

GRUPO DE NEUROLOGÍA:
Enfermedades desmielinizantes

Neurólogas: Aida Orviz García, Irene del Pilar Moreno Torres, Soraya de la Fuente

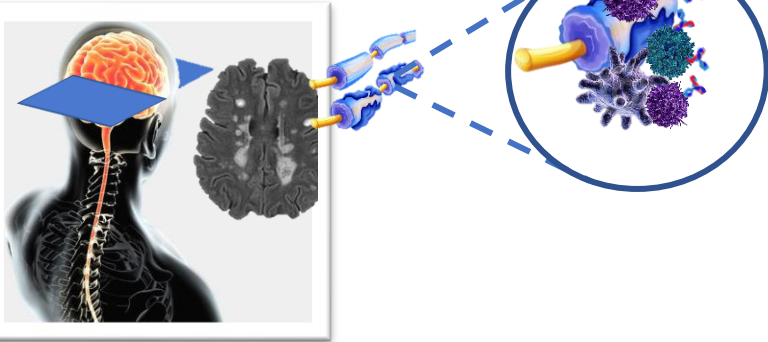
Enfermera: Lidia Yébenes

Técnico de laboratorio: Ana López Puga
Ext.3705

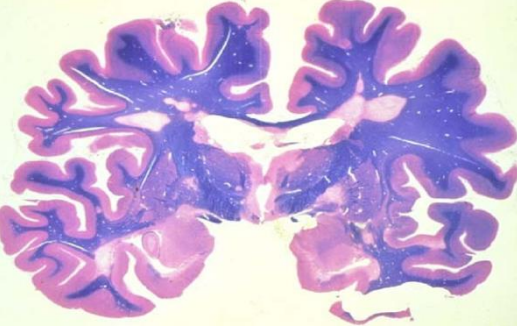
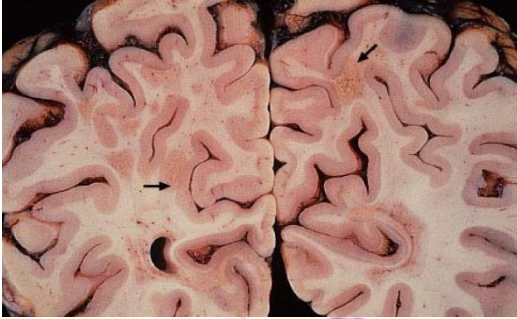
FJDDueHDN@quironosalud.es

irene.morenot@quironosalud.es

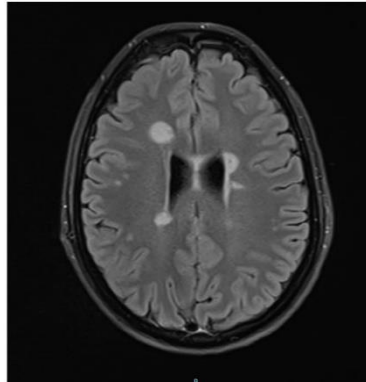
aida.orviz@quironosalud.es



Enfermedades desmielinizantes



- Desmielinización del SNC por daño de los oligodendrocitos
- Presumiblemente autoinmune
- **Esclerosis múltiple (EM)**, Espectro de neuromielitis óptica (NMOSD), enfermedad por anticuerpos anti-MOG (MOGAD)



Investigación traslacional en EM



ORIGINAL RESEARCH
published: 25 July 2018
doi: 10.3389/fimmu.2018.01693



Immunophenotype and Transcriptome Profile of Patients With Multiple Sclerosis Treated With Fingolimod: Setting Up a Model for Prediction of Response in a 2-Year Translational Study

OPEN ACCESS

Edited by:

Robert Weissert,
University of Regensburg, Germany

Reviewed by:

Niels Hellings,
University of Hasselt, Belgium
Zsolt Illes,
University of Southern Denmark
Odense, Denmark

*Correspondence:

