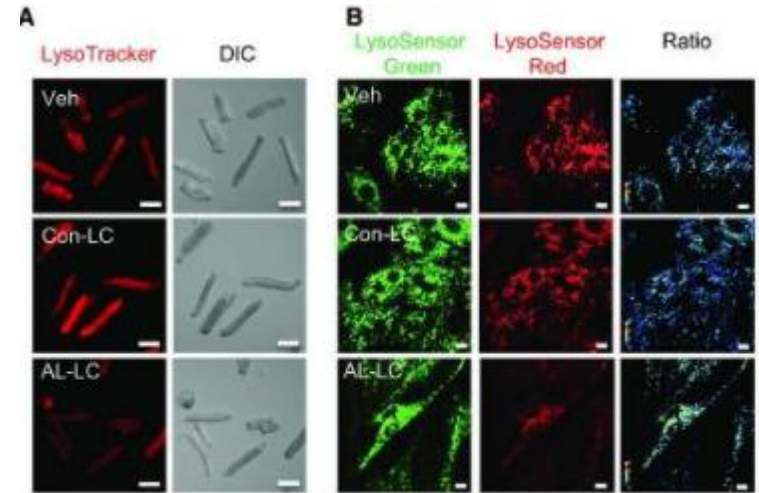


Πτώση του μιτοχονδριακού δυναμικού μεμβράνης

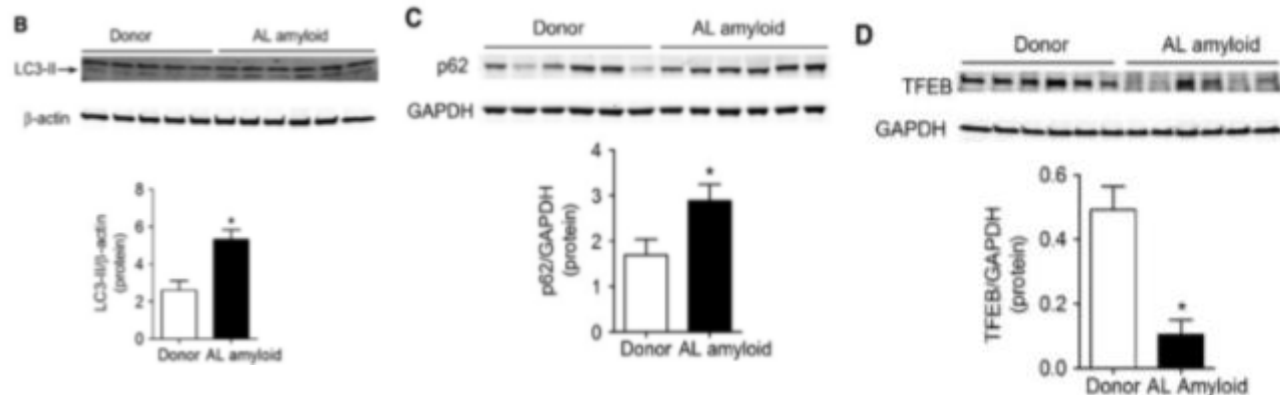


Πτώση του ATP

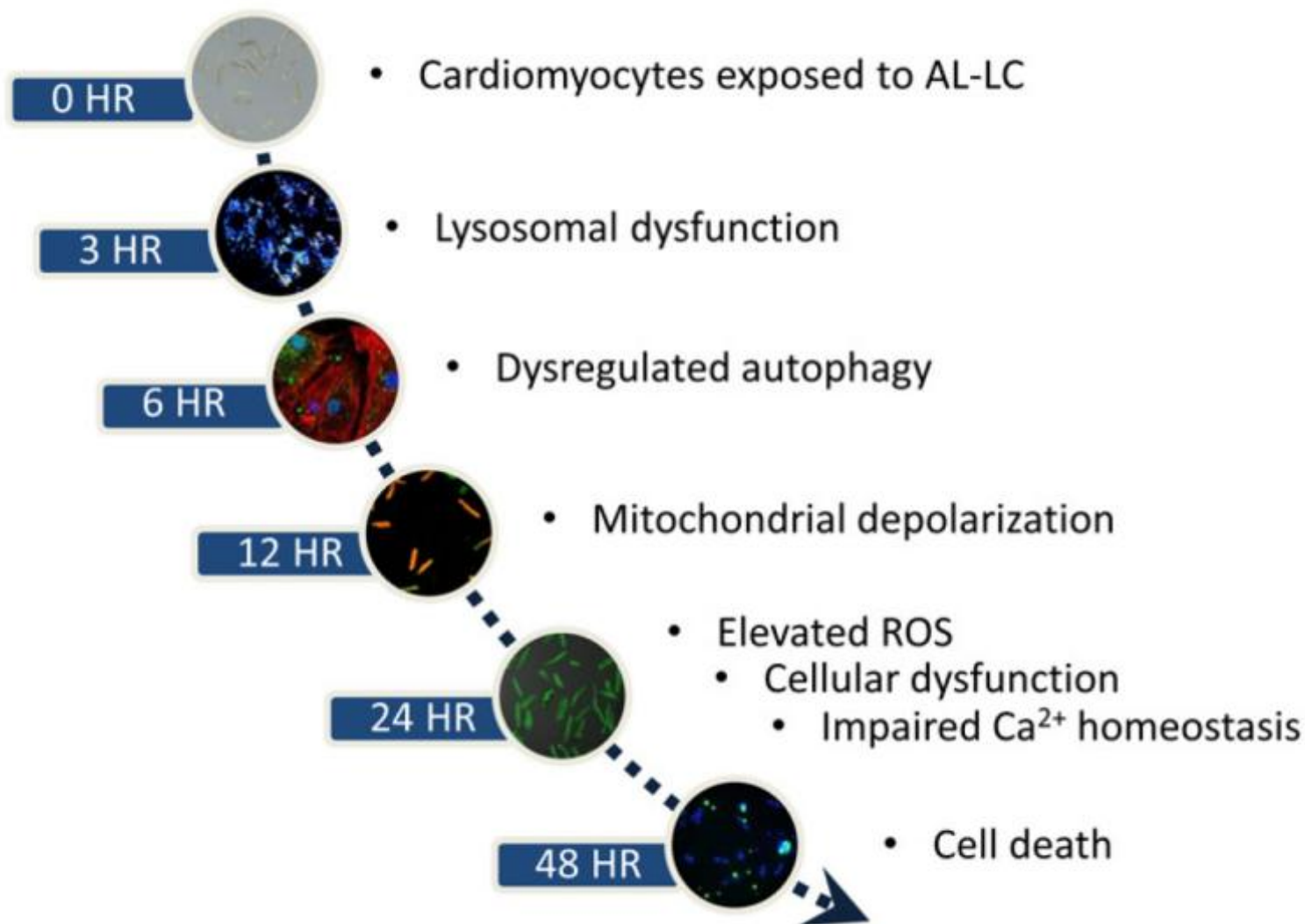
Διαταραχή pH εντός λυσοσωμάτων



Δείκτες αυτοφαγίας και λυσοσωμιακής αναγέννησης σε καρδιακό ιστό ασθενών με AL



# Η κυτταροτοξικότητα από ελαφριές αλυσίδες εξελίσσεται χρονικά επιδρώντας σε ενδοκυτταρικά οργανίδια



# Περαιτέρω μελέτη απαιτείται για το ρόλο των ενδοκυτταρικών οργανιδίων in vivo

Μελέτη που χρησιμοποιεί ελαφριές αλυσίδες απομονωμένες από ούρα ασθενών

- Διερεύνηση της επίδρασης των ελαφριών αλυσίδων σε ενδοκυτταρικά οργανίδια μετά την in vivo έκθεση στις ελαφριές αλυσίδες
- Μελέτη μιτοχονδριακής λειτουργίας και μορφολογίας
  - Έλεγχος της ενεργότητας των συμπλεγμάτων της αναπνευστικής λειτουργίας
  - Μιτοφαγία

## Συμπεράσματα

1. Η **αμυλοείδωση** είναι μία νόσος «λανθασμένα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών». Η διερεύνηση της υποκείμενης διαταραχής της πρωτεόστασης θα παρέχει νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις
2. Οι βλάβες των ιστών από την αμυλοείδωση οφείλονται τόσο στις εναποθέσεις των αμυλοειδών όσο και στα **μονομερή/ ολιγομερή** τους
3. Η **AL** εκδηλώνονται με μεγαλύτερη συχνότητα και η έκβαση των ασθενών **επιδεινώνεται** από την εμφάνιση της **μυοκαρδιακής βλάβης**. Η βλάβη πειραματικά επάγεται από ελαφριές αλυσίδες ως **μονομερή**
4. Η δημιουργία ενός πειραματικού μοντέλου με **μυοκαρδιοπάθεια** επαγόμενη από ελαφριές αλυσίδες και η μελέτη των **μηχανισμών τοξικότητας** θα αναδείξει νέους στόχους καρδιοπροστασίας

**Σας ευχαριστώ για την προσοχή σας**