Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

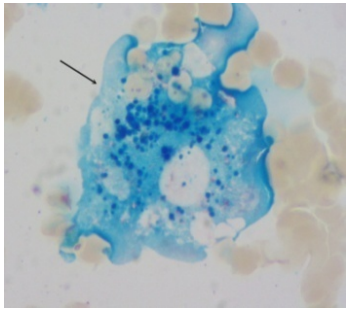
eman ta zabal zazu
Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

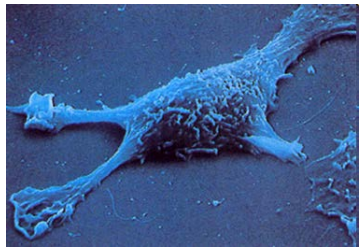
Estudio de las alteraciones inmunes en las histiocitosis y su aplicación en la búsqueda de biomarcadores para sepsis graves y nuevas terapias frente a leucemias

Itziar Astigarraga/Mª Dolores Boyano
Servicio de Pediatría. HU Cruces. UPV/EHU
Departamento Biología Celular. UPV/EHU

¿Qué son las histiocitosis?

- Grupo de enfermedades raras
- Proliferación histiocitos en órganos y tejidos
- Cáncer?
  - Proliferación clonal
  - Responden a quimioterapia





- Proceso reactivo tipo alteración inmune?
  - Diferentes tipo de células
  - Posibilidad de regresión espontánea

Tipos de Histiocitosis

- Gran Heterogeneidad y controversia
  - Clínica, Diagnóstico, Tratamiento, Pronóstico

- Clasificación Histiocyte Society (1987, 1997)
  - H. relacionadas con las células dendríticas: HCL
  - H. relacionadas con los macrófagos: HLH
  - H. Malignas

- OMS: Tumores de Tejidos hematopoyéticos y Linfoides

RNTI-SEHOP

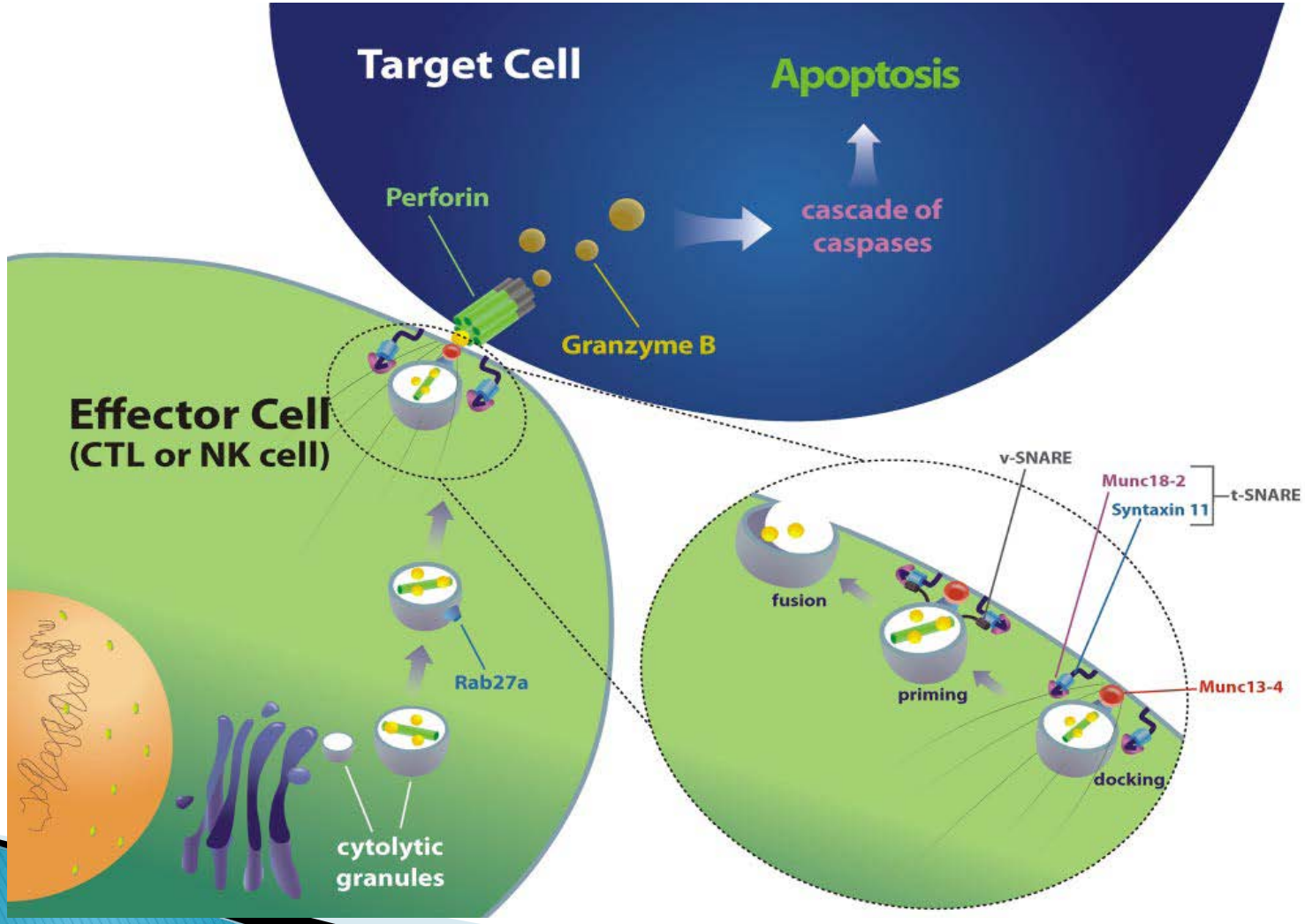
Linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH)