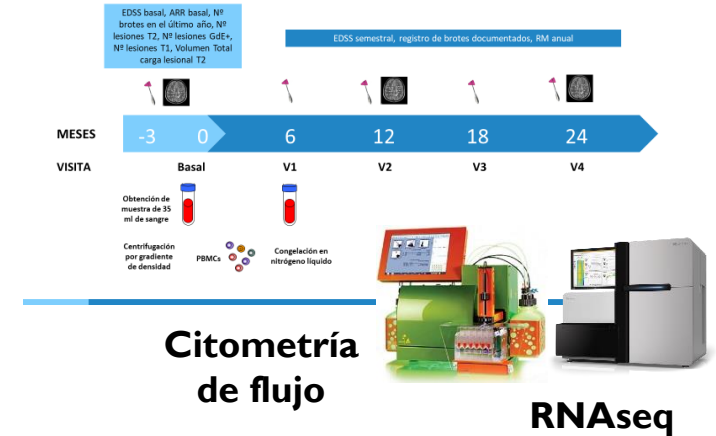
Antonio García-Merino
jgarciam.hpth@salud.madrid.org;
Antonio José Sánchez López
asanchezi.hpth@salud.madrid.org

Irene Moreno-Torres^{1,2}, Coral González-García¹, Marco Marconi³, Aranzazu García-Grande⁴, Luis Rodríguez-Esparragoza⁵, Víctor Elvira⁶, Elvira Ramil⁷, Lucía Campos-Ruiz¹, Ruth García-Hernández^{1,2}, Fátima Al-Shahrour⁸, Coral Fustero-Torre⁹, Alicia Sánchez-Sanz¹, Antonio García-Merino^{1,2,8,10,11*} and Antonio José Sánchez López^{1,10,11*}

¹Neuroimmunology Unit, Puerta de Hierro-Segovia de Arana Health Research Institute, Madrid, Spain, ²Autonomous University of Madrid, Madrid, Spain, ³Centre for Plant Biotechnology and Genomics, Madrid, Spain, ⁴Flow Cytometry Core Facility, Puerta de Hierro-Segovia de Arana Health Research Institute, Madrid, Spain, ⁵Spanish National Cardiovascular Research Center (CNIC), Madrid, Spain, ⁶IMT Lille Douai & CRISTAL, Univ. de Lille, Douai, France, ⁷Sequencing Core Facility, Puerta de Hierro-Segovia de Arana Health Research Institute, Madrid, Spain, ⁸Bioinformatics Unit of Spanish National Cancer Research Center (CNIC), Madrid, Spain, ⁹Neurology Department, Puerta de Hierro University Hospital, Madrid, Spain, ¹⁰Red Española de Esclerosis Múltiple (REEEM), Barcelona, Spain, ¹¹Biobank, Puerta de Hierro University Hospital-IDIPHISA, Madrid, Spain

Moreno-Torres I et al. Front Immunol 2018;9:1693

Métodos

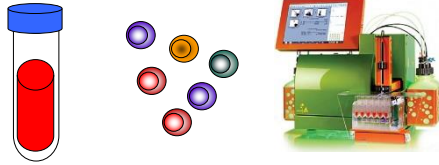


Modelo predictivo de respuesta a Fingolimod

Investigación traslacional en EM

Citometría de flujo

Análisis sobre las PMBCs



- 7 paneles
- 48 subpoblaciones linfocitarias
- 0 y 6 meses de tratamiento

Citómetro de flujo: MACSQUANT® (Miltenyi Biotec)

Análisis: MACSQuantify 2.5 y FlowJo (tree Star).

