



Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino
Dipartimento di Patologia Immuno-Endocrinologica
Largo R.Benzi, 16132 Genova



U.O. MEDICINA INTERNA ad ORIENTAMENTO IMMUNOLOGICO
Università degli Studi di Genova

RELAZIONE *IN ITINERE* PER IL PROGETTO “Efficacia del Cilostazolo nel trattamento del fenomeno di Raynaud in pazienti affetti da Sclerosi Sistemica” (Progetto: CILOS-RAY2010 EudraCT: 2010-019977-14)

Introduzione

La Sclerosi Sistemica (SSc, anche definita Sclerodermia) è una malattia generalizzata del tessuto connettivo caratterizzata dal punto di vista patogenetico da anomalie vascolari, alterazioni della funzione immunitaria e fibrosi diffusa [1].

Nella Sclerosi Sistemica il fenomeno di Raynaud rappresenta un reperto pressoché costante e può precedere la malattia vera e propria anche di molti anni [2, 3]. Il fenomeno di Raynaud consiste in un vasospasmo eccessivo che determina vasocostrizione per stimoli simpatici o passaggio da ambienti caldi a freddi. Il fenomeno di Raynaud si verifica soprattutto in quei distretti a maggior dispersione calorica e minore richiesta metabolica, classicamente le dita [4]. Il fenomeno di Raynaud può essere primitivo o secondario ad altre malattie quali le connettiviti (tipicamente la Sclerosi Sistemica) oppure malattie ematologiche che alterano la viscosità del sangue oppure conseguente all'uso di farmaci (es. betabloccanti) [4].

Ad oggi esistono differenti trattamenti per il fenomeno di Raynaud, tuttavia la scarsa efficacia e la presenza di effetti collaterali rendono insoddisfacente ed infruttuosa la gestione di questa manifestazione clinica [5, 6]. La quasi totalità dei trattamenti attualmente disponibili per la gestione del fenomeno di Raynaud prevedono un utilizzo *off-label* di farmaci licenziati per altre patologie.

Il Cilostazolo è un inibitore della fosfodiesterasi di tipo III con proprietà antiaggreganti, antitrombotiche e vasodilatanti. Il farmaco presenta inoltre effetti anti-proliferativi sulle cellule muscolari lisce vasali [7-9]. Tali caratteristiche rendono

il Cilostazolo un farmaco potenzialmente efficace nel trattamento della vasculopatia sclerodermica, ed in particolare del fenomeno di Raynaud. Il Cilostazolo è attualmente licenziato per il trattamento dei pazienti con *claudicatio intermittens* da arteriopatia periferica senza necrosi cutanee o dolore a riposo.

Lo studio CYLOS-RAY2010 (Efficacia del Cilostazolo nel trattamento del fenomeno di Raynaud in pazienti affetti da Sclerosi Sistemica) è stato approvato dal comitato etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria "San Martino" il 4 novembre 2010.

Lo studio è supportato dall'azienda farmaceutica Italfarmaco (fornitura gratuita della campionatura di farmaco e stipula della copertura assicurativa) e dal Gruppo Italiano Lotta alla Sclerodermia – GILS.

Arruolamento dei soggetti inclusi nello studio

I soggetti arruolati nello studio sono tutti pazienti seguiti presso l'ambulatorio-Day Hospital di Medicina Interna ad Orientamento Immunologico del Dipartimento di Medicina Interna dell'Università degli Studi di Genova (Prof. Francesco Puppo). I pazienti arruolati sono affetti da Sclerosi Sistemica (la diagnosi è stata formulata in base ai criteri dell'American College of Rheumatology [10] mentre la classificazione della malattia in forma diffusa e forma limitata è stata determinata in base ai criteri di LeRoy [11, 12]). Tutti i pazienti presentavano al momento dell'arruolamento un fenomeno di Raynaud di gravità tale da richiedere un intervento farmacologico. Generalmente i pazienti arruolati non avevano risposto o non tolleravano le convenzionali terapie orali per il fenomeno di Raynaud (es. calcioantagonisti diidropiridinici, antiaggreganti etc.) oppure non tolleravano o non potevano eseguire terapie infusionali con prostacicline endovenose.

L'arruolamento dei pazienti ha previsto una fase di screening clinico dei soggetti candidabili in base ai criteri di inclusione ed esclusione prefissati nella stesura del progetto. La fase di screening ha permesso di individuare i pazienti affetti da Sclerosi Sistemica che mostrano un fenomeno di Raynaud di grado moderato o severo e non presentano controindicazioni all'utilizzo del Cilostazolo (secondo le istruzioni del foglietto illustrativo del prodotto stesso).

Tutti i pazienti arruolati sono stati convocati per una dettagliata spiegazione delle terapie attualmente disponibili per il Fenomeno di Raynaud e sui potenziali rischi e benefici del trattamento con il Cilostazolo. Durante tale incontro, i pazienti disponibili ad intraprendere lo studio hanno firmato un consenso informato e sono stati istruiti

sull'utilizzo del farmaco e dei formulari necessari al completamento dello studio (vedi Figura 1).

