

ΡΑΦ

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ-ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

Κ.Α. Δημόπουλος

*Καθηγητής Βιοχημείας & Χημείας Τροφίμων
Διευθυντής Εργαστηρίου Βιοχημείας,*

Τμήματος Χημείας,

Εθνικού & Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Barbaro and Zvaifler (1966) Proc.Soc.Exp.Biol.Med.122:1245



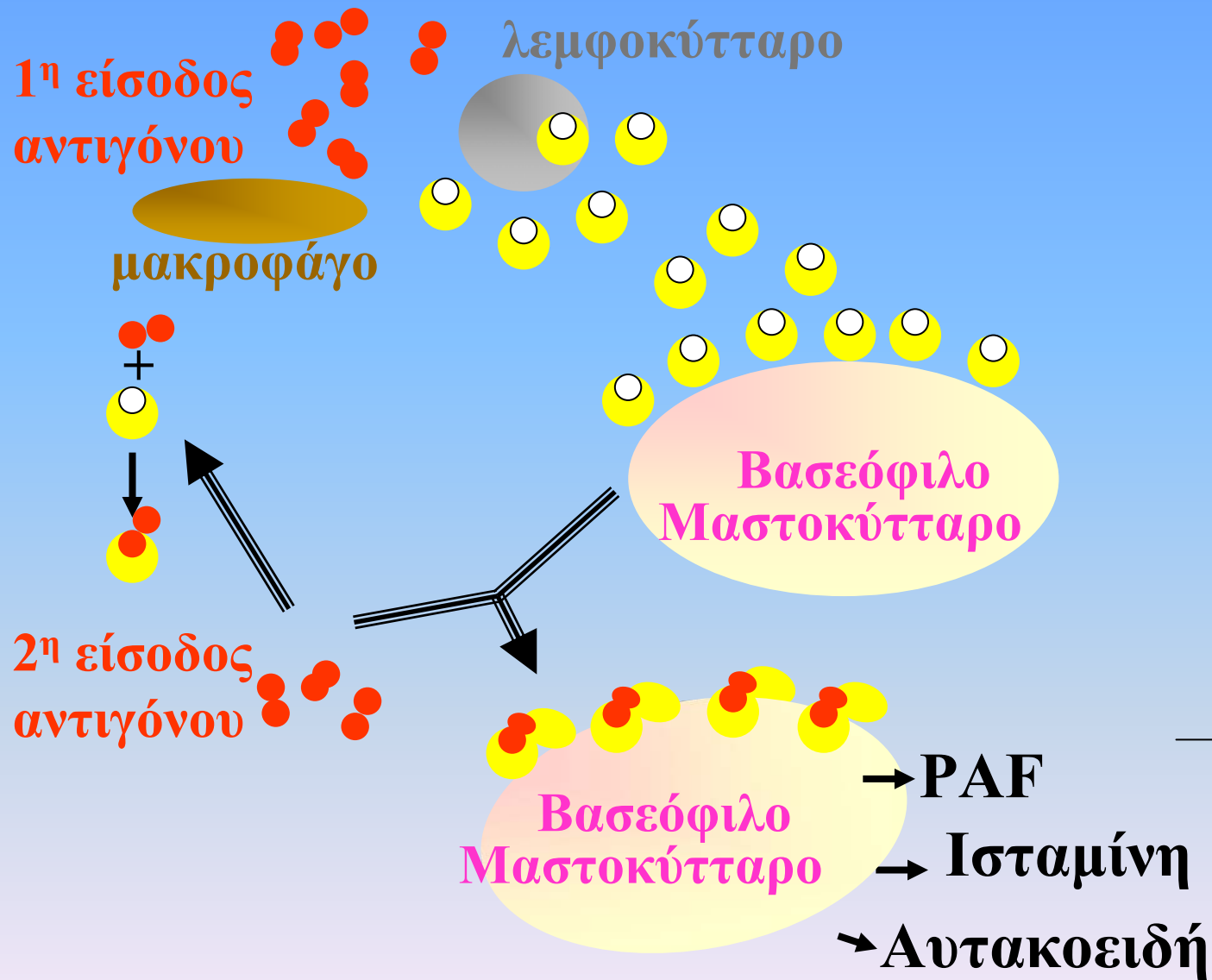
Henson (1970) J.Exp.Med. 131:287



Siraganian and Olser (1971) J. Immunol. 106:1244

Benveniste, Henson, Cochrane (1972) J.Exp.Med. 136:1356

Υπερευαισθησία άμεσου τύπου. Τύπος I (κατά Coombs and Gell)

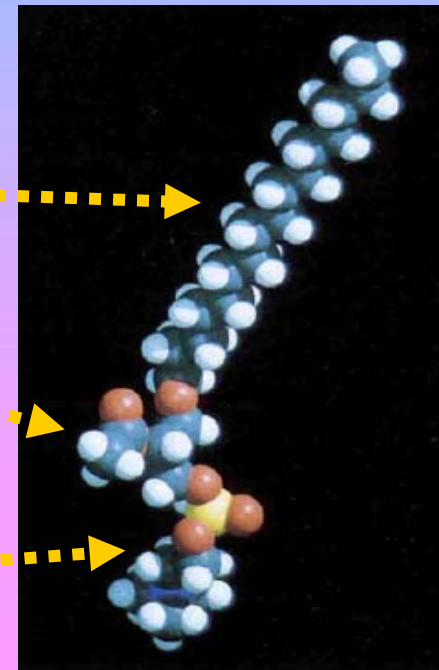
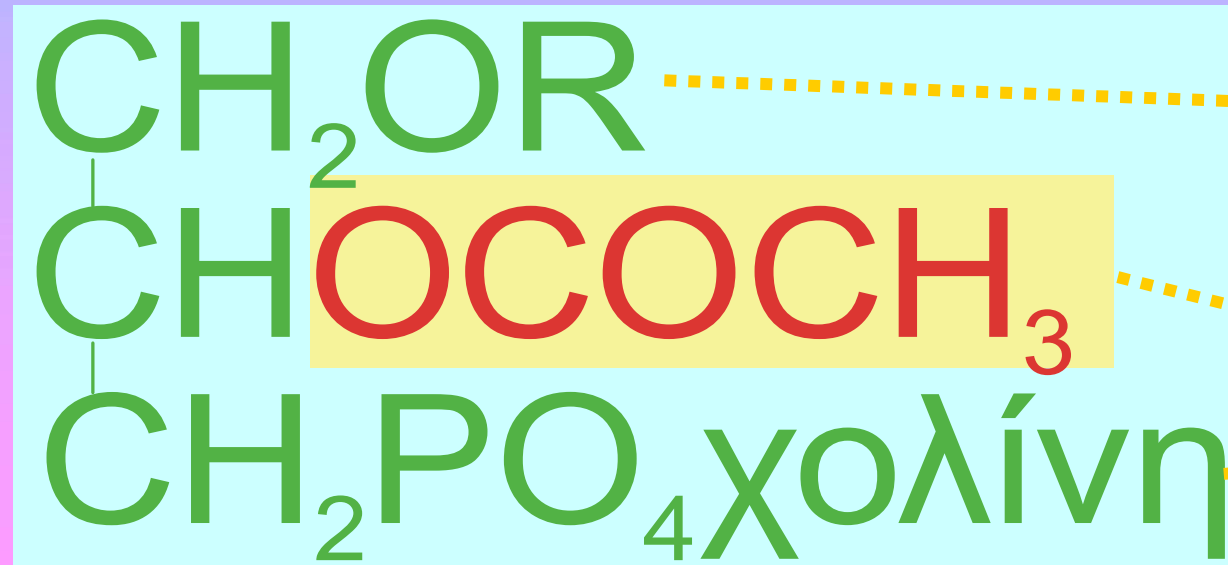