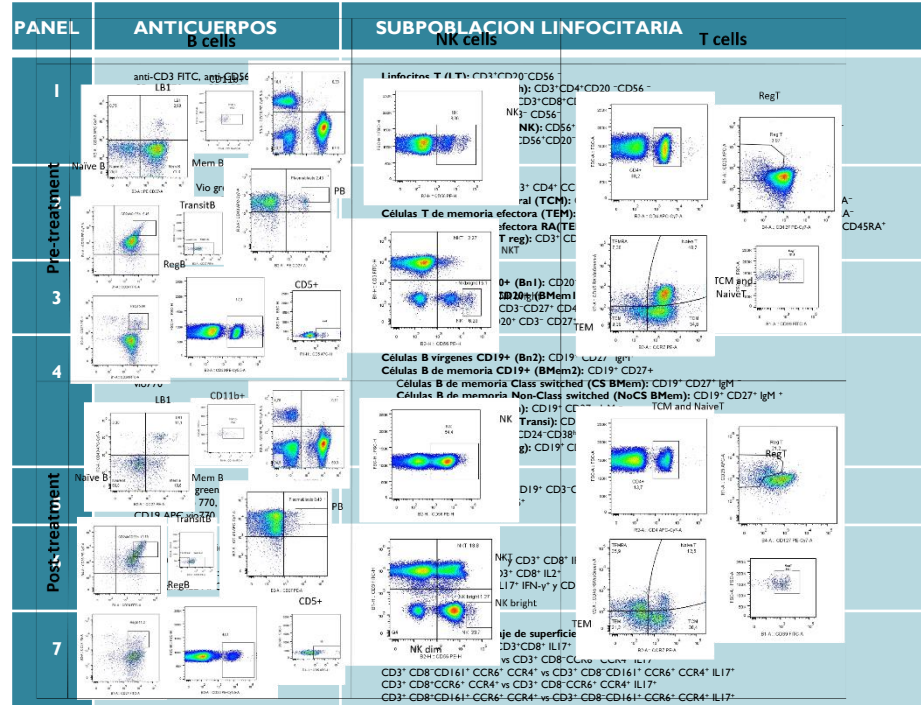


Figure 1. Influence of fingolimod on lymphocyte populations analyzed.

Moreno-Torres I et al. Front Immunol 2018;9:1693

Investigación traslacional en EM

RNAseq

Análisis sobre las PMBCs



- Transcriptoma
- 25000 genes
- 0 y 6 meses de tratamiento

Next generation sequencing (NGS)

- **Extracción de ARN:** *Maxwell® 16 LEV simply RNA Cells kit* (Promega)
- **Medida de calidad:** Bio-analizador Agilent 2100
- **Preparación de librerías:** *TruSeq Stranded mRNA Sample Preparation Part # 15031047 Rev. D* del kit de Illumina
- Secuenciación: HiSeq2500 de Illumina
- Análisis: *Illumina Real Time Analysis*

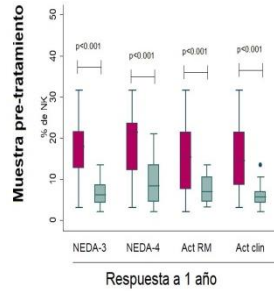
Validación de los datos mediante qPCR

Moreno-Torres I et al. *Front Immunol* 2018;9:1693

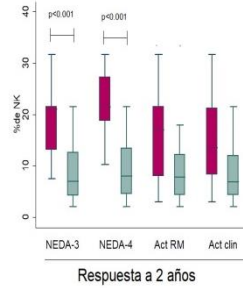
Investigación traslacional en EM

Diferencias celulares entre respondedores y no respondedores a fingolimod

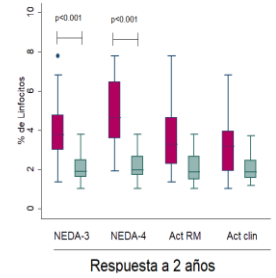
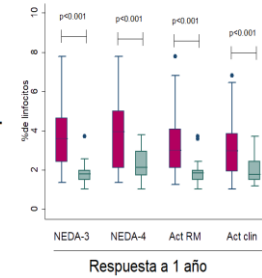
NK bright



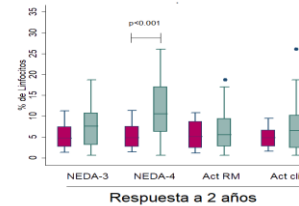
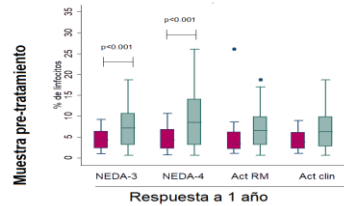
Plasmablastos



