

Venerdì 14 novembre 2008
UNIVERSITÀ di MILANO-BICOCCA

I° Workshop MIA: Lupus Eritematoso Sistemico

Dr. Antonello Villa, Dr.ssa Pamela Della Mina,

Dr. Alessandro Corbelli, Prof. Adalberto Sessa.

Consorzio MIA Via Cadore 48 20052 Monza

www.consorziomia.org

Il 14 Novembre 2008, presso l'Università degli Studi di Milano Bicocca, si è svolto il I° Workshop scientifico promosso dal Consorzio MIA, Consorzio per lo sviluppo della Microscopia e dell'Analisi dell'Immagine nella ricerca biomedica e tecnologica. Il Consorzio MIA ha lo scopo fondamentale di fornire un servizio di analisi morfologica a diversi gruppi di ricerca scientifica, su progetti approvati dal proprio Comitato Tecnico Scientifico. Attualmente, Soci del Consorzio MIA sono l'Università degli Studi di Milano Bicocca, l'Istituto Nazionale dei Tumori, l'Istituto Mario Negri, la Fondazione Tettamanti, la Fondazione D'Amico, la Fondazione Matarelli. Direttore del Consorzio MIA è il Dr. Antonello Villa; Presidente il Prof. Emilio Berti.

Attualmente il LES, più che una malattia, viene considerato come una sindrome secondaria ad una molteplicità di complessi eventi immunologici, sia umorali che cellulari, che comportano differenti quadri clinici secondari a lesioni anatomiche e ad alterazioni funzionali di più organi, apparati, e tessuti. Nella patogenesi della sindrome sono coinvolti disordini autoimmunitari, ma anche fattori genetici, ambientali, ed ormonali.

Considerati i numerosi lavori scientifici apparsi nella letteratura medica in questo ultimo anno sui progressi delle conoscenze relativi ai diversi meccanismi patogenetici del LES e relativi a nuove prospettive terapeutiche, ci è parso opportuno scegliere questa sindrome quale argomento scientifico del I° Workshop del Consorzio MIA:

Il *Prof. Giuseppe Remuzzi* ha aperto i lavori scientifici con una Lettura Magistrale sul LES sottolineandone la complessità dei meccanismi patogenetici, sia congeniti che acquisiti, che sono alla base dei differenti quadri clinici, più o meno gravi e variabili da paziente a paziente. I numerosi polimorfismi genetici, le diverse alterazioni funzionali del sistema immunitario umorale e cellulare, il ruolo di complessi meccanismi dell'infiammazione a livello tissutale, coinvolti nel meccanismo patogenetico del LES, rendono conto della complessità e delle diversità di manifestazioni cliniche della malattia. Anche se la prognosi del LES è migliorata in modo sensibile grazie a più circoscritte e precoci possibilità diagnostiche, e grazie alle più recenti acquisizioni terapeutiche, la pianificazione del trattamento farmacologico richiede particolare attenzione, sia nella fase di "attacco" che di "mantenimento", per poter garantire la migliore efficacia clinica riducendo al minimo gli effetti collaterali dei farmaci immunosoppressori.

La *Prof.ssa Raffaella Scorza* ha affrontato il ruolo svolto dai diversi polimorfismi genetici che caratterizzano il LES e che devono essere presenti nel singolo individuo, affinché la malattia si fenotipizzi. L'errore genetico è, comunque, poligenico e quindi non si tratta di un meccanismo ereditario a trasmissione Mendeliana (errore monogenico); al contrario sono coinvolti diversi geni presenti su differenti cromosomi. Per tale motivo è, per il momento, praticamente impossibile fare correlazioni genotipo-fenotipo nel LES, cioè capire in base all'errore genetico presente in un dato paziente quale potrà essere il suo quadro clinico e

l'evoluzione, più o meno favorevole nel tempo, della malattia. Soltanto un accurato studio clinico portato su grandi casistiche potrà essere in grado di evidenziare dati statisticamente significativi.

Il *Prof. Agostino Pugliese* ha sottolineato il ruolo svolto dalle infezioni virali intercorrenti nel modificare l'*antigenicità* cellulare. Infezioni virali determinate dal Parvovirus B 19, dal Citomegalovirus, dal virus Epstein-Barr possono avere un ruolo fondamentale sia nell'induzione che nelle esacerbazioni cliniche del LES. Queste infezioni virali ed altre infezioni da retrovirus sono capaci di alterare l'equilibrio di un sistema immunitario geneticamente predisposto, attivando la secrezione di Interferone, con incremento dell'apoptosi cellulare e con stimolazione delle cellule dendritiche e dei linfociti T quali modulatori dei meccanismi della formazione di auto-anticorpi.