ΑΛΛΕΡΓΙΑ
• Pirquet (1906)
Munchen med
Wehnschr,
53:1457

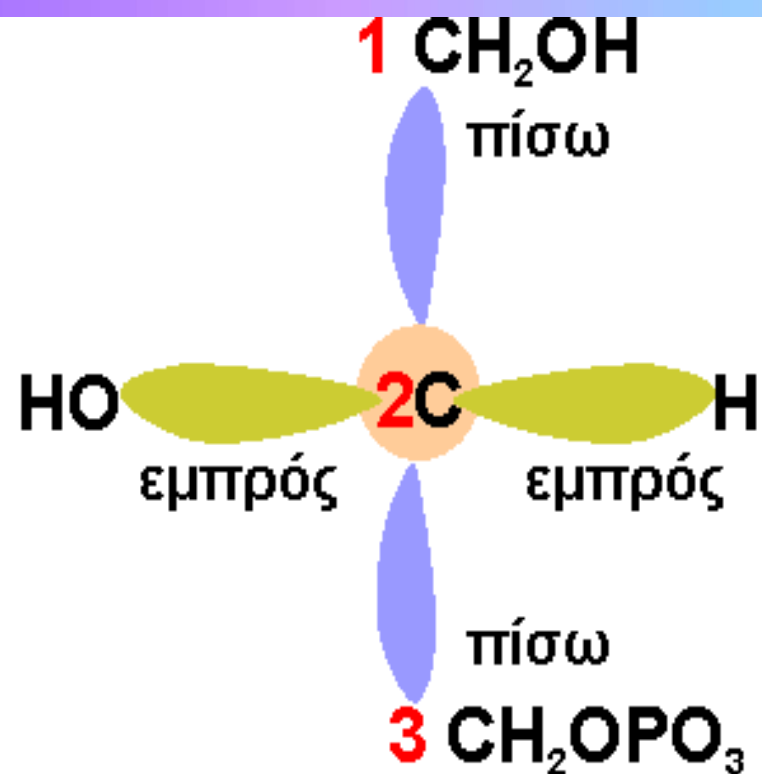
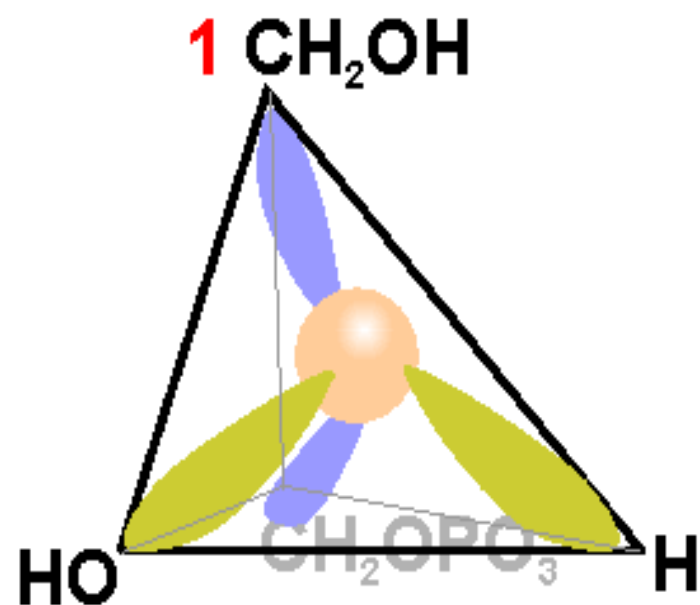
- **Platelet-Activating Factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphoryl- choline as the active component. (A new class of lipid chemical mediators).**

J. Biol. Chem. (1979) 254, 9355

C.A.Demopoulos, R.N.Pinckard and D.J.Hanahan



1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-*sn*-γλυκερο-3-φωσφο-χολίνη.



L-3-γλυκεροφωσφορικό οξύ
(ση-3-γλυκεροφωσφορικό οξύ)

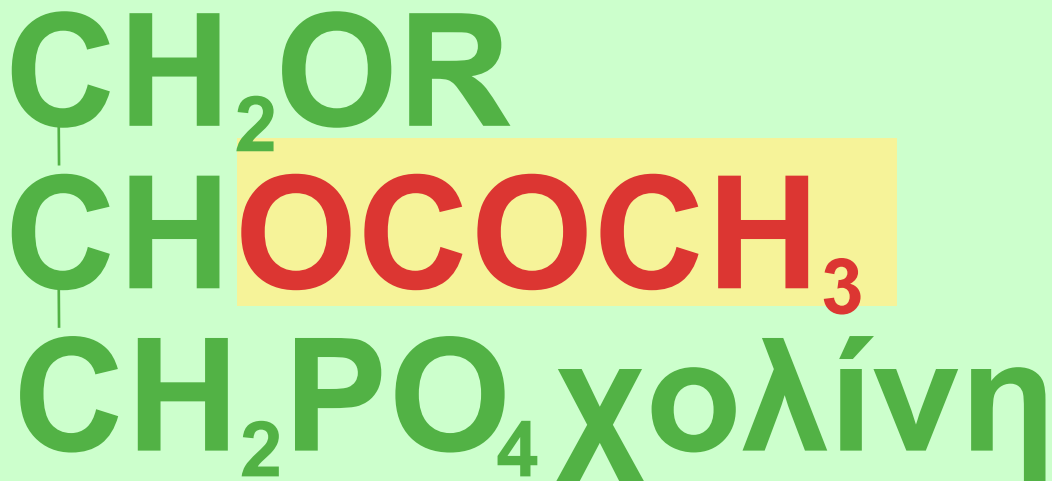


Συστατικό των
μεμβρανών
(καρδιά βοδιού)