- Síndrome:
  - No es una enfermedad única
  - Grupo de enfermedades (inmunodeficiencias)

- Activación inmune patológica
  - En ciertas condiciones familiares o esporádicas
  - Infecciones como desencadenantes frecuentes

- Respuesta inflamatoria excesiva
  - Proliferación incontrolada de linfocitos activados e histiocitos: Síntomas y signos clínicos

Avances: Genética y M. Citotoxicidad



Hipótesis

- Fallo en los mecanismos de citotoxicidad?
  - Sepsis graves: problema de salud pública
    - Leucemias: cáncer más frecuente en niños

- Identificación de biomarcadores diagnósticos?
    - Proteínas?
    - Citocinas?
    - Celulares?

- Aplicaciones terapéuticas?

Lecciones aprendidas de HLH

- Nuevos marcadores incorporados a la clínica
  - CD25s>2.400 U/ml: Criterio diagnóstico 2004
  - CD163: Activación macrofágica

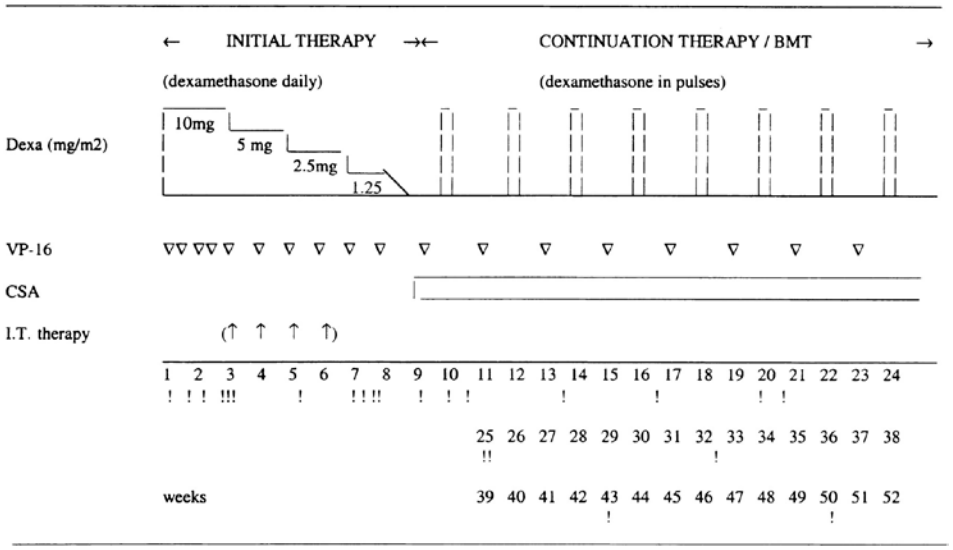
- Terapias específicas frente a HLH
  - Nuevos fármacos: Anti-interferón gamma
    - Ensayo clínico: Novimmune
  - Útiles para nuevas terapias de rescate en LLA
    - Frenar tormenta de citocinas en CARs

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea

Nuestra investigación

Colaboración internacional para el desarrollo del protocolo HLH-2004



HISTIOCYTE SOCIETY

To Learn More:

HISTIOCYTOSIS ASSOCIATION
A Rare Community

Coordinación de histiocitosis en España

1

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH-2004 / Histiocyte Society)

PRIMARY DIAGNOSTIC CRITERIA REPORT
(Send to local subcenter/coordinator after confirmation of diagnosis)

THE REPORT IS SENT FROM Date of report: Year..... Month..... Day.....

Doctor.....
Department.....
Hospital.....
Address.....
.....
.....
Tel..... Fax.....

PATIENT DATA A parent has agreed to the HLH-2004 study o Yes
The patient has agreed to the HLH-2004 study o Yes

Family name..... Given name.....
Year of birth..... Month of birth..... Day of birth..... Sex: female o male o

Relative with HLH: No o Yes o Relation: .....

CLINICAL FEATURES (at diagnosis) (see page 15 of the protocol for the diagnostic criteria)

Diagnosis of HLH (and date): No o Yes o Year ..... Month ..... Day .....

Fever ≥38.5°C No o Yes o
Splenomegaly No o Yes o ..... below costal margin (in centimeter)

LABORATORY DATA Please report at least the first five of the laboratory tests below (max pathologic value)

Hemoglobin <90 g/L No o Yes o Not done o ..... g/L (<100 if age <4wks)
Neutrophils <1.0 x10^9/L No o Yes o Not done o ..... x10^9/L
Platelets <100 x10^9/L No o Yes o Not done o ..... x10^9/L
Triglycerides ≥ 3.0 mmol/L No o Yes o Not done o ..... mmol/L (eqv ≥265 mg/dL)
Fibrinogen ≤1.5 g/L No o Yes o Not done o ..... g/L (eqv to ≤150 mg/dL)

Ferritin >500 µg/L No o Yes o Not done o ..... µg/L (eqv to>500 ng/mL)
Soluble IL-2receptor >2400 U/ml No o Yes o Not done o ..... U/mL (also called sCD25)
NK-cell activity low/absent No o Yes o Not done o

HISTOPATHOLOGY/CYTOLOGY

Hemophagocytosis No o Yes o If yes, organ(s)?.....