Inoltre ai pazienti è stata consegnata una sinossi del progetto comprendente una dettagliata descrizione del farmaco per informare il medico di medicina generale.

Prima dell'inizio della terapia sono stati effettuati prelievi ematici per la valutazione di vari parametri immunologici e tutti i soggetti sono stati sottoposti a misurazione della FMD (flow-mediated dilation) dell'arteria brachiale mediante ecodopplergrafia.

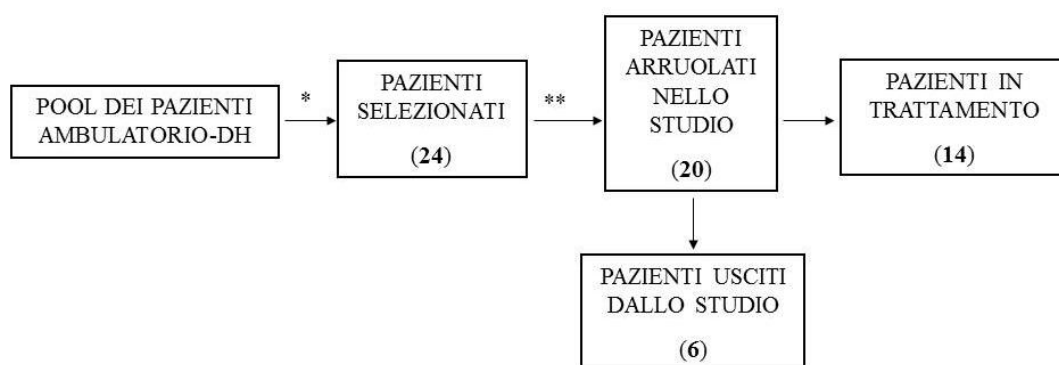


Figura 1. Schema riassuntivo del processo di screening (*) e arruolamento (**) dei pazienti.

Follow-up dei pazienti e valutazione dell'efficacia del trattamento

La valutazione dell'efficacia del trattamento con Cilostazolo prevede parametri clinici, strumentali e laboratoristici:

- Diario quotidiano degli episodi di fenomeno di Raynaud è un diario dove il paziente registra il numero e la durata dei singoli episodi di fenomeno di Raynaud ed il numero di volte che il paziente si è esposto ad una temperatura esterna [13].
- Health Assessment Questionnaire-Disability Index è un questionario finalizzato alla valutazione dello stato di disabilità determinato dalla malattia (compilato quindicinalmente) [14, 15].
- Scale VAS specifiche per la sclerodermia (scleroderma-specific Visual Analog Scales). In questo formulario di valutazione semi-quantitativa il paziente segnala su di una scala analogica visiva il livello di gravità (0=nessun attività di malattia fino a 100=attività di malattia molto severa), nelle due settimane precedenti, dei

seguenti parametri: fenomeno di Raynaud, ulcere cutanee (se presenti) e stato complessivo della malattia [13].

- FMD (flow-mediated dilation) la valutazione della dilatazione dell'arteria radiale flusso-mediata viene calcolata ad inizio e fine studio allo scopo di valutare eventuali cambiamenti della reattività arteriosa dei soggetti analizzati [16].
- I prelievi di sangue (ad inizio e fine terapia) sono finalizzati alla valutazione di diversi parametri immunologici e di eventuali loro variazioni indotte dal trattamento. In particolare viene studiato l'assetto dei linfociti regolatori (CD4+CD25+ e CD8+CD28-) e dei linfociti effettori (Th1 e Th17) oltre che il livello delle citochine pro- e anti-infiammatorie presenti nel siero. Tali analisi sono eseguite utilizzando metodiche di immunochimica (ELISA) e di citofluorimetria [1, 17].

Tutti i pazienti inseriti nello studio vengono periodicamente visitati e/o contattati telefonicamente (ogni 2 settimane) al fine di valutare eventuali problematiche in corso. Inoltre tutti i pazienti arruolati hanno la possibilità di contattare l'ambulatorio di Medicina Interna ad Orientamento Immunologico per eventuali dubbi o problemi.

Il farmaco ed i questionari necessari allo svolgimento dello studio vengono forniti periodicamente ai pazienti dal personale medico o infermieristico del nostro ambulatorio.

SITUAZIONE ATTUALE E RISULTATI PRELIMINARI

Pazienti attualmente in terapia

Attualmente (aprile 2011) sono stati arruolati 20 soggetti e i dati presentati si riferiscono a 10 dei 14 pazienti attualmente in trattamento. Per 4 dei 14 pazienti attualmente in terapia l'arruolamento è troppo recente per cui non ne vengono presentati i risultati. Come illustrato in Figura 1 nel corso della fase di *screening* abbiamo selezionato 24 soggetti potenzialmente candidabili al trattamento con Cilostazolo. Dei 24 pazienti selezionati 20 hanno accettato di partecipare allo studio. Sei dei 20 pazienti che hanno intrapreso la terapia con Cilostazolo hanno sospeso il trattamento per la comparsa di effetti indesiderati (vedi paragrafo dedicato).