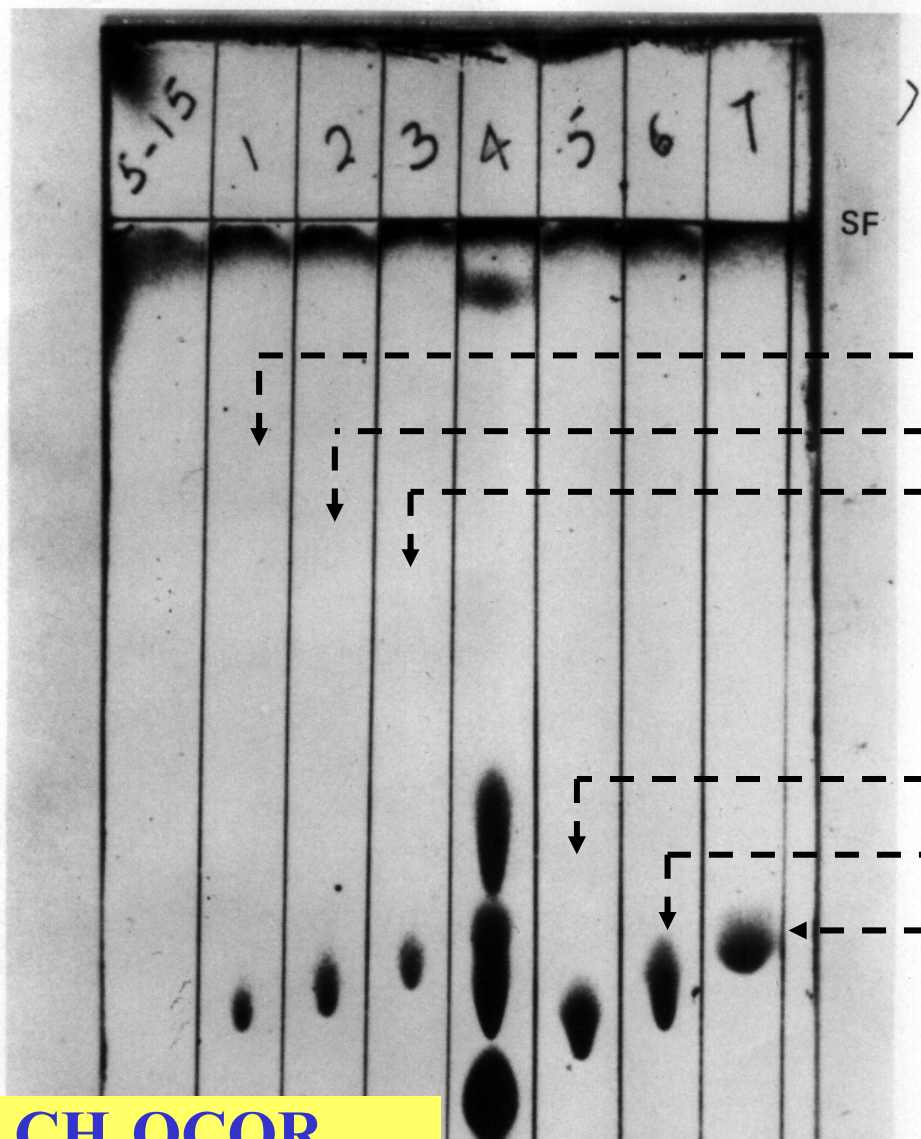
Ήπια
αλκαλική
υδρόλυση



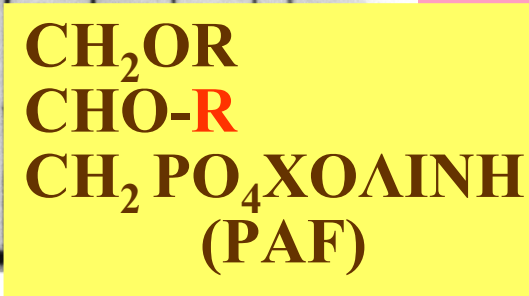
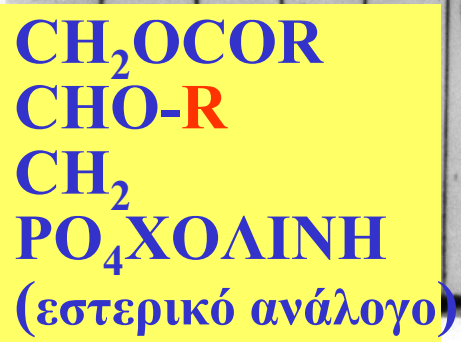
ακετυλίωση



- SIGMA Chem. Company
Product No :P9525, PAF
- SUPELCO Inc.
Product No :4-6104, PAF



1. ακυλο-ακετυλο-PAF
2. ακυλο-προπιονυλο-PAF
3. ακυλο-βουτυρυλο-PAF
4. πρότυπα λιποειδή
5. αλκυλο-ακετυλο-PAF
6. αλκυλο-προπιονυλο-PAF
7. αλκυλο-βουτυρυλο-PAF





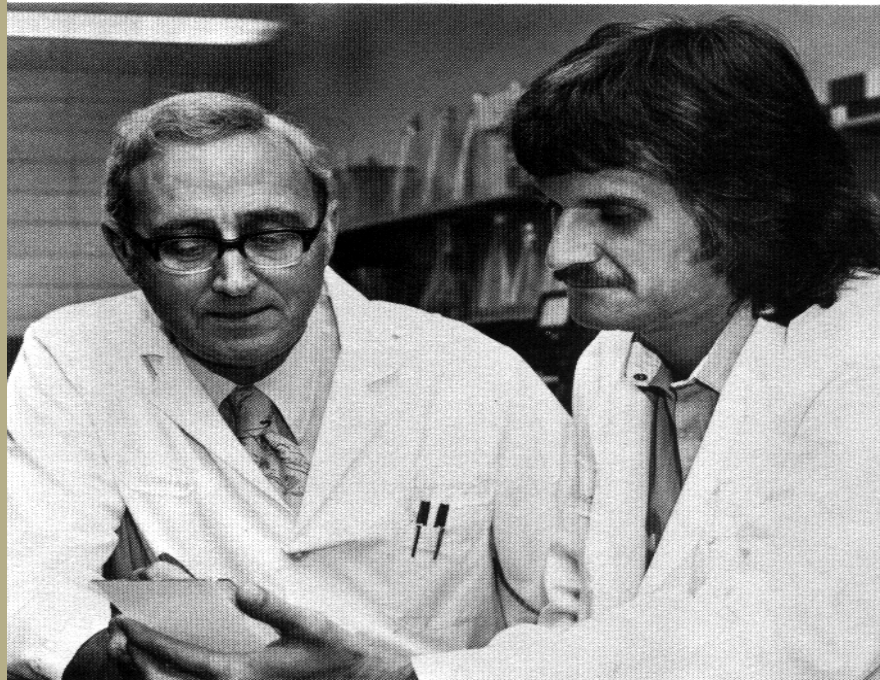
San Antonio Light

FIRST IN TEXAS COMMUNITY SERVICE

WEDNESDAY, OCT. 31, 1979

TS

**Professor
D.J.Hanahan
Department of
Biochemistry,
Unin. of Texas,
at San Antonio**



**Professor
R.N.Pinckard
Department of
Pathology,
Unin. of Texas,
at San Antonio**

Breakthrough In Allergy Ills

Scientists at the University of Texas Health Science Center at San Antonio have made an important breakthrough in the treatment and prevention of the allergic diseases that afflict more than 40 million Americans.

Drs. R. Neal Pinckard, professor of pathology and medicine, and Donald J. Hanahan, professor and chairman of biochemistry, have isolated, chemically analyzed, and synthesized a new chemical compound which causes most of the same symptoms of mild and severe allergic problems.

Their discovery is expected to

Trust of San Antonio.

"There will be research in this area for many years, to come," Pinckard said.

"Our long-range goal is to help explain the basic mechanisms underlying the development of allergic reactions, and possibly find a way to treat or prevent them."

"Since we now understand the structure of this chemical, we can investigate why and how it causes allergy symptoms, and then learn to modify them," he added.

Pinckard and Hanahan have named the chemical Acetyl Glyceryl Ether Mediator, or AGEM.

• **Identification of naturally occurring Platelet-Activating Factor as acetyl-glycerol-ether-phosphorylcholine.**

J. Biol. Chem. (1980) 255, 5514

D.J.Hanahan, C.A.Demopoulos, J.Liehr and R.N.Pinckard



→ αίμα

Λευκοκύτταρα
(8-10% βασεόφιλα)

Διέγερση με
ειδικό αντιγόνο

Εκχύλιση PAF

Απομόνωση PAF

Ευαισθητοποιημένο ζώο

Πιστοποίηση δομής φυσικού PAF
με Αέριο Χρωματογραφία και
Φασματομετρία Μάζας

Nature (1980) 285:193

NEWS AND VIEWS

Platelet Activating Factor: Noel J. Cusack explains how the structure of PAF has been found

Nature (1980) 286:831

Editorial by J. Maddox (Editor of NATURE)

**European Journal
Of Lipid Science and Technology (2000)**
Official Journal of the German Society for Fat Science



**Professor
C.A. Demopoulos
Advisory Editor**

Editorial

State of lipid research in Greece

ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ ΤΟΝ PAF

- **1st International Symposium on Platelet-Activating Factor and structurally related ether-lipids. 26-29 June, 1983, Paris, France.**
- **2nd International Conference on Platelet-Activating Factor and structurally related alkyl ether-lipids. 26-29 October, 1986, Gatlinburg, Tennessee, USA.**
- **3rd International Conference on Platelet-Activating Factor and structurally related alkyl ether-lipids. 8-12 May, 1989, Tokyo, Japan.**
- **4th International Congress on Platelet-Activating Factor and related lipid mediators. 22-25 September, 1992, Snowbird, Utah, USA.**
- **5th International Congress on Platelet-Activating Factor and related lipid mediators. 12-16 September, 1995, Berlin, Germany.**
- **6th International Congress on Platelet-Activating Factor and related lipid mediators. 21-24 September, 1998, New Orleans, Louisiana, U.S.A..**
- **7th International Congress on Platelet-Activating Factor and related lipid mediators. 24-27 September, 2001, Tokyo, Japan.**
- **8th International Congress on Platelet-Activating Factor and related lipid mediators. 6-9 October, 2004, Berlin, Germany.**

ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ ΤΟΝ ΡΑΦ

- **1^ο Πανελλήνια Ημερίδα για τον Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (ΡΑΦ). 28 Νοεμβρίου 1987, Ιωάννινα.**
- **2^ο Πανελλήνιο Συμπόσιο για τον Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (ΡΑΦ). 5-6 Μαΐου 1990, Αθήνα.**
- **3^ο Πανελλήνιο Συμπόσιο για τον Παράγοντα Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (ΡΑΦ). 3 Δεκεμβρίου 1994, Ιωάννινα.**

• **Pathobiology of intravenous infusion of acetyl-glyceryl-ether-phosphoryl-choline, a synthetic Platelet-Activating Factor (PAF), in rabbit.**

J.Immunol. (1980) 124, 2919

L.M.McManus, D.J.Hanahan, C.A.Demopoulos and R.N.Pinckard



Χορήγηση φυσικού PAF
σε μη ευαισθητοποιημένο
ζώο.



Χορήγηση συνθετικού PAF
σε μη ευαισθητοποιημένο
ζώο.



Χορήγηση ειδικού αντιγόνου
σε ευαισθητοποιημένο ζώο
στο αντιγόνο αυτό.

• **Henson, Pinckard (1977), J.Immunol. 119:2179**

**Πλήρες
αλλεργικό σοκ**

• **2,4 μg PAF θάνατος
σε 2min.**
• **Συσσώρευση
αιμοπεταλίων κυρίως
στους πνεύμονες**

- **Halonen et al. (1980), Amer.Rev. Resp. Dis. 122:915**



Ο συνθετικός PAF προκαλεί ίδια αγγειακά-καρδιαγγειακά – αναπνευστικά προβλήματα με την αναφυλαξία.

- **Pinckard et al. (1980), Clin. Res. 28:350A**



Ο συνθετικός PAF προκαλεί ίδια αγγειακά-καρδιαγγειακά – αναπνευστικά προβλήματα με την αναφυλαξία.

- **Halonen et al. (1981), Amer.Rev. Resp. Dis. 124:416**



Τα αιμοπετάλια δεν είναι απαραίτητα για να προκληθεί αναφυλακτικό σοκ, όταν ενεθεί συνθετικός PAF.

Κύτταρα που παράγουν PAF

Βασεόφιλα	(κουνελιού, ανθρώπου)
Πολυμορφοπύρρηνα, ουδετερόφιλα	(κουνελιού, ανθρώπου, χοίρου)
Μακροφάγα	➤ Περιτοναϊκά (ποντικού, ανθρώπου) ➤ Κυψελιδικά (αρουραίου, κουνελιού, πιθήκου, ανθρώπου)
Μονοκύτταρα	(ανθρώπου)
Μαστοκύτταρα	➤ Μυελού οστών (ποντικού) ➤ Πνεύμονα (ανθρώπου)
Ηωσινόφιλα	(κουνελιού, ανθρώπου)
Αιμοπετάλια	(κουνελιού, ανθρώπου)
Ενδοθηλιακά κύτταρα	Καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων (κουνελιού, ανθρώπου)
Νεφρικά κύτταρα	➤ Απομονωμένα κύτταρα μυελού του νεφρού (αρουραίου) ➤ Απομονωμένα σπειράματα (αρουραίου) ➤ Μεσαγγειακά κύτταρα ➤ Καλλιέργειες μεσαγγειακών κυττάρων
Πρωτόζωα	(<i>Tetrahymena pyriformis</i>)
Μύκητες	(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Προκαρυωτικά κύτταρα	(βακτήρια)
Φυτικά κύτταρα	(<i>Urtica dioica</i>)

Δράσεις του PAF σε κύτταρα στόχους

<p>Πολυμορφοπύρρηνα Ουδετερόφιλα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Αποκοκκίωση Συσσώρευση (απαιτείται εξωκυττάριο Ca^{2+} και Mg^{2+}) ➤ Χημειοταξία ➤ Παραγωγή προϊόντων υπεροξειδίου (μόνο σε κύτταρα που επεξεργάστηκαν πρώτα με κυτοχάλασίνη Β) ➤ Αύξηση της προσκολλητικής ικανότητας (στα ενδοθηλιακά κύτταρα και σε ξένες επιφάνειες) ➤ Ενεργοποίηση της παραγωγής προϊόντων μεταβολισμού του αραχιδονικού
<p>Ηωσινόφιλα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Χημειοταξία ➤ Έκκριση κατιονικών πρωτεϊνών ➤ Αύξηση κυτταροτοξικότητας ➤ Σύνθεση $LT-C_4$ ➤ Παραγωγή προϊόντων υπεροξειδίου ➤ Αύξηση συγκέντρωσης ελευθέρων ιόντων Ca^{2+}
<p>Μονοκύτταρα- Μακροφάγα</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Συσσώρευση ➤ Έκκριση άλλων μεσολαβητών ➤ Αύξηση παραγωγής προστακυκλίνης I_2 και TxB_2 ➤ Παραγωγή υπεροξειδίων ➤ Παραγωγή IL-1 ➤ Επίδραση στα επίπεδα c-AMP ➤ Ενεργοποίηση κύκλου φωσφατιδυλοϊνοσίτη
<p>Ενδοθηλιακά</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Αύξηση ενδοκυττάριου Ca^{2+} ➤ Ανακατανομή κυτταροσκελετού ➤ Σύνθεση προστακυκλίνης

Δράσεις του PAF σε κύτταρα στόχους

Λεμφοκύτταρα	<ul style="list-style-type: none">➤ Βλαστική τροποποίηση➤ Καταστολή παραγωγής IL-2➤ Συμμετοχή στην κυτταροτοξική δράση
Αιμοπετάλια	<ul style="list-style-type: none">➤ Αποκοκκίωση➤ Συσσώρευση➤ Αλλαγή σχήματος➤ Αύξηση της εισροής Ca^{2+}➤ Ενεργοποίηση του κύκλου του φωσφατιδυλοϊνοσίτη και της παραγωγής προϊόντων μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος➤ Φωσφορυλίωση πρωτεϊνών
Πρωτόζωα <i>(Tetrahymena pyriformis)</i>	<ul style="list-style-type: none">➤ Ενεργοποίηση της παραγωγής προϊόντων μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος➤ Αύξηση της γλυκογονόλυσης➤ Μεταβολισμός – μεταβολές της σύστασης των λιποειδών
Φυτά	<ul style="list-style-type: none">➤ Επίδραση στο σύστημα των μικροσωμάτων➤ Επίδραση στη μεμβράνη των θυλακοειδών των χλωροπλαστών