Muestra pre-tratamiento



Células productoras de IL-2

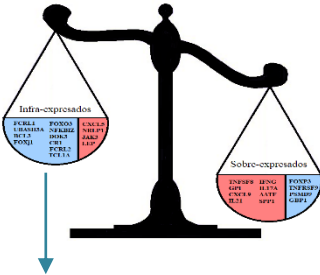


Moreno-Torres I et al. Front Immunol 2018;9:1693

Investigación traslacional en EM

Respondedores vs no respondedores a fingolimod

PACIENTES RESPONDedores A 1 Y 2 AÑOS

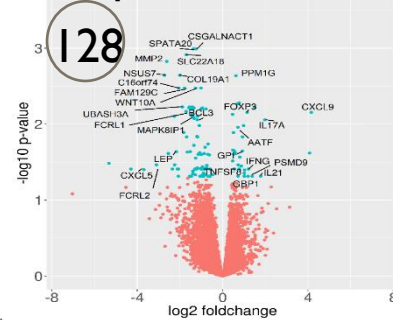


- Genes inflamatorios
- Genes anti-inflamatorios

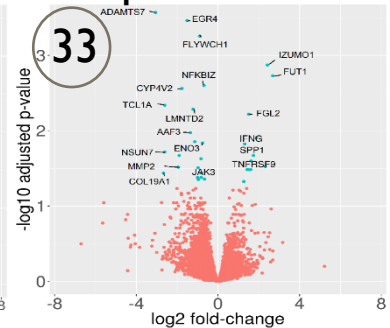
- **Cronificación de la inflamación:** *LEP*, *MMP2*
- **Respuesta inmune innata:** *CXCL5*, el inflammasoma *NLRP1* y la quinasa *JAK3*

- **Inhibición de la respuesta Th1 y la activación de la vía NFκB:** *BCL3*, *FOXj1*, *NFKBIZ* y *UBASH3A*
- **Inhibidores de la respuesta Th17:** *TCL1A*
- **Inhibidores de la señalización del BCR:** *DOK3*, *FCRL1* y *FCRL2*
- **Coordinar la tolerancia inmune a los autoantígenos:** *BCL3*, *FOXj1*, *NFKBIZ* y *FOXO3*
- **Regeneración de células T reguladoras:** *CR1*
- **Producción de IL-10:** *NFKBIZ*

Respuesta a 1 año



Respuesta a 2 años

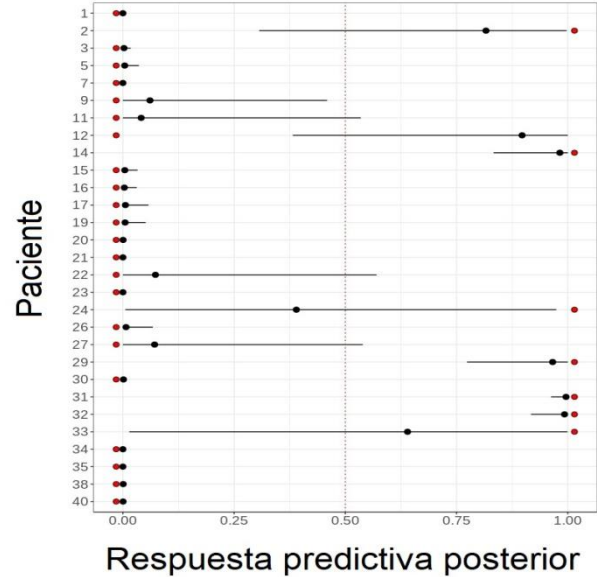
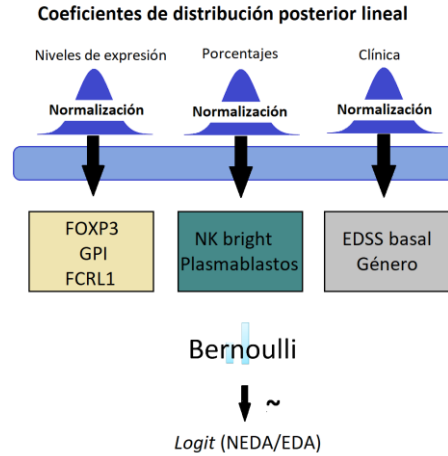
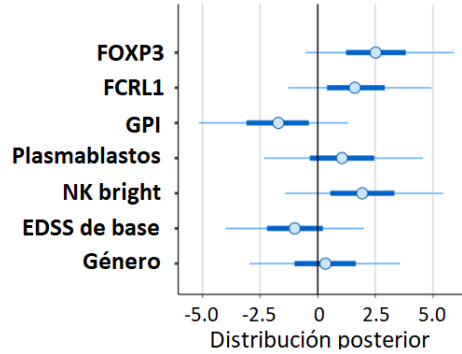