La Tabella 1 riassume le caratteristiche cliniche dei 10 pazienti di cui attualmente vengono presentati i dati.

CODICE paziente	età	FORMA DI MALATTIA [10-12]	pattern ANA-ENA	età di comparsa del FdR	ulcere digitali attive
CR01	63	L-SSc, S. di Sjögren	ANA centrometrico >1:160	40	NO
CR02	41	L-SSc	ANA centrometrico 1:160	24	NO
CR04	71	L-SSc	ANA centromerico 1:640	33	NO
CR06	58	L-SSc	ANA Speckled 1:80 ENA (SS-A, SS-B)	20	NO
CR07	42	connettivite indifferenziata ad impronta sclerodermica	ANA Neg	10	NO
CR10	74	L-SSc, psoriasi	ANA centromerico >1:320	44	NO
CR13	38	Connettivite indifferenziata ad impronta sclerodermica	ANA speckled >1:160	23	NO
CR17	28	early SSc	ANA centromerico 1:160	26	NO
CR18	51	D-SSc	ANA nucleolare >1:160	31	NO
CR20	85	L-SSc	ANA centromerico >1:320	età giovanile	NO

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti in trattamento. L-SSc (Sclerosi sistemica in forma limitata), D-SSc (Sclerosi sistemica in forma diffusa), ANA (Anti-nuclear antibody), ENA (Extractable nuclear antigen), FdR (fenomeno di Raynaud)

Effetti del trattamento sulla durata del Fenomeno di Raynaud

La valutazione del diario quotidiano compilato dai pazienti ha permesso di rilevare una riduzione della durata del fenomeno di Raynaud. Tale parametro è stato

analizzato comparando la durata totale del sintomo ad inizio terapia e al momento attuale. In particolare sono stati considerati la durata totale settimanale e la durata media giornaliera del fenomeno di Raynaud. In entrambi i casi si è osservata una differenza statisticamente significativa (rispettivamente $P=0.0284$ e $p=0.0283$ mediante test di Wilcoxon) indicante una riduzione della durata del disturbo. I risultati sono riassunti nella Figura 2.