GENETICS

Perforin FACS expression absent No o Yes o Not analyzed o
Perforin mutation No o Yes o Not analyzed o
If yes: Missense o Nonsense o
If yes, specify mutation: .....
HMunc 13-4 mutation No o Yes o Not analyzed o
Other mutation causing HLH No o Yes o Not analyzed o
If yes, specify: .....

END!

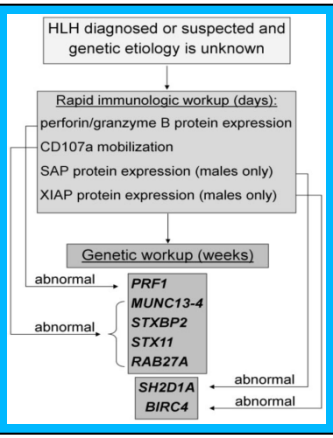
SEHOP
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA PEDIÁTRICAS

Nuestra investigación

Estudios epidemiológicos

Red hospitalaria estatal para detectar casos hereditarios y formas secundarias

Hospital General Universitario Gregorio Marañón
SaludMadrid
Comunidad de Madrid



PROYECTO: Linfohistiocitosis hemofagocítica: detección y registro de casos familiares y secundarios. Caracterización genética e inmunológica. Elaboración y difusión de las recomendaciones de diagnóstico y tratamiento.

bio eusko fundazioa
eitb.com

Gurutzeta Ospitalea
Hospital Cruces

Integración datos clínicos diagnósticos, moleculares, tratamiento y evolución

HIS HISTIOCYTE SOCIETY

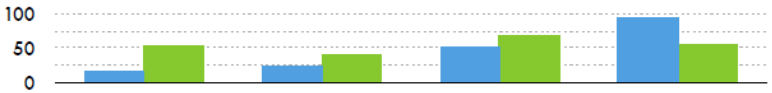
Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea

Estudios epidemiológicos

Estudios epidemiológicos: elaboración del primer censo en colaboración con asociación de pacientes ACHE y 30 hospitales estatales

Proyecto de Elaboración del Censo de Afectados



Censo de Afectados

Se estima que esta enfermedad afecta a 1 de cada 200.000 personas al año, si bien esta cifra podría ser superior por la dificultad y el tiempo que se tarda en diagnosticarse. Dentro del objetivo prioritario de la Asociación Española contra la Histiocitosis, de

promover la investigación y el conocimiento sobre la enfermedad, en el Día Nacional de la Histiocitosis se presentó la puesta en marcha del Proyecto de Elaboración de un Censo de Afectados en España, destacando el respaldo de la Fundación Inocente Inocente, y de la Federación Española de Enfermedades Raras –Feder-

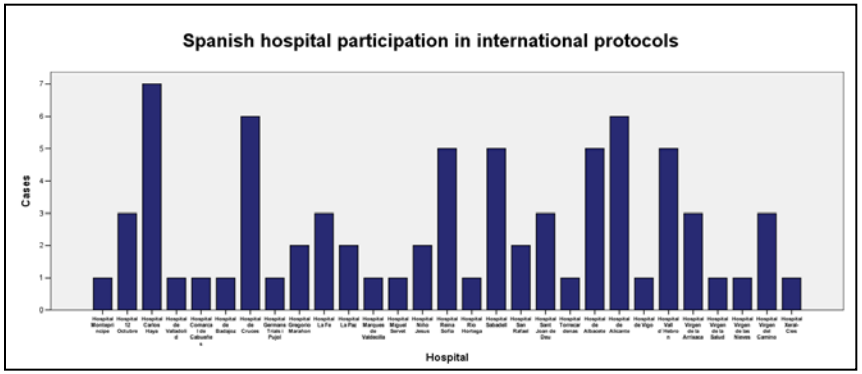
Para su ejecución hemos contado con la colaboración de la Dra. Itziar Astigarraga y la Investigadora Susana García Obregon.

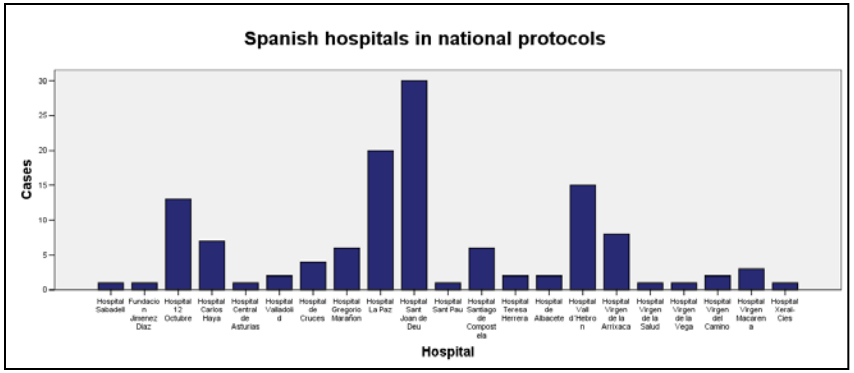
La Dra. Astigarraga es jefa del servicio de pediatría del Hospital de Cruces de Barakaldo, miembro del Comité Científico de la Sociedad Internacional del Histiocito, coordinadora estatal de los Protocolos de Histiocitosis dentro de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas y colaboradora de la Asociación.