La *Dr.ssa Laura Andreoli* ha sottolineato il ruolo svolto nella patogenesi del LES dai cosiddetti "epitopi conformazionali", i quali evocano risposte immunitarie di tipo anticorpale contro alcuni antigeni delle proprie cellule. La presenza di autoanticorpi nel siero e l'entità del loro tasso sono utili nella diagnostica sierologica del LES e possono avere anche un significato prognostico sulla severità della malattia, anche se è ben nota l'esistenza di pazienti sierologicamente "attivi" ma clinicamente "quiescenti". Gli autoanticorpi formano immunocomplessi con antigeni nucleari che risultano essere circolanti, perchè non vengono eliminati in modo completo dal sistema reticolo-endoteliale. Questi immunocomplessi circolanti possono depositarsi direttamente sulle pareti dei capillari glomerulari renali, oppure possono interagire con alcuni componenti delle pareti dei capillari glomerulari, quali actina, laminina, ecc., determinando la comparsa del quadro clinico della nefrite lupica.

La *Prof.ssa Maria Grazia Sabbadini* ha trattato il ruolo fondamentale svolto dalle cellule dendritiche nella presentazione dell'antigene nel meccanismo immunopatologico del LES. Le cellule dendritiche fanno parte di una famiglia eterogenea di cellule ubiquitariamente presenti nell'organismo. Le cellule dendritiche hanno il preciso compito di catturare l'antigene, di eseguire la sua processazione endocellulare, e di esporlo alle cellule linfocitarie per suscitare la risposta anticorpale corretta e correlata in modo specifico all'antigene in causa. Le cellule dendritiche veicolano a sede linfonodale l'antigene presentandolo ai linfociti T con la conseguente risposta anticorpale da parte dei linfociti B. Questo meccanismo immunologico è fedelmente rappresentato anche nel LES, ovviamente con la processazione e con l'esposizione di antigeni cellulari di propria appartenenza, e con la conseguente risposta auto-anticorpale.

La *Dr.ssa Ariela Benigni* ha riferito sul ruolo patogenetico nel LES del "Toll-like receptor 9" (TLR9) quale rappresentante di una famiglia ancestrale del sistema immunitario capace di identificare e discriminare gli antigeni cellulari di propria appartenenza e, quindi, di svolgere un ruolo patogenetico nelle malattie auto-anticorpali quali il LES. Il TLR9 è in grado di determinare un'alterazione funzionale delle cellule epiteliali del tubulo renale, le quali diventano capaci di produrre citochine come se fossero delle cellule infiammatorie, con la conseguente evidenza morfologica e funzionale di danno renale tubulo-interstiziale. Inoltre, l'impiego di farmaci inibitori delle cicline svolge un effetto antiproteinurico nella nefrite lupica, perchè ha un'azione antiinfiammatoria, in quanto previene l'attivazione del TLR9.

Il *Prof. Emilio Berti* ha presentato la documentazione iconografica delle lesioni cutanee che caratterizzano clinicamente il LES nella fase acuta e subacuta, ed il Lupus Eritematoso Discoide (LED). Le lesioni cutanee sono presenti in circa l'80% dei pazienti affetti da LES, con distribuzione a sedi preferenziali (es. eritema a farfalla del volto), e sono esacerbate dall'esposizione ai raggi ultravioletti i quali, sollecitando l'apoptosi delle cellule epidermiche, possono essere causa di attivazioni cliniche, anche sistemiche, della malattia. La biopsia cutanea, studiata con la microscopia immunofluorescente, documenta la presenza di depositi di immunoglobulina G e della frazione C3 del complemento a livello della giunzione dermo-epidermica. Il LED viene classificato in "tumido", "bolloso" e "profondo", e viene trattato con farmaci antimalarici e con corticosteroidi.