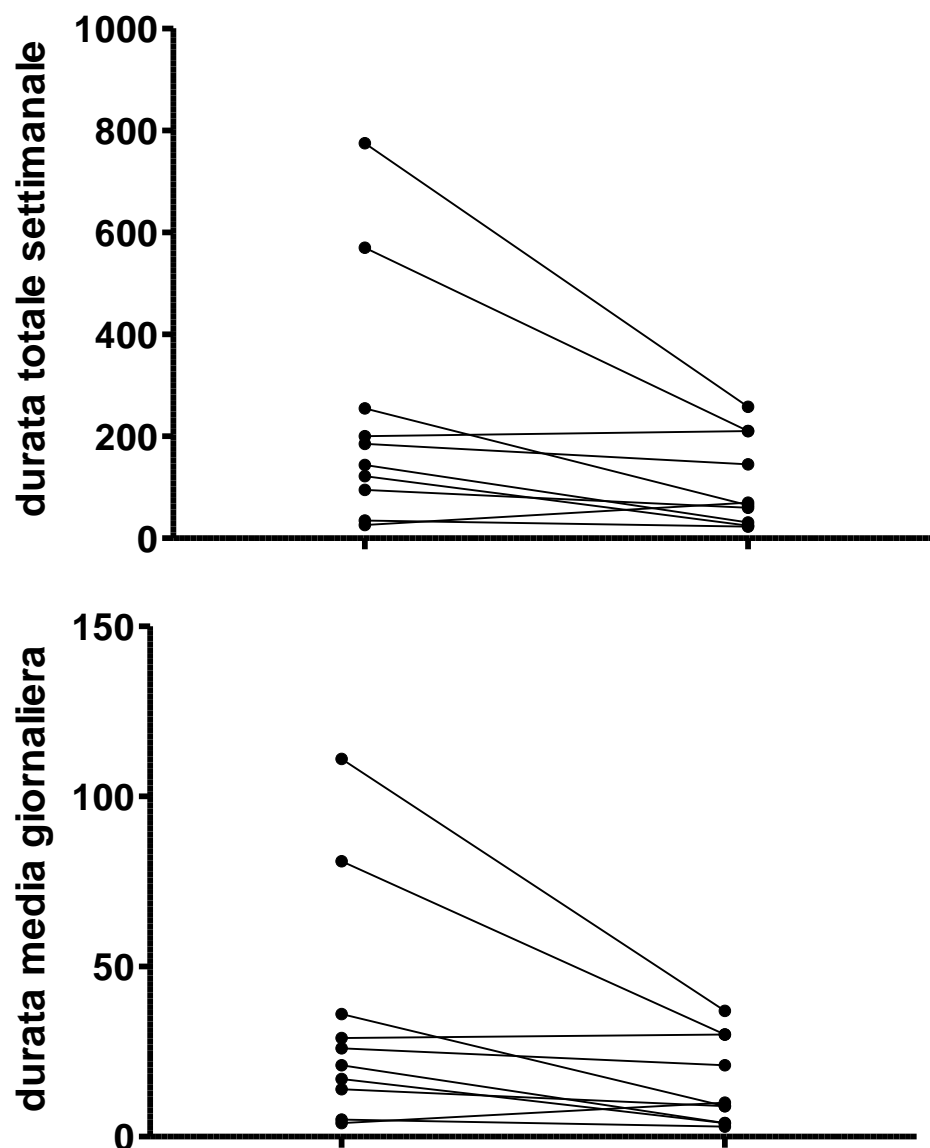


Figura 2. Durata del Fenomeno di Raynaud espressa come durata totale settimanale (pannello superiore) e durata media giornaliera (pannello inferiore) ad inizio terapia e al momento attuale. I dati sono espressi in minuti.

Effetti del trattamento sul numero di episodi di Fenomeno di Raynaud

La valutazione dei questionari compilati dai pazienti ha rivelato una riduzione della numero di episodi di fenomeno di Raynaud. Tale parametro è stato analizzato

comparando il numero di episodi di fenomeno ad inizio terapia e al momento attuale. In particolare sono stati considerati il numero totale settimanale e il numero medio giornaliero di episodi fenomeno di Raynaud. In entrambi i casi si è osservata una differenza statisticamente significativa (rispettivamente $P=0.0380$ e $p=0.0380$ mediante test di Wilcoxon) indicante una riduzione del numero di attacchi. I risultati sono riassunti nella Figura 3.

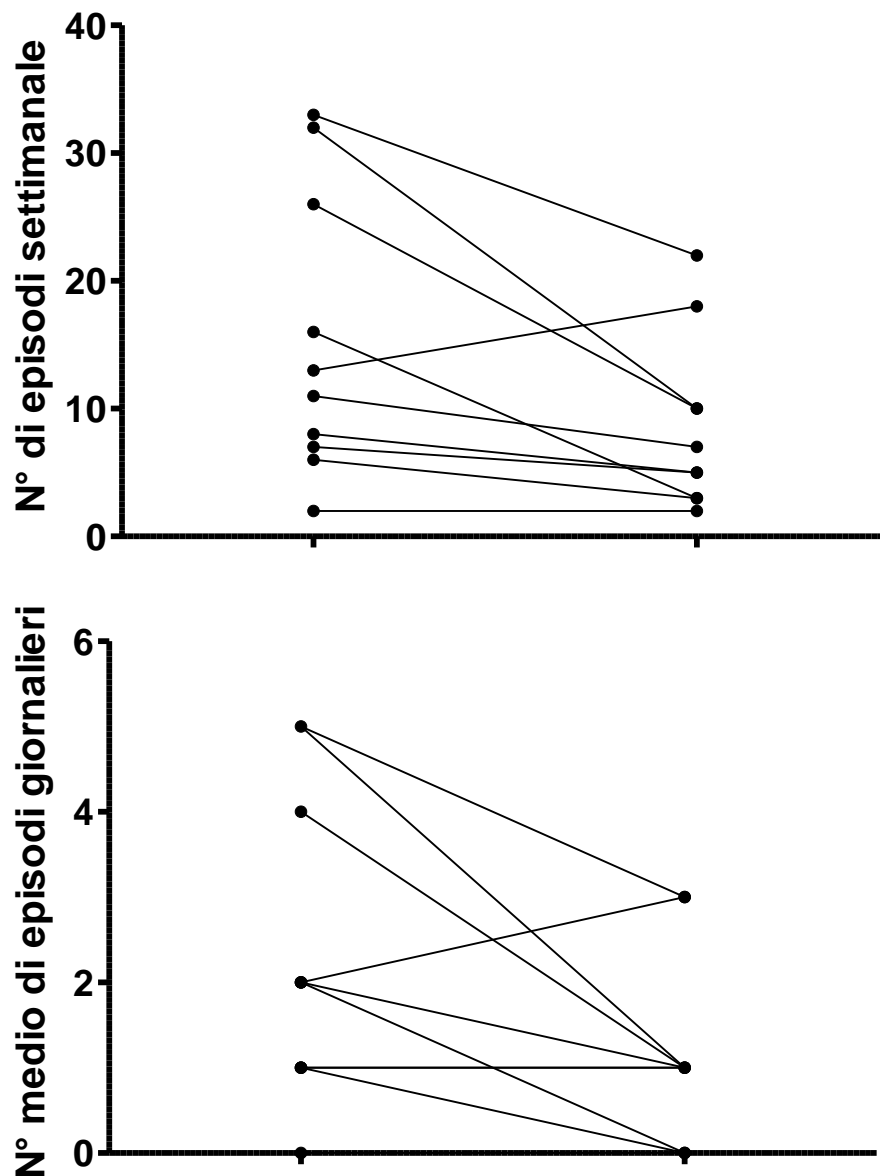


Figura 3. Numero di episodi di Fenomeno di Raynaud espressi come numero totale settimanale (pannello superiore) e numero medio giornaliero (pannello inferiore) ad inizio terapia e al momento attuale.

