



FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA

OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

U.O.C. ALLERGOLOGIA E IMMUNOLOGIA CLINICA

CENTRO DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLA SCLEROSI SISTEMICA
"SCLERODERMA CLINIC"

RESPONSABILE F.F.: DOTT. ALBERTO TEDESCHI - DIRETTORE: DOTT. LORENZO BERETTA

MILANO, VIA PACE 9 – TEL. 02.5503.5283 - FAX 02.5503.5289

Report finale del progetto intitolato “Genetic and Microcirculatory Factors Associated with Systemic Sclerosis Evolution: from Early to Definite scleroderma” a cura del dott. Lorenzo Beretta

Scopo del progetto

Il progetto di studio si proponeva studiare la presenza di fattori genetici e microcircolatori in grado di prognosticare l'evoluzione dei pazienti da una fase precoce di malattia (EarlySSc) ad una definitiva (definiteSSc secondo I criteri ACR/EULAR 2013) e di differenziare i pazienti nelle diverse forme di malattia.

Metodologia di studio

Lo studio si articolava in diverse fasi comprendenti:

- a) L'individuazione di soggetti con EaSSc e la loro valutazione nel tempo per evidenziare l'evoluzione verso una forma di definiteSSc
- b) L'isolamento di materiale genetico da questi stessi soggetti e l'analisi dei fattori genetici nell'evoluzione di malattia
- c) Lo studio delle caratteristiche microcircolatorie basali di questi soggetti tramite videocapillaroscopia e l'analisi di questi fattori nell'evoluzione di malattia
- d) Lo studio di una corte più ampia di soggetti affetti da SSc e l'estrazione da questi stessi soggetti di materiale biologico per lo studio di fattori circolatori per differenziare i gruppi di analisi.
- e) Lo studio dell'interazione fra fattori microcircolatori e genetici nell'evoluzione di malattia.

Aderenza al programma

- a) Sono stati individuati 158 soggetti con EaSSc valutati in forma prospettica per evoluzione verso una forma di definiteSSc.
- b) Tutti i soggetti sono stati sottoposti a tipizzazione ad alta risoluzione delle molecole MHC di classe II; il DNA estratto è stato inviato all'unità collaboratrice di Catania per lo



ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA D.M.29-12-2004
via Francesco Sforza, 28 – 20122 Milano – Telefono 02 5503.1 – Fax 02 58304350
Codice Fiscale e Part. IVA 04724150968



FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
U.O.C. ALLERGOLOGIA E IMMUNOLOGIA CLINICA

CENTRO DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLA SCLEROSI SISTEMICA
"SCLERODERMA CLINIC"

RESPONSABILE F.F.: DOTT. ALBERTO TEDESCHI - DIRETTORE: DOTT. LORENZO BERETTA
MILANO, VIA PACE 9 – TEL. 02.5503.5283 - FAX 02.5503.5289

studio delle mutazioni geniche di FOXP3, ICOS e ICOSL.

c) Di tutti i soggetti in studio sono state rivalutate le immagini o i referti capillaroscopici al momento della diagnosi di EaSSc, in assenza di altri segni di malattia definitiva

d) Un totale di 181 soggetti sclerodermici nelle diverse fasi di malattia (47 eaSSc, 48 definiteSSc senza fibrosi, 51 con variante cutanea limitata e 35 con variante cutanea diffusa) + 43 soggetti sani sono stati prelevati per l'analisi dei seguenti analiti: ET-1, sICAM-1, sVCAM-1, E-Selectina, CXCL16, IL8/CXCL8, VEGF, IP-10, Angiopoietin2.

e) Nell'ambito delle analisi statistiche è stata effettuato lo studio di interazione dei fattori.

Deviazioni dal programma di studio

Nel programma di studio non vi è stata alcuna deviazione sostanziale rispetto al piano originale. Sono stati effettuati alcuni cambiamenti non sostanziali rispetto ad esso:

-Lo studio dei fattori genetici è stato limitato alle molecole HLA di classe I e II e allo studio delle mutazioni puntiformi dei geni di FOXP3, ICOS e ICOSL

-Lo studio dei fattori vascolari è stato modificato rispetto al piano originale ed ampliato con inclusione di più molecole rispetto a quanto programmato in precedenza

Risultati dello studio

Diversi risultati sono emersi dal programma di ricerca effettuato, i principali dei quali sono stati pubblicati in: Vigone et al, Rheumatology (Oxford). 2014 Sep 16 e inviati al prossimo congresso EULAR (abstract #15-6347). In entrambi i casi è fatta specifica menzione che lo studio è stato condotto con fondi dal bando GILS.

I principali risultati da noi ottenuti sono di seguito illustrati:

-Si evidenzia come la coorte di studio composta da 158 soggetti con EaSSc sia la più ampia del genere descritta in letteratura, e comunque più ampia di quanto descritto in Koenig et al, Arthritis Rheum. 2008 Dec;58(12):3902-12 (140 soggetti con EaSSc).