Δράσεις του PAF σε παρασκευάσματα ιστών και σε απομονωμένα όργανα

Ήπαρ	➤ Αυξάνει την ηπατική γλυκογονόλυση (δεν αναστέλλεται από α και β ανταγωνιστές σε συγκεντρώσεις που αναστέλλουν τον αδρενεργικό ερεθισμό της)
Λείες μυϊκές ίνες	➤ Προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών σε απομονωμένο ειλεό μέσω ειδικού υποδοχέα
Πνευμονικός ιστός	➤ Προκαλεί μείωση της επιφάνειας των τριχοειδών, σύσπαση του απομονωμένου πνευμονικού ιστού (με άμεση δράση στα συσταλτά κύτταρα) και μείωση της διατασιμότητας αυτού, καθώς επίσης και αγγειοσύσπαση
Καρδιά	➤ Σε απομονωμένη καρδιά προκαλεί μείωση της συσταλτικής ικανότητας της κοιλίας, σύσπαση των στεφανιαίων (άμεση δράση) με αποτέλεσμα τη μεγάλη μείωση της ροής του αίματος και την πρόκληση αρρυθμίας αγωγιμότητας ➤ Σε απομονωμένο θηλοειδή μυ καρδιάς προκαλεί παροδική θετική ινότροπη και σημαντική αρνητική δρομότροπη δράση
Νεφρός	➤ Σε κυτταροκαλλιέργειες μεσαγγειακών κυττάρων προκαλεί σύσπαση και αλλαγή σχήματος (με αποτέλεσμα την μείωση του μεγέθους των σπειραμάτων) ➤ Έκκριση ελευθέρων ριζών και ενεργοποίηση σύνθεσης προσταγλανδινών ➤ Σε απομονωμένα σπειράματα προκαλεί μείωση της διατομής τους (με αποτέλεσμα την τροποποίηση της σπειραματικής διήθησης)

Δράσεις του PAF in vivo

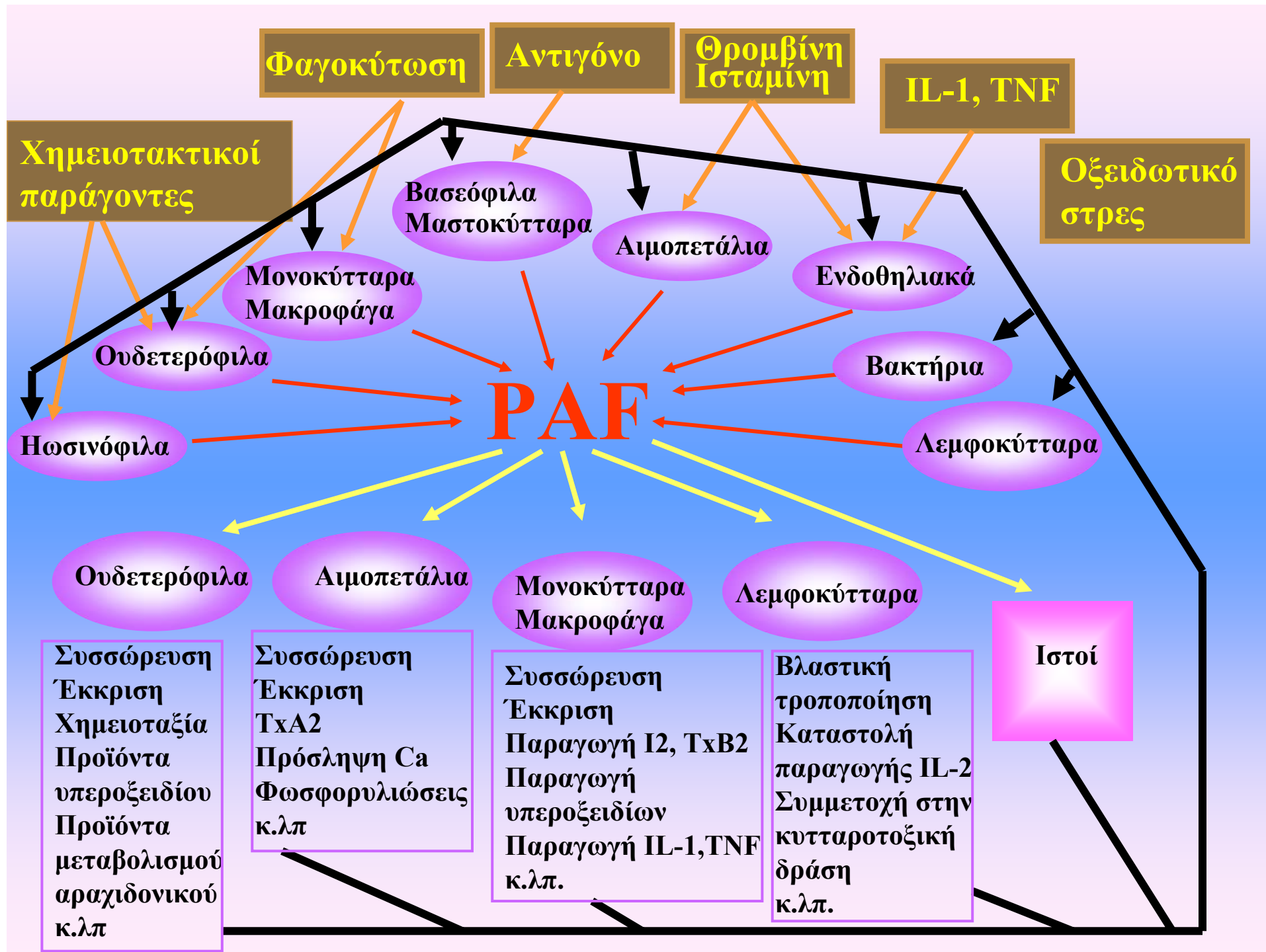
Βρογχόσπασμος	(χωρίς μεσολάβηση ισταμίνης ή σεροτονίνης)
Θρομβοπενία	
Ουδετεροπενία	
Βασεοφιλοπενία	
Αναφυλακτικές αντιδράσεις	<p><u>Στο αναπνευστικό</u></p> <ul style="list-style-type: none">➤ Μείωση αναπνευστικής συχνότητας (με περιόδους άπνοιας λόγω καταστολής του αντίστοιχου κέντρου)➤ Βρογχόσπασμο➤ Αύξηση των πνευμονικών αντιστάσεων➤ Μείωση της ενδοτικότητας του πνεύμονα➤ Αύξηση της πίεσης στις πνευμονικές αρτηρίες με αποτέλεσμα πρόκληση πνευμονικού οιδήματος <p><u>Στο κυκλοφορικό</u></p> <ul style="list-style-type: none">➤ Άμεση, σχεδόν αλλαγή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (αρχικά παροδική βραδυκαρδία και μετά ταχυκαρδία με αρρυθμία αγωγιμότητας και πτώση της ανάσπασης)➤ Αιμοδυναμικές αλλαγές: 1) μείωση της συστολικής πίεσης της αριστερής κοιλίας, 2) μείωση της συστολικής και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης στις μηριαίες που στη συνέχεια παροδικά αυξάνουν και μειώνονται, 3) αύξηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης, 4) αύξηση της πίεσης στο δεξιό κόλπο, 5) μείωση της τελοδιαστολικής πίεσης στη δεξιά κοιλία (με αποτέλεσμα τη μείωση της πλήρωσης της αριστερής κοιλίας και μείωση του καρδιακού παλμού)