Effetti del trattamento sulla difficoltà percepita dal paziente nello svolgimento delle attività quotidiane a causa del fenomeno di Raynaud

La valutazione della scala VAS presente all'interno del diario compilato quotidianamente dai pazienti ha rivelato una riduzione della difficoltà percepita dal paziente nello svolgimento delle attività quotidiane correlata al fenomeno di Raynaud. Tale parametro è stato analizzato comparando i valori della scala VAS ad inizio terapia e al momento attuale. Si è osservata una differenza statisticamente significativa ($p=0.0422$ mediante test di Wilcoxon) indicante una riduzione della difficoltà percepita dal paziente a causa del fenomeno di Raynaud. I risultati sono riassunti nella Figura 4.

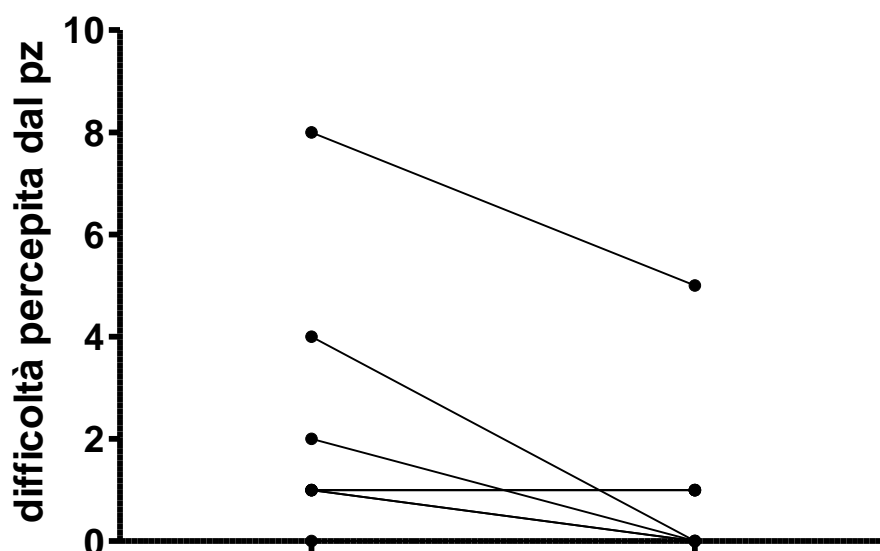


Figura 4. Difficoltà percepita della paziente nello svolgimento delle attività quotidiane a causa del fenomeno di Raynaud (mediante scala VAS quotidiana con punteggio da 0/nessuna difficoltà a 10/massima difficoltà percepita).

Effetti del trattamento sul grado di disabilità correlato alla malattia mediante Health Assessment Questionnaire

Il questionario Health Assessment Questionnaire (HAQ) esprime con un punteggio da 0 a 3 il grado di disabilità del paziente allo svolgimento di comuni attività quotidiane (per un totale di 8 *items* suddivisi in 20 domande), il risultato può variare da un minimo di 0 (nessuna difficoltà percepita) ad un massimo di 60 (massima disabilità con impossibilità ad eseguire tutte le attività comuni della vita quotidiana). I pazienti hanno compilato il questionario HAQ ogni quindici giorni.

Prendendo in considerazione i primi 10 pazienti analizzati emerge che il grado di disabilità riferito è assai modesto con un valore medio di 6/60. Il trattamento con Cilostazolo non ha significativamente modificato il valore ($p=0.824$ mediante test di

Wilcoxon) in quanto il grado di disabilità nelle attività quotidiane percepito dal paziente sembrerebbe maggiormente ascrivibile a patologie concomitanti (es. artrosi) oppure a complicanze correlate alla Sclerosi Sistemica diverse dal fenomeno di Raynaud (es. la sclerodattilia). I risultati sono riassunti nella Figura 5.