ACHE Asociación Española contra la Histiocitosis — luchando por una cura

FUNDACIÓN INOCENTE INOCENTE

Entidad de Utilidad Pública FEDER Federación Española de Enfermedades Raras





Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

Estudios biológicos

OBJETIVO GENERAL: Identificación de nuevos biomarcadores de inflamación y activación linfomonocitaria para desarrollar nuevas herramientas diagnósticas en las sepsis graves y síndromes hemofagocíticos

Saiotek 2010-2011 //Saiotek 2012

UPV/Sociedad 2010-2012

Gobierno vasco 2012

GRUPO spri
EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
EKONOMIAREN GARAPEN ETA LEHIAKORTASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE DESARROLLO ECONÓMICO Y COMPETITIVIDAD

Universidad del P
Euskal Herriko

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
OSASUN ETA KONTSUMO SAILA
DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y CONSUMO

Grupos de pacientes

- Grupo I: Pacientes diagnosticados de sepsis grave

Definida como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica causada por un proceso infeccioso con disfunción orgánica aguda o disfunción multiorgánica que incluye encefalopatía, fallo hepático, proceso respiratorio agudo, insuficiencia renal aguda, miopatía o polineuropatía de enfermedad grave, shock séptico y coagulación intravascular diseminada.

- Grupo II: Pacientes diagnosticados de síndromes hemofagocítico o linfohistiocitosis hemofagocítica

De acuerdo a los criterios publicados en 2007 de HS

- Grupo III: Controles

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

Estudios

1. Obtención de muestra en los diferentes servicios: 202 MUESTRAS

2. Estudio de los marcadores séricos mediante ELISA pacientes vs controles : Interleucinas , Moléculas de adhesión linfocitaría y otras proteínas inflamatorias

3. Estudio del perfil proteómico en el suero de los pacientes vs controles

4. Validación de los resultados obtenidos

5. Correlación con los datos clínicos (*)

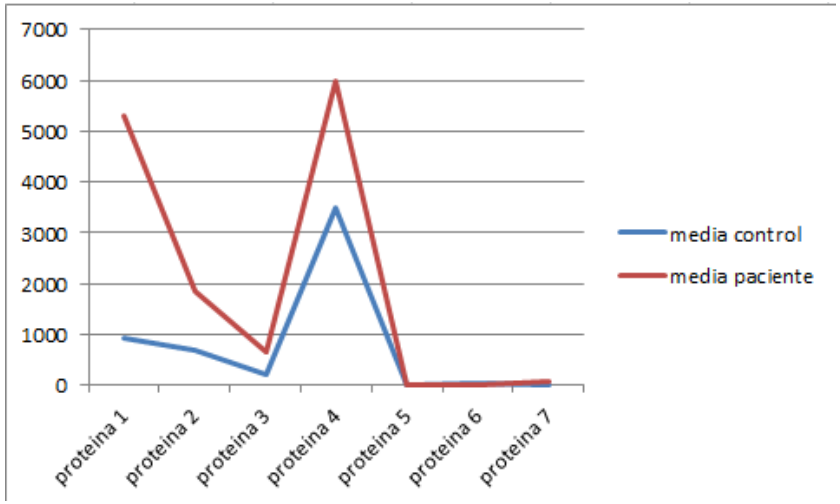
6. Análisis de los datos para su publicación (*)

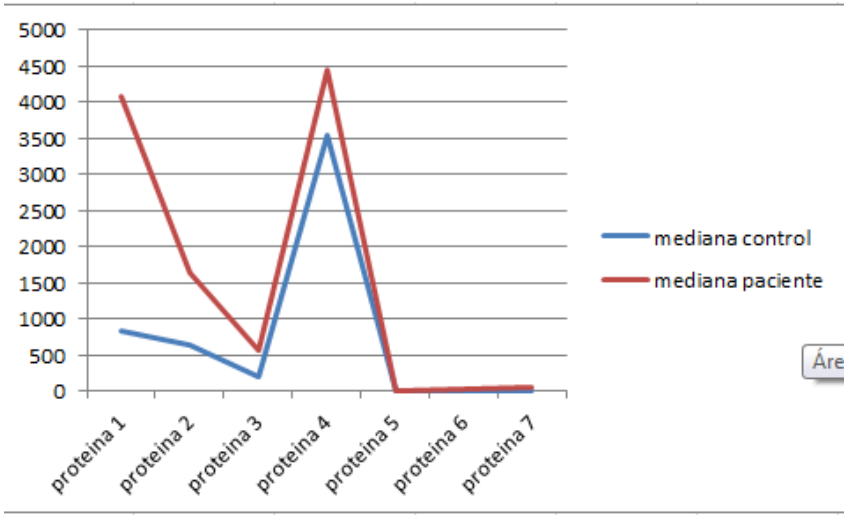
7. Desarrollo de paneles diagnósticos que se puedan aplicar a la práctica clínica (*)