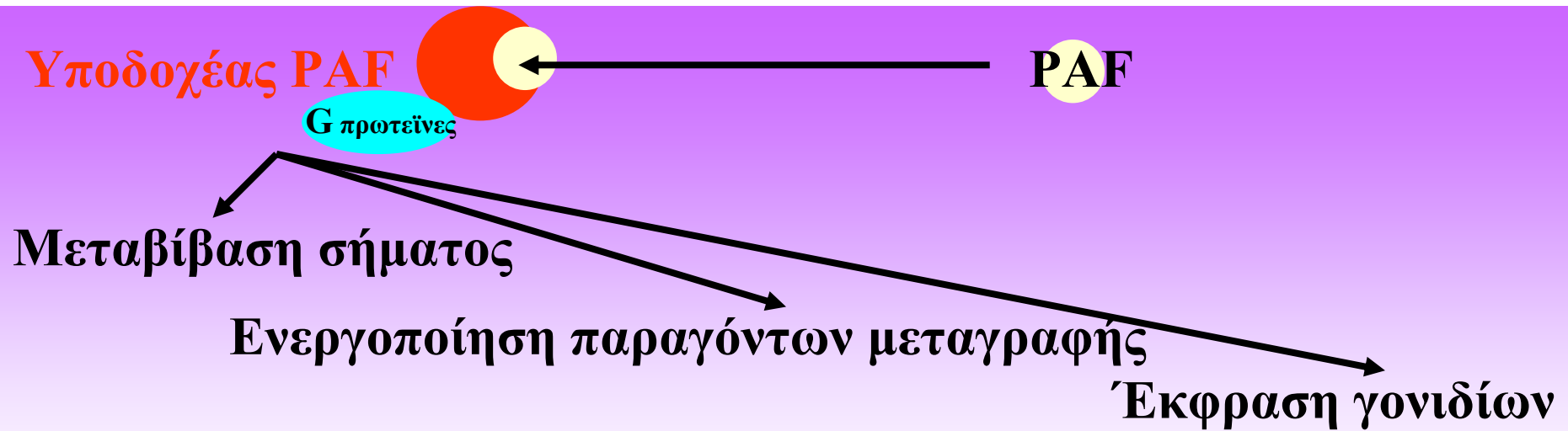
Δράσεις του PAF in vivo

<p>Επίδραση στη συστηματική κυκλοφορία</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Μείωση της μέσης αρτηριακής πίεσης (με αποτέλεσμα την πρόκληση shock, λόγω της μείωσης του κυκλοφορούντος όγκου αίματος εξαιτίας της εξαγγείωσης και της αύξησης της περιφερειακής αποθήκης)➤ Μείωση του κατά λεπτό όγκου αίματος➤ Μείωση των περιφερειακών αντιστάσεων
<p>Επίδραση στο πεπτικό σύστημα</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Βλάβη γαστρικού βλεννογόνου (μέσω υπεραιμίας και παραγωγής ελευθέρων ριζών)➤ Ισχαιμική νέκρωση εντέρου (σχετίζεται με σηπτικό shock)➤ Μορφολογικές αλλοιώσεις στην άνω παγκρεατοδωδεκαδακτυλική αρτηρία
<p>Επίδραση στο νεφρικό σύστημα</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Μείωση νεφρικής ροής αίματος➤ Μείωση πειραματικής διήθησης➤ Ελάττωση ποσού ούρων, αύξηση επαναρρόφησης Na^{2+}, K^{+}➤ Συμμετοχή στη νεφρική ανοσολογική βλάβη➤ Πρόκληση ιστολογικών αλλοιώσεων➤ Εναπόθεση ανοσοσυμπλεγμάτων στα σπειράματα

Δράσεις του PAF in vivo

<p>Επίδραση στο σύστημα αναπαραγωγής</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Συμμετοχή στην κινητοποίηση του σπέρματος,➤ Στην ωορρηξία,➤ Στη εμφύτευση ωαρίου και➤ Στην υπέρταση της εγκυμοσύνης➤ Παίξει ρόλο στην έναρξη και διατήρηση του τοκετού
<p>Επίδραση στην εγκεφαλική λειτουργία</p>	<ul style="list-style-type: none">➤ Καταστροφή νευρώνων,➤ Συμμετοχή στην ανάπτυξη και στην αναγέννηση των νευρώνων➤ Ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση επινεφρίδια και έκκριση ορμονών➤ Αλλαγές φαινοτύπων στο κεντρικό νευρικό σύστημα➤ Αύξηση διαπερατότητας εγκεφαλικών αγγείων και➤ Συμμετοχή στη σκλήρυνση κατά πλάκας





- Δεύτερο μήνυμα (Ca, cAMP, IP₃, DAG)
- Ενεργοποίηση κινασών
 - MAPK
 - PKC
 - PI3K
 - Κινάση τυροσίνης
 - Κινάση G πρωτεϊνών
- Ενεργοποίηση φωσφολιπασών
 - PLA₂, PLC, PLD
- Μείωση δραστηριότητας αδενυλικής κυκλάσης

Αίτιο
(ή αποφυγή)

PAF = μήνυμα, σήμα, μεσολαβητής,
ορμόνη, αρχέγονος-καθολικός
κυτταρικός βιολογικός ρυθμιστής
(universal cellular biological
regulator)

Σήμα
(ή διακοπή)

CH_2OR
 CHOR
 $\text{CH}_2\text{PO}_4\text{ΒΑΣΗ}$
(αιθερικό)

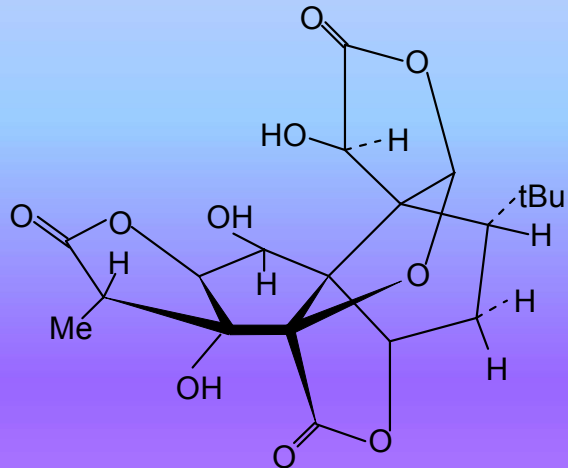
CH_2OCOR
 CHOCOR
 $\text{CH}_2\text{PO}_4\text{ΒΑΣΗ}$
(εστερικό)

CH_2OR
 CHOCOCH_3
 $\text{CH}_2\text{PO}_4\text{ΒΑΣΗ}$
(PAF)

Αποτέλεσμα
(ή θεραπεία)

• Kulikov et al. (1997)
Biochemistry (Moscow) 62:1103.

ΦΥΣΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ ΡΑΦ



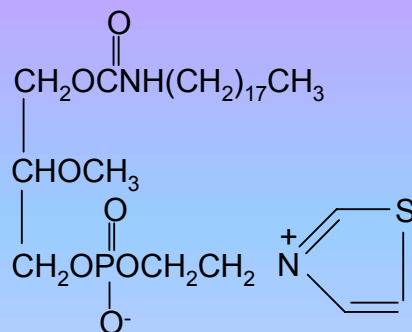
BN-52021

Ginkgo Biloba

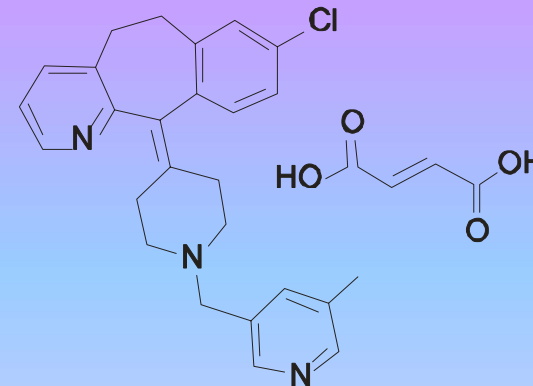
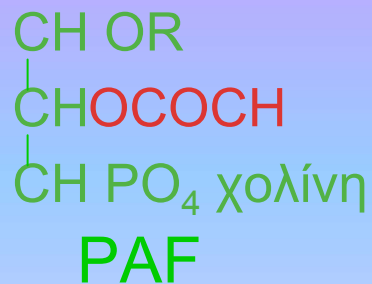
Πολικά λιποειδή Μεσογειακών τροφίμων

- C.A. Demopoulos et al. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* (2003) 150: 705
➤ Αναστέλλουν και υποστρέφουν το σχηματισμό αθηρωματικών πλακών.
- J. de Batlle et al. *Allergy* (2008) 63: 1310
➤ Μ.Δ. μειώνει τον κίνδυνο για άσθμα και ρινίτιδα