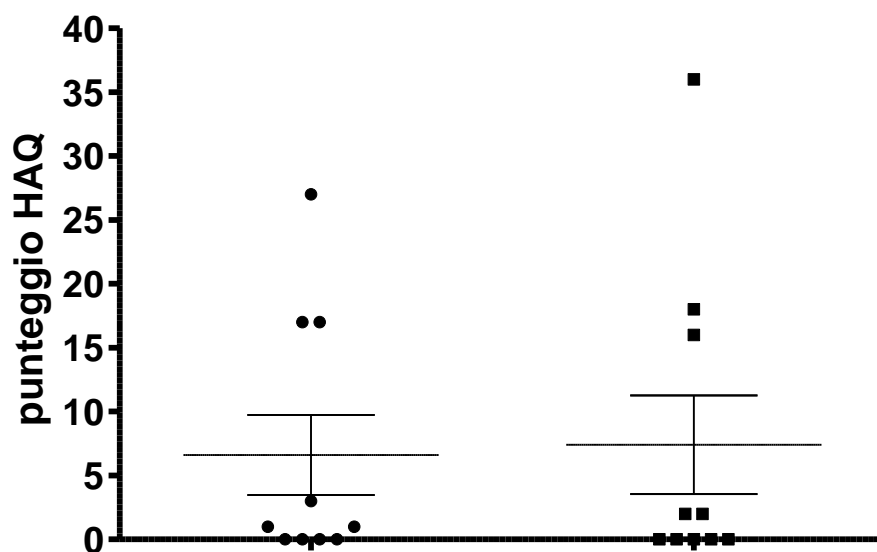


Figura 5. Punteggio rilevato mediante il questionario HAQ ad inizio terapia e al momento attuale nei 10 pazienti analizzati. Sono indicate la media e la deviazione standard.

Effetti del trattamento sullo stato complessivo del fenomeno di Raynaud, sull'attività di malattia e sulle ulcere digitali valutato mediante scale VAS

I pazienti partecipanti allo studio sono stati invitati a compilare, ogni quindici giorni, tre scale VAS (scleroderma-specific Visual Analog Scales): 1) per attività complessiva della malattia, 2) stato del fenomeno di Raynaud, 3) andamento delle ulcere digitali. Le scale VAS somministrate ai pazienti presentano un *range* da 0 (massima attività di malattia) a 100 (nessuna attività di malattia - benessere). Poiché nessun paziente presentava o ha sviluppato ulcere digitali in corso di trattamento (vedi Tabella 1) sono state prese in considerazione soltanto le prime due scale VAS. L'analisi dei dati inerenti il punteggio VAS per il fenomeno di Raynaud rileva un miglioramento significativo della percezione del sintomo ($p=0.0355$ mediante test di Wilcoxon). L'attività generale della malattia non risulta invece essere modificata dal trattamento con Cilostazolo ($p=0.438$ mediante test di Wilcoxon), sebbene si possa osservare un *trend* di miglioramento dall'inizio della terapia.

E' interessante osservare che nessun paziente in trattamento con Cilostazolo ha sviluppato ulcere digitali dall'inizio della sperimentazione ad oggi. I risultati sono riassunti nella Figura 6.