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

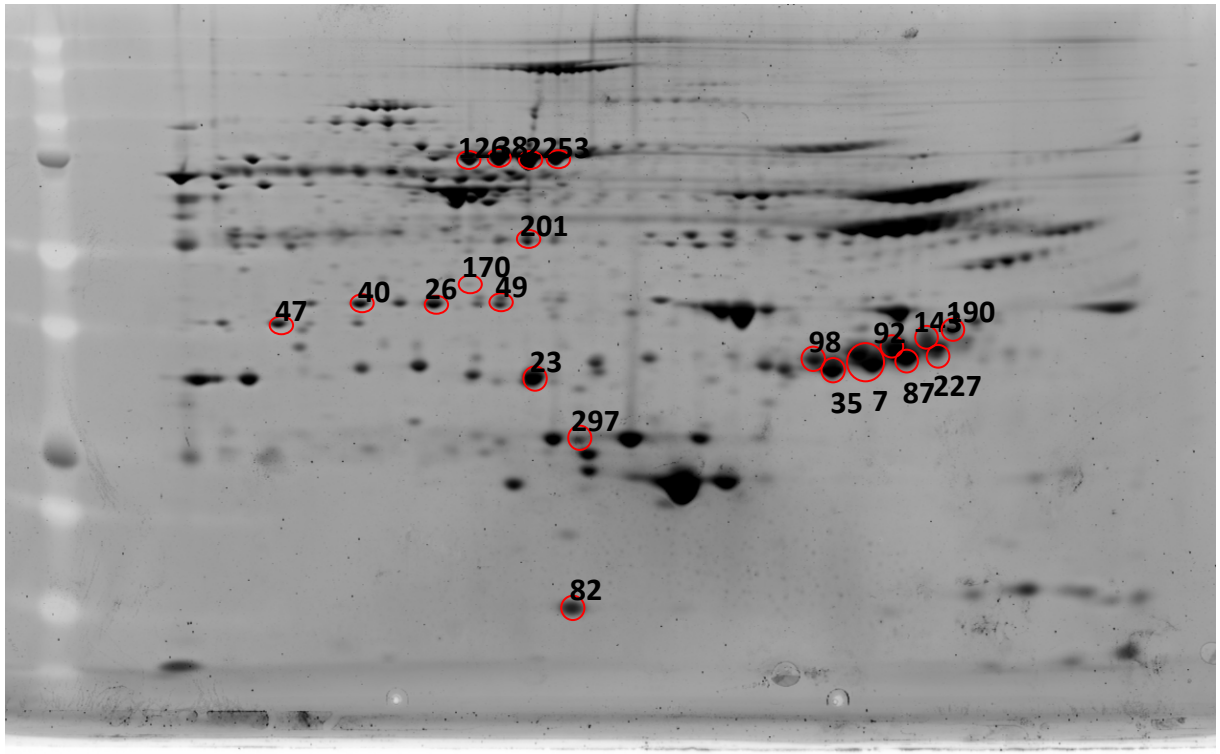
Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

Algunos resultados de ELISA





La mayoría de las proteínas analizadas presentan diferencias significativas en las medias y medianas de concentración entre pacientes y controles