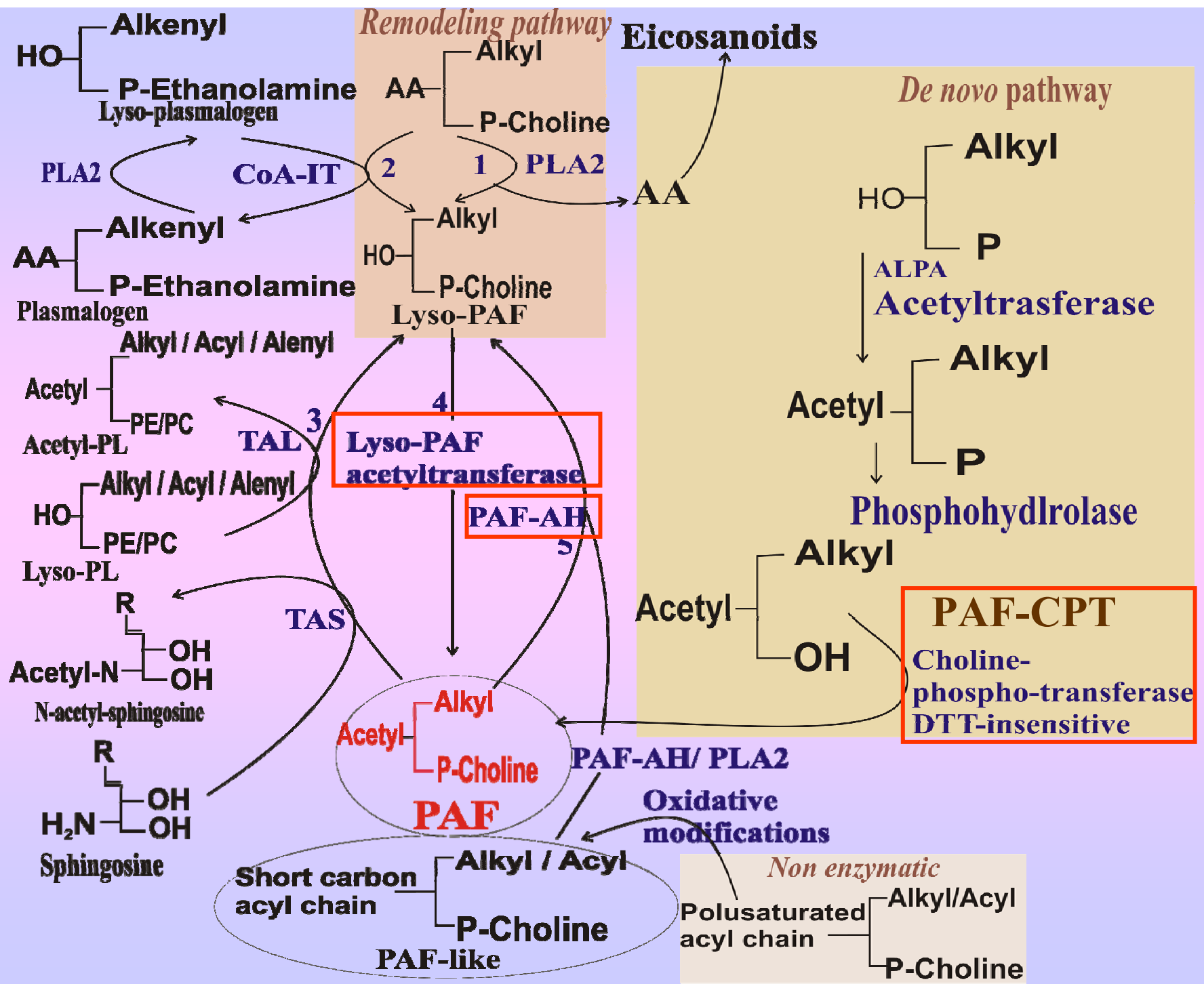
ΣΥΝΘΕΤΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΟΥ ΡΑΦ



CV-3988



Rupatadine fumarate



Ο ΡΑΦ ΕΜΠΛΕΚΕΤΑΙ ΣΕ ΠΟΛΛΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Υπερευαισθησία τύπου I, Αλλεργική ρινίτιδα (RUPAFIN)
ΑΛΛΕΡΓΙΑ

Σπειραματονεφρίτιδα
Σπειραματοσκληρυνση
ΝΕΦΡΟΠΑΘΕΙΕΣ

Αγγειογένεση
Μετάσταση
ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Επίδραση στον ιό
Καταστροφή
ανοσοποιητικού
AIDS

Αλληλεπίδραση
σήματος
ινσουλίνης και PAF
(ινσουλινοαντοχή)
ΔΙΑΒΗΤΗΣ

Υπαρξη υδροξυΡΑΦ
στο ουλικό υγρό
ΠΕΡΙΟΔΟΝΤΙΤΙΔΑ

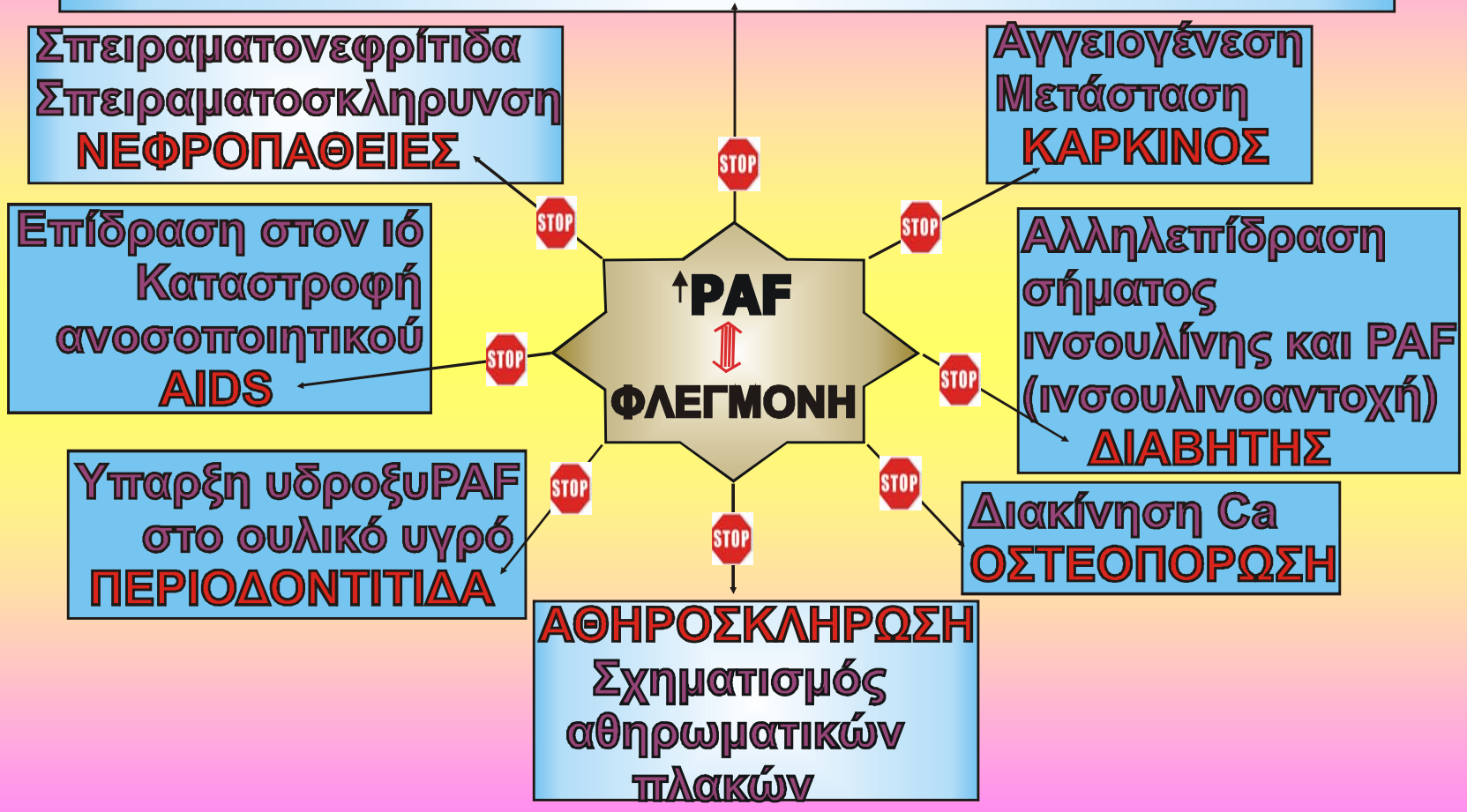
Διακίνηση Ca
ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