-Similmente la casistica di 181 soggetti con SSc nelle diverse fasi di malattia risulta unica



ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certification



ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA D.M.29-12-2004
via Francesco Sforza, 28 – 20122 Milano – Telefono 02 5503.1 – Fax 02 58304350
Codice Fiscale e Part. IVA 04724150968



FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

U.O.C. ALLERGOLOGIA E IMMUNOLOGIA CLINICA

CENTRO DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLA SCLEROSI SISTEMICA
"SCLERODERMA CLINIC"

RESPONSABILE F.F.: DOTT. ALBERTO TEDESCHI - DIRETTORE: DOTT. LORENZO BERETTA
MILANO, VIA PACE 9 – TEL. 02.5503.5283 - FAX 02.5503.5289

e mai studiata in precedenza e in ogni caso più ampia di quelle descritte in Camargo et al, Scand J Rheumatol. 2015;44(1):48-55 (125 soggetti inclusi) o in Vettori et al, J Clin Immunol. 2014 Aug;34(6):663-8 (72 soggetti inclusi).

-E' stato osservato come la maggior parte dei soggetti con EaSSc evolva verso una forma di definiteSSc entro 10 anni dalla diagnosi di malattia, con stime di evoluzione calcolate con il metodo di Kaplan-Meier a 5 e 10 anni pari al 59.8% e 80%, rispettivamente.

-Il rischio di evoluzione verso una definiteSSc è risultato inferiore per i soggetti con positività per gli anticorpi anti-centromero (ACA) rispetto ai soggetti che non avevano tale anticorpo (mediana del tempo di evoluzione = 55 vs 23 mesi, $p = 0.026$; HR = 0.655, CI₉₅ = 0.448 – 0.956).

-Il rischio di evoluzione verso una definiteSSc è risultato superiore per coloro con un pattern capillaroscopico di tipo "active/late" rispetto a coloro con un pattern di tipo "slow" (mediana del tempo di evoluzione = 24 vs 55 mesi, $p = 0.041$, HR = 1.478, CI₉₅ = 1.010 – 2.163).

-La presenza dell'aplotipo HLA DQ5-DR1 è risultata protettiva nei confronti del rischio di evoluzione in coloro con tale fattore genetico verso coloro che non lo hanno (mediana del tempo di evoluzione = 43 vs 108 mesi, $p = 0.003$, HR = 0.37, CI₉₅ = 0.19 – 0.74).

-Il ruolo dell'HLA è risultato additivo con quello degli ACA nel proteggere dal rischio di evoluzione: mediana del tempo di evoluzione nei pazienti ACA negativi, 22 mesi; nei pazienti ACA positivi e negativi per l'HLA, 47 mesi; nei pazienti ACA positivi e HLA DQ5-DR1 positivi, > 120 mesi.

-Nessuno delle altre mutazioni geniche studiate (FOXP3, ICOS, ICOSL) è risultata associata alla progressione di malattia o ad un diverso tempo di evoluzione da EaSSc a definiteSSc.

-I pazienti con diverse fasi di malattia mostrano una diversa concentrazione dei marcatori sierici di vasculopatia, con un significativo trend lineare a partire dai controlli, alle forme EaSS, alle forme definiteSSc alle lcSSc e dcSSc.



ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA D.M.29-12-2004
via Francesco Sforza, 28 – 20122 Milano – Telefono 02 5503.1 – Fax 02 58304350
Codice Fiscale e Part. IVA 04724150968



FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA

OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

U.O.C. ALLERGOLOGIA E IMMUNOLOGIA CLINICA

CENTRO DI RIFERIMENTO PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLA SCLEROSI SISTEMICA
"SCLERODERMA CLINIC"

RESPONSABILE F.F.: DOTT. ALBERTO TEDESCHI - DIRETTORE: DOTT. LORENZO BERETTA
MILANO, VIA PACE 9 - TEL. 02.5503.5283 - FAX 02.5503.5289

Marcatore	Test for trend
Angiopoietin	F = 15.923, p < 0.001
CXCL16	F = 21.86, p < 0.001
E-Selectin	F = 12.22, p = 0.001
ICAM	F = 9.44, p = 0.002
IL-8	F = 0.02, p = NS
VCAM	F = 5.859, p = 0.016
VEGF	F = 4.397, p = 0.032
IP-10	F = 7.348, p = 0.007

Conclusioni

I risultati ottenuti mostrano che alterazioni microcircolatorie e vasculopatiche sono presenti fin dalle prime fasi di malattia, tali alterazioni tendono a peggiorare con il progredire della malattia e con la severità di essa (in relazione ai sottotipi di malattia). La severità delle alterazioni vasculopatiche iniziali, determinata tramite capillaroscopia, è predittiva di una futura evoluzione della malattia. Tale evoluzione è determinata anche in relazione alla presenza di alcuni marcatori genetici nell'ambito delle molecole di HLA classe II.

I risultati ottenuti sono in linea con il piano sperimentale e con le ipotesi del progetto.

Cordiali saluti,

Dott. Lorenzo Beretta



ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA D.M.29-12-2004
via Francesco Sforza, 28 - 20122 Milano - Telefono 02 5503.1 - Fax 02 58304350
Codice Fiscale e Part. IVA 04724150968