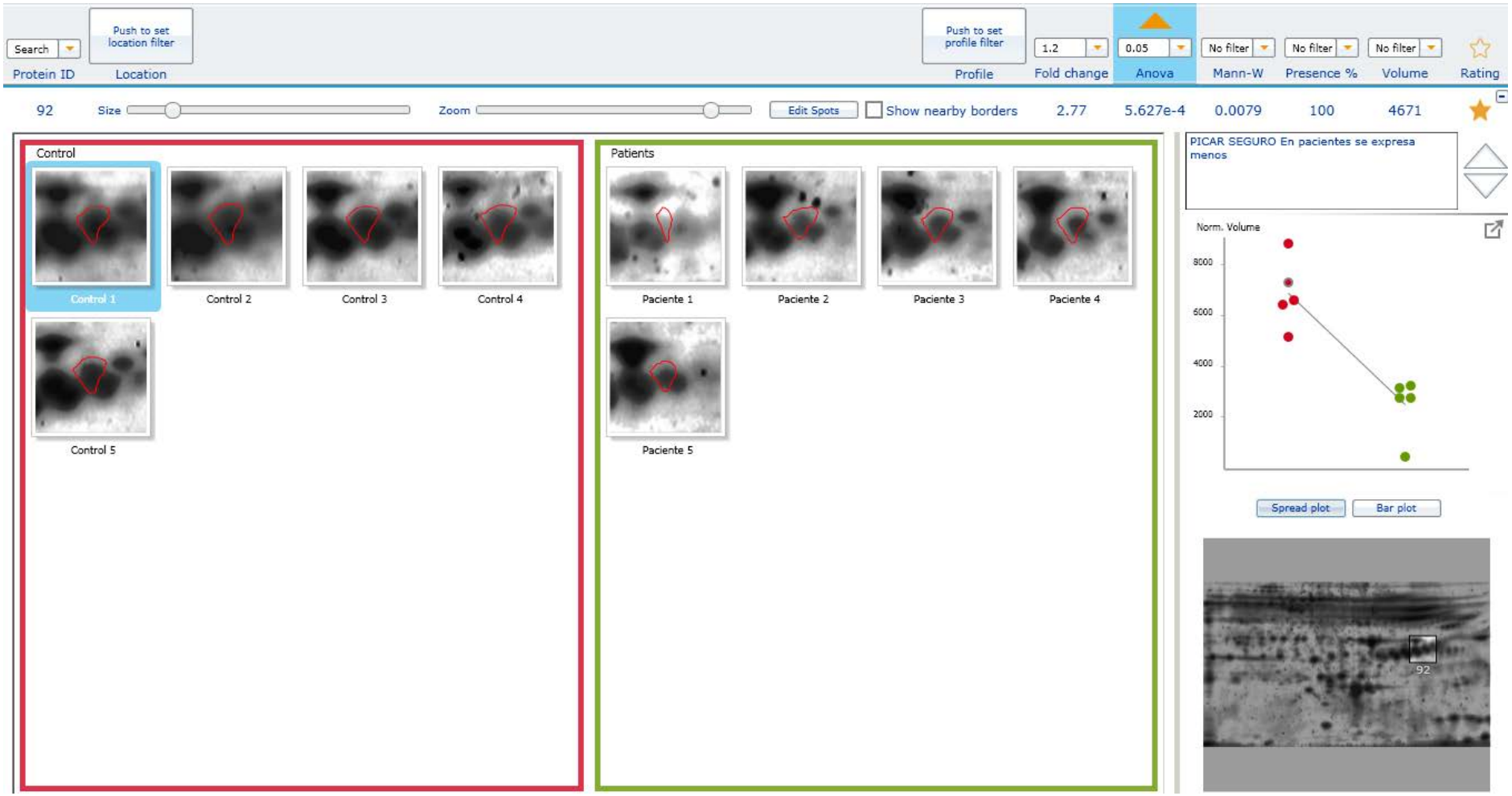


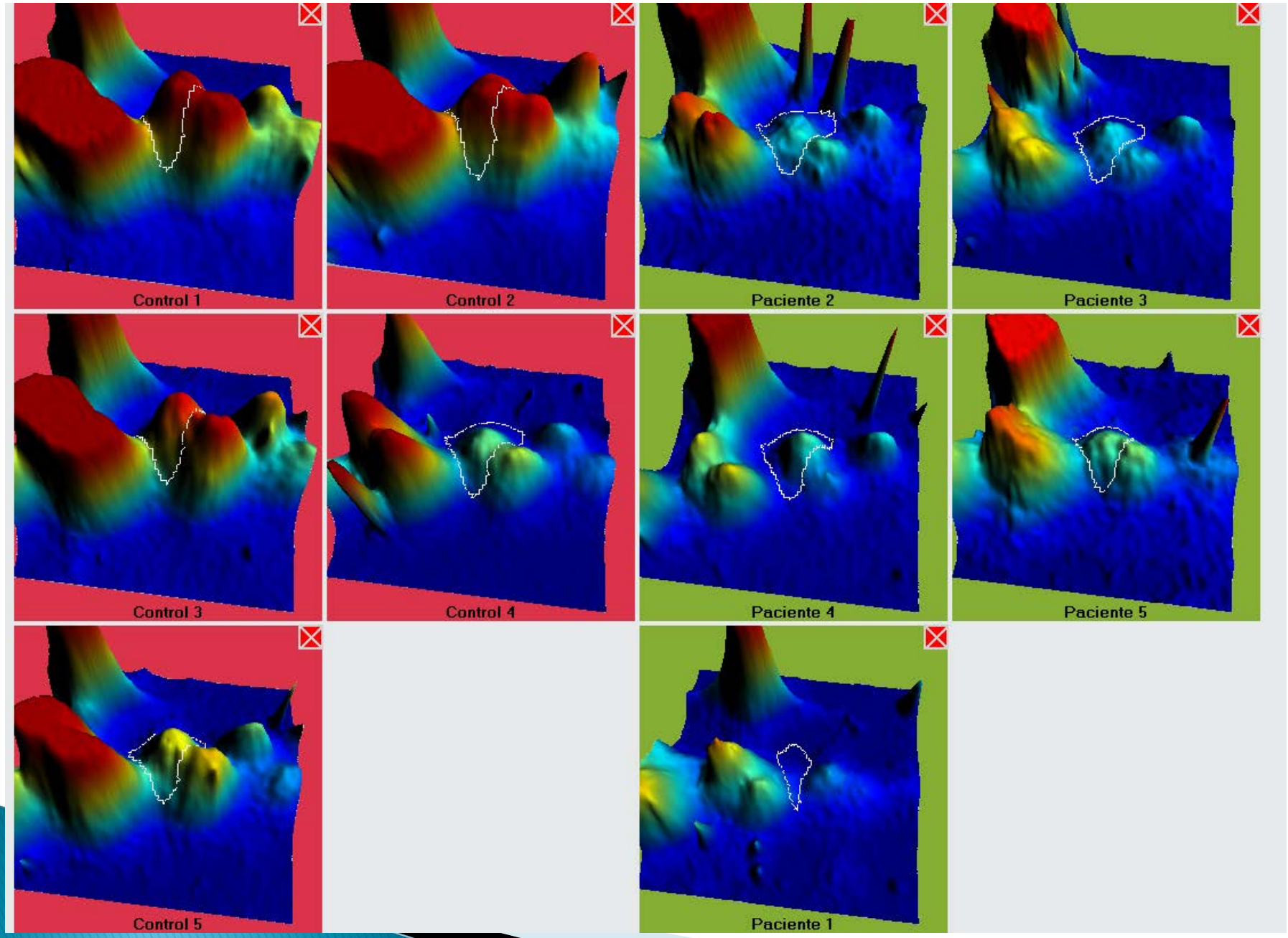
CONTROLES

PACIENTES

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea




Control 1
Control 2
Paciente 2
Paciente 3
Control 3
Control 4
Paciente 4
Paciente 5
Control 5
Paciente 1