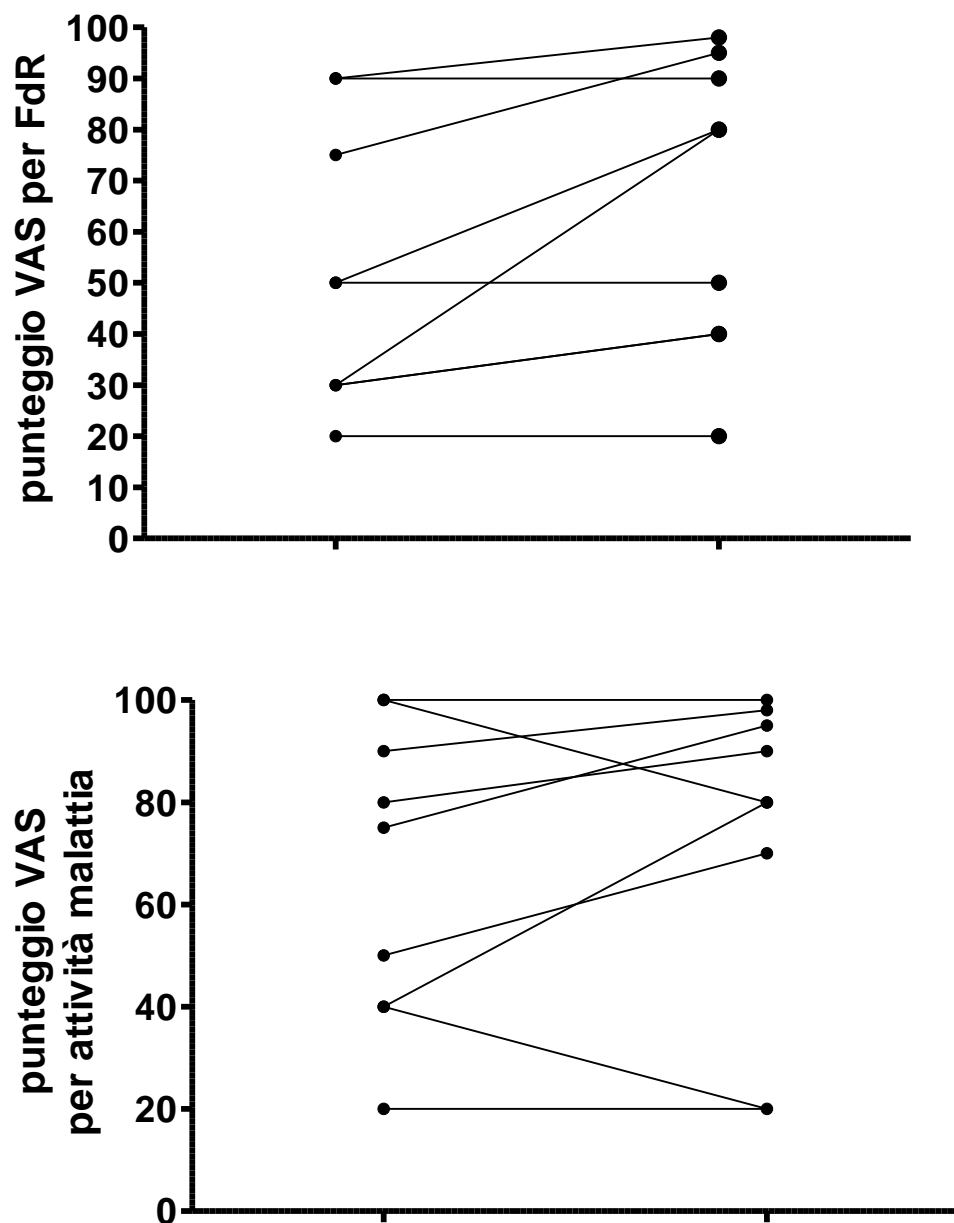


Figura 6. Punteggio rilevato mediante il scala VAS ad inizio terapia e al momento attuale nei 10 pazienti analizzati. Nel pannello superiore sono indicati i valori inerenti alla percezione del Fenomeno di Raynaud mentre nel pannello inferiore quelli inerenti all'attività di malattia. La scala VAS è compresa tra 0 (massima attività di malattia) e 100 (nessuna attività di malattia - benessere).

Effetti indesiderati osservati durante il trattamento con Cilostazolo

Gli effetti avversi ascrivibili alla terapia con Cilostazolo sono stati relativamente comuni ma non gravi, tuttavia nel corso dello studio 6 dei 20 pazienti hanno deciso di interrompere il trattamento (vedi Figura 1). I sintomi riferiti dai pazienti che hanno abbandonato lo studio sono riassunti nella Tabella 2.

Prendendo in considerazione tutta la coorte di pazienti che hanno assunto il farmaco la problematica più frequentemente riportata è stata la cefalea. Tuttavia tale disturbo si è risolto in pochi giorni dall'inizio del trattamento ed è stato facilmente controllato dall'assunzione di analgesici (es. paracetamolo). Inoltre l'adozione, ad inizio terapia, di uno schema di incremento di dosaggio progressivo ha permesso di minimizzare tale sintomo. Altri effetti collaterali riportati sono stati la comparsa di disturbi gastroenterici (prevalentemente diarrea) peraltro modesti e di spontanea risoluzione e di cardiopalmo (apparentemente non conseguente a fenomeni ipotensivi e senza anomalie elettrocardiografiche). L'ipotensione arteriosa è stata modesta e non clinicamente rilevante, solo per alcuni pazienti in trattamento per ipertensione arteriosa è stato necessario sospendere o ridurre il dosaggio dei farmaci anti-ipertensivi. I pazienti normo- o ipotesivi (come spesso si osserva nella Sclerosi Sistemica) non hanno presentato episodi ipotensivi attribuibili al Cilostazolo.

CODICE paziente	MOTIVO DELLA SOSPENSIONE DEL TRATTAMENTO
CR05	cefalea e nausea
CR08	tachicardia-palpiatazioni senza anomalie ECG
CR09	scarsa compliance allo schema terapeutico
CR12	ipotensione-malessere
CR16	vertigini-malessere
CR19	vertigini-malessere

Tabella 2. Riassunto degli effetti indesiderati che hanno portato alla sospensione del trattamento in 6 dei 20 pazienti arruolati nello studio.

CONSIDERAZIONI FINALI E PROSPETTIVE FUTURE

Una valutazione preliminare del trattamento, basata sull'efficacia, la maneggevolezza e l'assenza di effetti collaterali gravi, consente di emettere un giudizio positivo sul farmaco.

Una valutazione più precisa è stata effettuata solo in 10 dei 14 pazienti attualmente in trattamento con Cilostazolo in considerazione del fatto che il farmaco richiede 4-12 settimane di trattamento per esplicitare degli effetti clinici (secondo le indicazioni riportate sul foglietto illustrativo e secondo la letteratura scientifica) di conseguenza non sono stati presi in considerazione i pazienti arruolati di recente. In generale i pazienti hanno riferito un miglioramento del fenomeno di Raynaud, tale miglioramento viene riportato come una riduzione del numero e/o della durata degli attacchi. I pazienti hanno presentato una riduzione/stabilizzazione complessiva del fenomeno di Raynaud nonostante il progredire della stagione fredda dove normalmente si osserva un acuirsi della sintomatologia. Sebbene nessuno dei pazienti presentasse ulcere digitali al momento dell'arruolamento nello studio va sottolineato che nessun soggetto in trattamento ha sviluppato nuove ulcere digitali. L'impressione preliminare è che il farmaco sia più efficace dei trattamenti orali standard (es. associazione calcioantagonista e antiaggregante), ciò nonostante la comparsa di effetti collaterali protratti (sebbene non gravi) ha indotto un certo numero di pazienti ad interrompere il trattamento. Alla luce dei dati finora ottenuti non ci è stato possibile identificare quali pazienti possano essere maggiormente suscettibili di sviluppare effetti indesiderati.