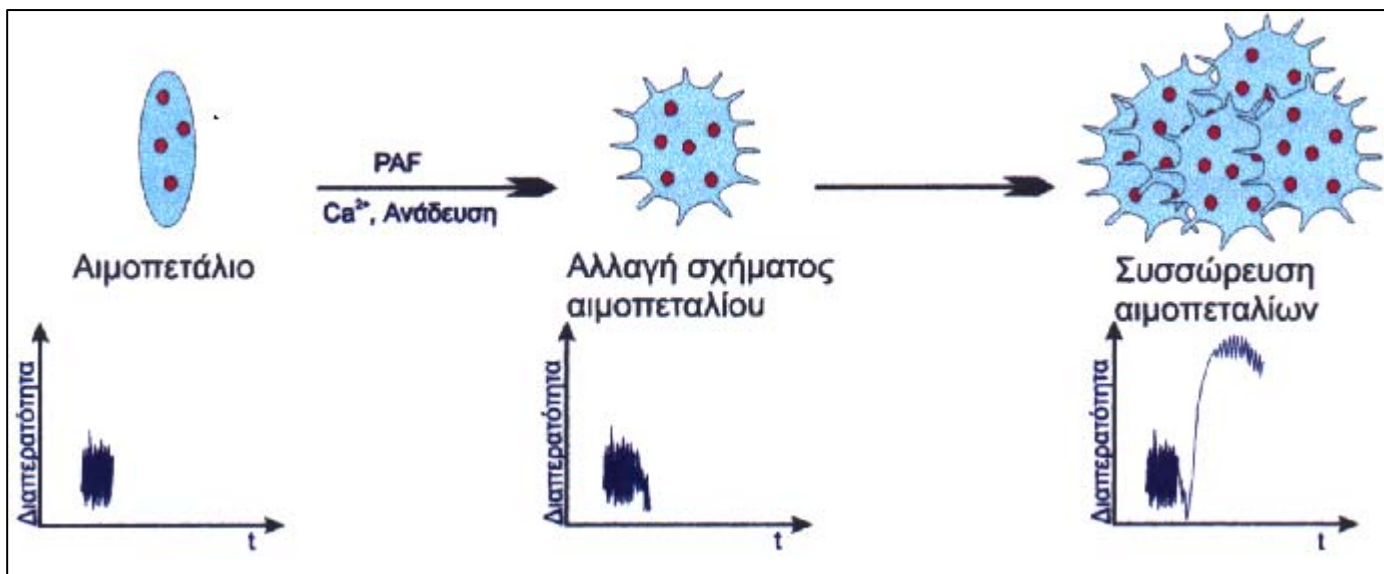
ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΩΣΗ
Σχηματισμός
αθηρωματικών
πλακών



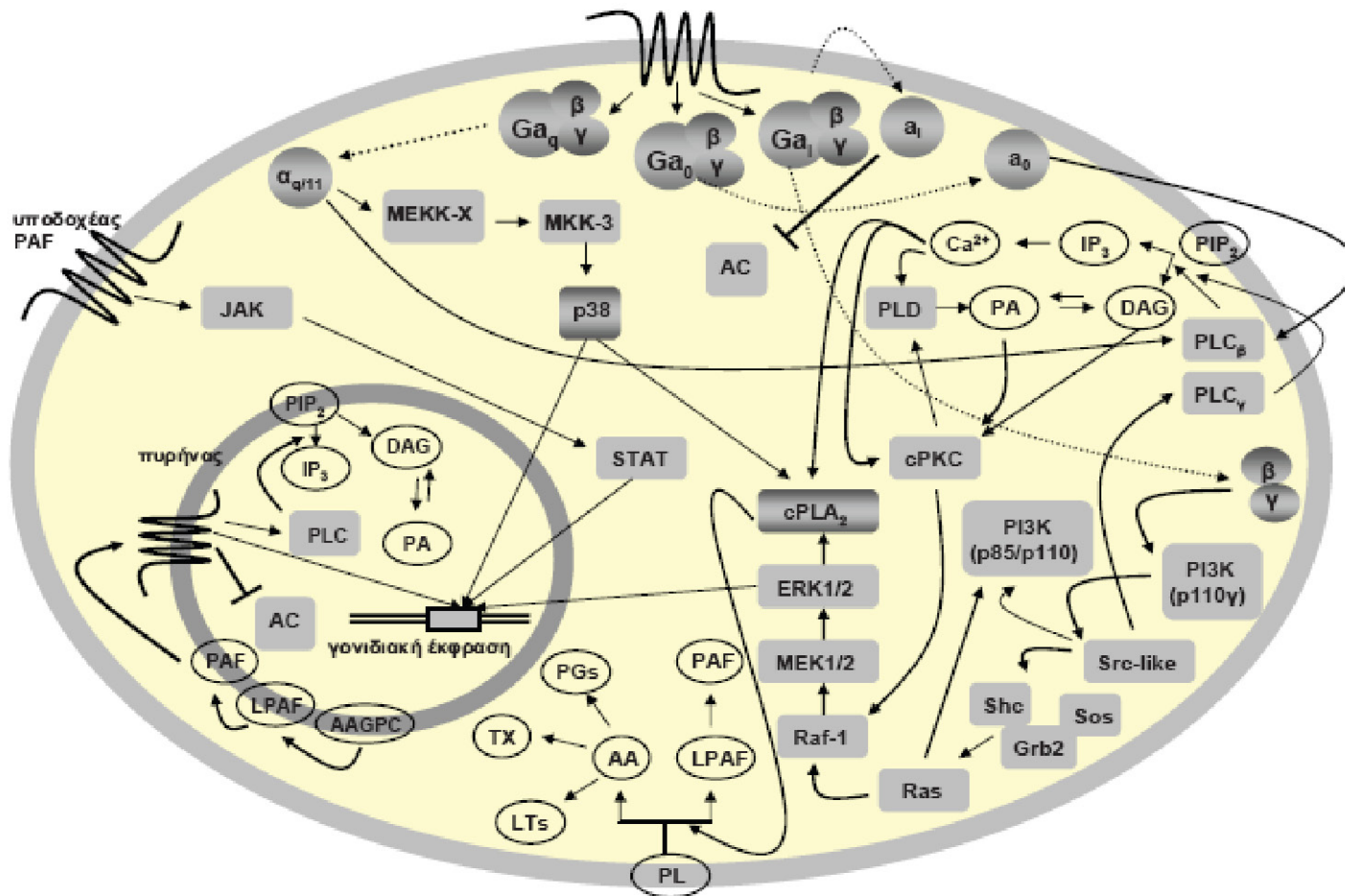
=

**ΡΑΦ-ανταγωνιστές
Στατίνες**





ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΣΗΜΑΤΟΣ ΜΕΣΩ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΟΥ PAF



ΕΥΧΑΙΡΙΣΤΩ