Opinion TRENDS in Molecular Medicine Vol.11 No.2 February 2005
Full text provided by www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®

The 'cytokine profile': a code for sepsis

Luis Ulloa[1] and Kevin J. Tracey[1,2]

[1]Center of Immunology and Inflammation, North Shore-LIJ Research Institute, 350 Community Drive, Manhasset, NY 11030, USA
[2]Center for Patient-Oriented Research, North Shore-LIJ Research Institute, 350 Community Drive, Manhasset, NY 11030, USA

Cytokine Profile in Fatal Human Immunodeficiency Virus–Tuberculosis–Epstein-Barr Virus–Associated Hemophagocytic Syndrome

Hemophagocytic syndrome (HPS), characterized by fever, lymphadenopathy, hepatosplenomegaly, and pancytopenia, results from the abnormal function and proliferation of macrophages and their uncontrolled phagocytosis of various reticuloendothelial cell lines. Secondary (or "reactive") HPS is associated with infection, malignancy, or autoimmune diseases, whereas primary HPS has no identifiable cause and may be genetic. Reactive HPS has been described in association with infectious agents, but Epstein-Barr virus (EBV) is the most commonly associated infection, and EBV-associated HPS is almost universally fatal.[1] At present, there is no diagnostic or treatment consensus, so HPS is generally dealt with on a case-by-case basis, depending on the associated infection(s) identified.

Rev Assoc Med Bras. 2012 Jun;58(3):376-82.

Proteomic updates on sepsis.

[Article in English, Portuguese]

Siqueira-Batista R, Mendonça EG, Gomes AP, Vitorino RR, Miyadahira R, Alvarez-Perez MC, Oliveira MG.

Department of Medicine and Nursing and at the Department of Biochemistry and Molecular Biology, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brazil. rsbatista@ufv.br

PLoS One. 2013;8(1):e54237. doi: 10.1371/journal.pone.0054237. Epub 2013 Jan 23.

Identification of novel biomarkers for sepsis prognosis via urinary proteomic analysis using iTRAQ labeling and 2D-LC-MS/MS.

Su L, Cao L, Zhou R, Jiang Z, Xiao K, Kong W, Wang H, Deng J, Wen B, Tan F, Zhang Y, Xie L.

Department of Respiratory Medicine, Hainan Branch of Chinese PLA General Hospital, Sanya, Hainan Province, China.

Mol Cell Proteomics. 2012 Jun;11(6):M111.013094. doi: 10.1074/mcp.M111.013094. Epub 2012 Jan 10.

Chitinase-like proteins are candidate biomarkers for sepsis-induced acute kidney injury.

Maddens B, Ghesquière B, Vanholder R, Demon D, Vanmassenhove J, Gevaert K, Meyer E.

Department of Pharmacology, Toxicology and Biochemistry, Ghent University, Salisburylaan, Belgium.

ELSEVIER

Critical Care Clinics

Volume 27, Issue 2, April 2011, Pages 407–419

Biomarkers in the Critically Ill Patient

Biomarkers: The Future

Steven P. LaRosa, MD[a, b], Steven M. Opal, MD[a, c]

[a] Warren Alpert School of Medicine, Brown University, 171 Meeting Street, Providence, RI 02912, USA

[b] Division of Infectious Diseases, Rhode Island Hospital, POB Suite #330, 593 Eddy Street, Providence, RI 02903, USA

[c] Division of Infectious Diseases, Memorial Hospital, 111 Brewster Street, Pawtucket, RI 02860, USA

Critical Care and Trauma
Section Editor: Jukka Takala

Brief Report

Changes in the Serum Proteome of Patients with Sepsis and Septic Shock

Armin Kalenka, MD*
Robert E. Feldmann, Jr., PhD†
Kevin Otero*
Martin H. Maurer, MD†
Klaus F. Waschke, MD*
Fritz Fiedler, MD*

BACKGROUND: Sepsis is still the leading cause of death in the intensive care unit. Our goal was to elucidate potential early differences in serum between survivors (SURV) and non-survivors (NON-SURV) on day 28.
METHODS: We applied proteomic technology to serum samples of patients with sepsis and septic shock. Serum samples from 18 patients with sepsis and septic shock were obtained during the first 12 h after diagnosis of septic shock. Patients were grouped into SURV and NON-SURV on day 28.
RESULTS: Seven patients survived and 11 patients died. Using proteome analysis, two-dimensional gel electrophoresis detected more than 200 spots per gel. A differential protein expression was discovered between SURV and NON-SURV, whereby protein alterations not yet described in sepsis were revealed.
CONCLUSIONS: Our results show that proteomic profiling is a useful approach for detecting protein expression dynamics in septic patients, and may bring us closer to achieving a comprehensive molecular profiling compared with genetic studies alone.