Obiettivi da completare:

- Incremento del numero di pazienti arruolati (nell'autunno 2011 verranno arruolati 10 nuovi pazienti, presentando al Comitato Etico locale un emendamento di prolungamento dello studio che si dovrebbe quindi protrarre fino alla primavera 2012)
- Analisi statistica dei dati ottenuti con aggiunta di nuovi parametri e variabili da analizzare

- Valutazione dell'effetto della terapia con Cilostazolo su eventuali cambiamenti strumentali pre- e post-trattamento mediante la misurazione della FMD (*flow-mediated dilation*) dell'arteria brachiale
- Valutazione *in vitro* di eventuali variazioni dell'assetto immunologico (linfociti regolatori, linfociti effettori, citochine pro- e anti-infiammatorie) utilizzando metodiche di immunochimica (elisa) e di citofluorimetria

Ringraziamenti: Prof. Pasquale Lantieri (per il supporto nelle analisi statistiche), dott.ssa Francesca Spanò e dott.ssa Ottavia Magnani (per il supporto nel follow-up clinico dei pazienti e la raccolta dei dati)

BIBLIOGRAFIA

1. Gabrielli, A., E.V. Avvedimento, and T. Krieg, *Scleroderma*. The New England journal of medicine, 2009. **360**(19): p. 1989-2003.
2. Klein-Weigel, P., C. Opitz, and G. Riemekasten, *Systemic sclerosis - a systematic overview: part 1 - disease characteristics and classification, pathophysiologic concepts, and recommendations for diagnosis and surveillance*. VASA. Zeitschrift fur Gefasskrankheiten. Journal for vascular diseases, 2011. **40**(1): p. 6-19.
3. Opitz, C., P.F. Klein-Weigel, and G. Riemekasten, *Systemic sclerosis - a systematic overview: part 2 - immunosuppression, treatment of SSc-associated vasculopathy, and treatment of pulmonary arterial hypertension*. VASA. Zeitschrift fur Gefasskrankheiten. Journal for vascular diseases, 2011. **40**(1): p. 20-30.
4. Heidrich, H., *Functional vascular diseases: Raynaud's syndrome, acrocyanosis and erythromelalgia*. VASA. Zeitschrift fur Gefasskrankheiten. Journal for vascular diseases, 2010. **39**(1): p. 33-41.
5. Baumhake, M. and M. Bohm, *Recent achievements in the management of Raynaud's phenomenon*. Vascular health and risk management, 2010. **6**: p. 207-14.
6. Levien, T.L., *Advances in the treatment of Raynaud's phenomenon*. Vascular health and risk management, 2010. **6**: p. 167-77.
7. Pearce, L., et al., *Cilostazol and peripheral arterial disease*. Expert opinion on pharmacotherapy, 2008. **9**(15): p. 2683-90.
8. Kamal, A.K., et al., *Cilostazol versus aspirin for secondary prevention of vascular events after stroke of arterial origin*. Cochrane database of systematic reviews, 2011(1): p. CD008076.
9. Kanlop, N., S. Chattipakorn, and N. Chattipakorn, *Effects of cilostazol in the heart*. Journal of cardiovascular medicine, 2011. **12**(2): p. 88-95.

10. *Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee.* Arthritis and rheumatism, 1980. **23**(5): p. 581-90.
11. LeRoy, E.C., et al., *Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis.* The Journal of rheumatology, 1988. **15**(2): p. 202-5.
12. LeRoy, E.C. and T.A. Medsger, Jr., *Criteria for the classification of early systemic sclerosis.* The Journal of rheumatology, 2001. **28**(7): p. 1573-6.
13. Merkel, P.A., et al., *Measuring disease activity and functional status in patients with scleroderma and Raynaud's phenomenon.* Arthritis and rheumatism, 2002. **46**(9): p. 2410-20.
14. La Montagna, G., et al., *[HAQ-DI Italian version in systemic sclerosis].* Reumatismo, 2006. **58**(2): p. 112-5.
15. Steen, V.D. and T.A. Medsger, Jr., *The value of the Health Assessment Questionnaire and special patient-generated scales to demonstrate change in systemic sclerosis patients over time.* Arthritis and rheumatism, 1997. **40**(11): p. 1984-91.
16. Rollando, D., et al., *Brachial artery endothelial-dependent flow-mediated dilation identifies early-stage endothelial dysfunction in systemic sclerosis and correlates with nailfold microvascular impairment.* The Journal of rheumatology, 2010. **37**(6): p. 1168-73.
17. Fenoglio, D., et al., *Alteration of Th17 and Treg cell subpopulations co-exist in patients affected with systemic sclerosis.* Clinical immunology, 2011.