- **Activación de la respuesta linfocitaria Th1 y Th17:** *TNFSF8*
- **Secreción de inmunoglobulinas:** *GPI*
- **Quimio-atracción de linfocitos T:** *CXCL9*
- **Citocinas inflamatorias:** *IL-21*, *IFNG*, *IL-17*
- **Inhibidor de la apoptosis:** *AATF*

- **Activación de mecanismos reguladores:** *FOXp3*, *GBP1* y *TNFRSF9*
- **Reciclaje de proteínas aberrantes:** *PSMD9*

Moreno-Torres I et al. Front Immunol 2018;9:1693

Investigación traslacional en EM



Sensibilidad: 85%
 Especificidad: 95%
 Valor predictivo positivo (VPP): 85%
 Valor predictivo negativo (VPN): 95%.
 El ECM (error cuadrático medio): 0.1111438

Moreno-Torres I et al. Front Immunol 2018;9:1693

Investigación traslacional en EM

Continuación:

Solicitud admitida en la convocatoria PI 2021

Investigación colaborativa

Grupo colaborador: **REEM**

- Envío de muestras de pacientes de EM desde nuestro biobanco en los proyectos liderados por otros miembros del grupo

Miembro colaborador del equipo de investigación en la solicitud de I grupo de investigación **RICORS**, enfermedades desmielinizantes, con número de expediente RD21/0002/0046

redEspañolade
esclerosis múltiple

Subpoblaciones B, T, NK citometría y RNA-seq(LCR y S) (P)	
IL17, IL6, IL1, TNFa (S y LCR) (P)	
Neurofilamentos (LCR y S) (P y G)	
SIT de IgM (S, LCR) (P)	
FGF-2 / anosmina1 (LCR y S) (P)	
RM basal, 6m 12 y anual, convencional y medidas de atrofia (P)	
<i>Seguimiento de la marcha en EMP con telemetría de sensores de movimiento (P)</i>	
<i>ESTABLECIMIENTO DE REGISTRO ESPAÑOL DE EM, CLÍNICO Y DE INVESTIGACIÓN (P y G)</i>	

Investigación colaborativa

CONVOCATORIA DE COLABORACIÓN ENTRE EMEY REEM 2021
Hospital Getafe, Hospital Puerta de Hierro y FJD

**Monitorización del trastorno de la marcha mediante sensores de movimiento portátiles en
pacientes con esclerosis múltiple progresiva**

Ensayos clínicos previstos

Propuestas

COMBI57G3301 (STHENOS): Ofatumumab vs primeras líneas de tratamiento

COMBI57G23101 (ARTIOS): Ofatumumab en pacientes que vienen desde dimetilfumarato

Investigación traslacional en EM

Grupo de enfermedades desmielinizantes

¿Qué buscamos?

- Continuar nuestra investigación de marcadores de respuesta celulares y moleculares a los diferentes tratamientos modificadores de la enfermedad

¿Qué tenemos?

- **Datos:** variables clínicas y demográficas de los pacientes. Respuesta a los tratamientos.
- **Muestras:** Biobanco (PBMCs pretratamiento y cada 6 meses, LCR y suero al diagnóstico)

¿Qué necesitamos?

- Colaboración con inmunología para el diseño de los paneles de citometría
- Asesoría en técnicas de biología molecular: extracción de RNAseq, librerías, secuenciación.
- Apoyo bioinformático y bioestadístico

Gracias