(Anesth Analg 2006;103:1522-6)

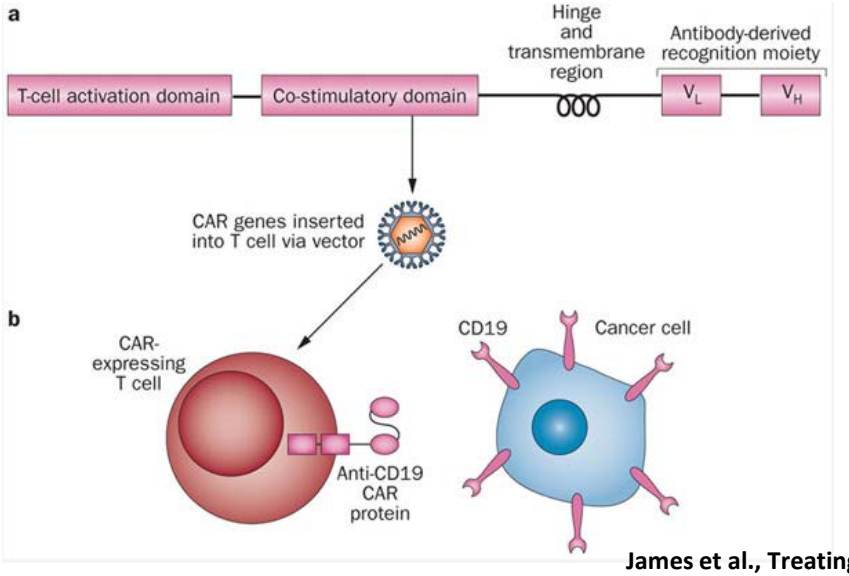
Retos actuales en sepsis

- Recogida de datos clínicos y análisis con los parámetros biológicos obtenidos
- Validación resultados en una muestra mayor
- Estudios celulares mediante técnicas de citometría de flujo

Retos en leucemias

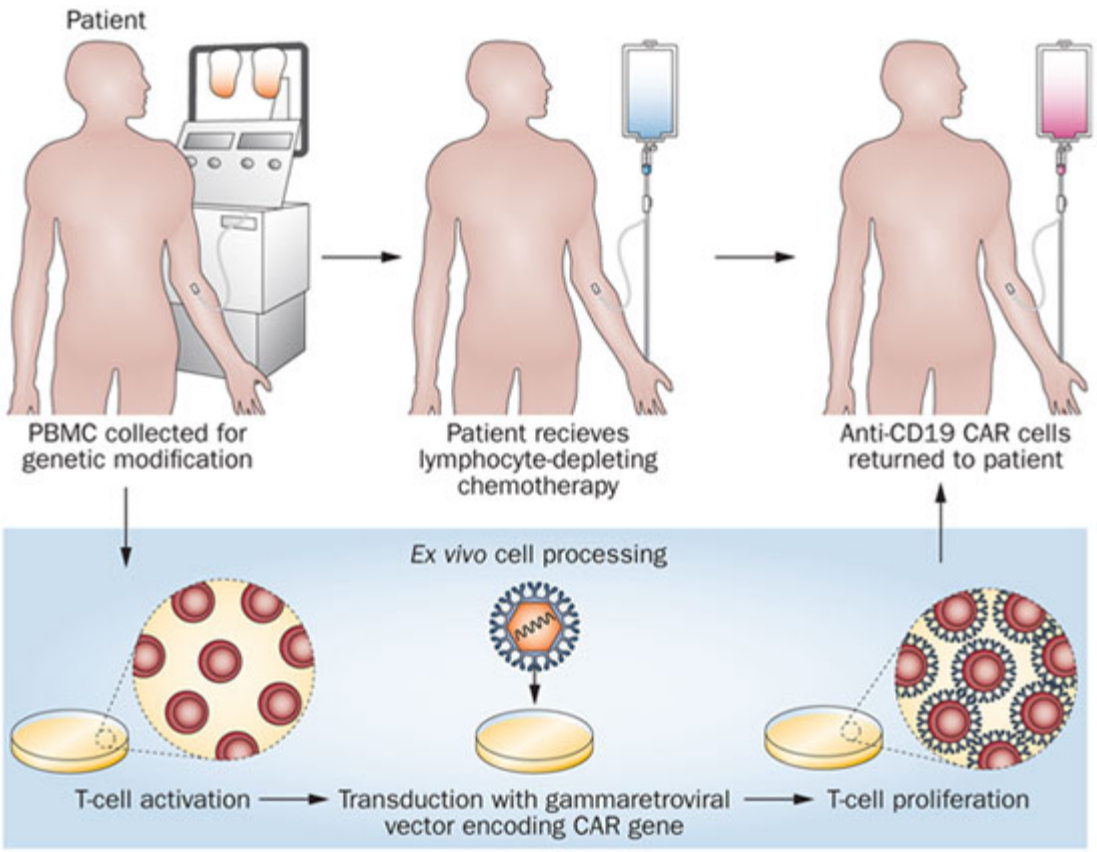
- Proyecto actual NK en tumores sólidos: INMUNOTERAPIA CON CÉLULAS NATURAL KILLER EN EL CÁNCER INFANTIL.
- Nuevas terapias en leucemias refractarias?

CARs.



a | CARs usually include a T-cell activation domain, one or more co-stimulatory domains, a hinge region, a cell membrane-spanning transmembrane domain, and an antigen-recognition moiety that is usually derived from an antibody. b | A schematic of an anti-CD19 CAR-expressing T cell recognizing a CD19+ malignant cell is shown. Abbreviation: CAR, chimeric antigen receptor.

James et al., Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. Nature Reviews Clinical Oncology 10, 267-276 (May 2013)



James et al., Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. Nature Reviews Clinical Oncology 10, 267-276 (May 2013)

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

TRANSFERENCIA: PANEL DE BIOMARCADORES PARA MEJORAR EL DIAGNÓSTICO EN SEPSIS GRAVES Y HLH NUEVAS TERAPIAS PARA LEUCEMIAS

Itziar.astigarraga@osakidetza.net