Il *Dr. Alberto Sinico* ha riportato i dati epidemiologici, ricordando che il LES è più frequente ed ha un decorso clinico più burrascoso nell'etnia afro-americana. Comunque, il LES è ubiquitario nel mondo, presenta attualmente un'incidenza in continuo aumento, ha una frequenza maggiore nel sesso femminile (fattori ormonali) rispetto al sesso maschile, con un picco di incidenza corrispondente all'età anagrafica della fertilità nella donna. L'evidenza di patologia renale più o meno severa compare nell'80% dei pazienti nel decorso clinico della loro malattia. Le manifestazioni cliniche sono molteplici e di entità assai variabile, con il coinvolgimento a volte concomitante di diversi organi con funzioni vitali. Accanto ad alterazioni ematologiche (anemia emolitica, piastrinopenia da autoanticorpi) possono esistere alterazioni reumatologiche (artrite ed artrosi più o meno diffuse e persistenti), alterazioni delle sierose (pleuriti e pericarditi), manifestazioni cardiologiche (endocardite di Liebman-Sacks), vasculiti più o meno diffuse e recidivanti, ipertensione polmonare, sindrome del polmone coartato, embolia polmonare e/o infarti d'organo correlati alla presenza di anticorpi antifosfolipidi, alterazioni anatomiche funzionali a carico dell'apparato gastroenterico, manifestazioni neurologiche con quadri clinici di gravi psicosi, ed, infine, la nefropatia lupica, che si presenta con molteplici caratteristiche cliniche ed a volte così grave da determinare una severa prognosi nonostante gli innegabili progressi della terapia medica e farmacologica. Gli esami ematologici di laboratorio con la ricerca della presenza e del relativo dosaggio dei Fattori Antinucleo (FAN), degli anticorpi anti-DNA, degli anticorpi nucleari estraibili (ENA), degli anticorpi antinucleosomi, degli anticorpi anti C1q, delle frazioni C3 e C4 del complemento, sono indispensabili per porre una corretta diagnosi di LES e permettere diagnosi differenziali con altre malattie che si presentino con aspetti clinici simili al LES.

Il *Prof. Andrea Onetti Muda* ha presentato la documentazione iconografica relativa a preparati istologici di biopsie renali studiate con le tecniche della microscopia ottica, immunofluorescente ed elettronica. Ha riportato gli elementi istologici che definiscono una maggiore severità di malattie renali, e le lesioni di significato prognostico meno favorevole relativamente all'evoluzione della nefrite lupica. Le lesioni renali non sono confinate alle strutture glomerulari, ma coinvolgono anche la componente tubulare, il tessuto tubulo-interstiziale, e la microcircolazione renale con vasculiti e venuliti. La patologia renale è, quindi, polimorfa, e rende conto dei differenti quadri clinici e della differente entità di compromissione di funzionalità renale evidenziata nei singoli pazienti. Il *Prof. Onetti Muda* ha presentato la più recente classificazione istologica a valenza internazionale riguardante i diversi aspetti della patologia renale, comprensiva delle diverse classi di lesioni glomerulari, ed anche delle lesioni tubulo-interstiziali e vascolari, con gli aspetti istologici corrispondenti a fasi attive o di quiescenza della malattia. È stato sottolineato il dato di fatto che la biopsia renale rappresenta lo stato di lesione "attuale" del paziente, e che la lesione istologica può evolvere nel tempo in classi differenti nell'ambito del decorso clinico dello stesso paziente. Da ultimo è stata sottolineata l'importanza delle lesioni renali tubulo-interstiziali nel condizionare l'evoluzione clinica del paziente verso l'insufficienza renale cronica terminale.

Il tema della gravidanza in donne affette da LES è stato presentato e discusso dalla *Prof.ssa Angela Tincani*. È noto che il sistema immunitario della donna in gravidanza diventa fisiologicamente più "tollerante" verso antigeni estranei proprio per la finalità di tollerare la struttura antigenica del prodotto del concepimento; quindi, in genere il LES in gravidanza è clinicamente "quiescente". Questa tolleranza immunologica cessa in puerperio e, nelle donne affette da LES, si possono verificare delle riacutizzazioni cliniche anche molto severe della malattia autoimmune. Nella relazione sono stati riportati dati statistici significativi sulla fertilità delle donne affette da LES, sui fattori di rischio clinico della gravidanza, sull'incidenza di aborti spontanei e di aborti terapeutici, sull'incidenza di parti eseguiti con taglio cesareo, sulla mortalità perinatale, sulle gravidanze pre-termine, e quindi sull'immaturità e prematurità dei neonati.

Il *Dr. Angelo Ravelli* ha trattato le problematiche cliniche dei bambini affetti da LES, nei quali la malattia è, fortunatamente, raramente presente. Oggigiorno, grazie alla possibilità di

diagnosi precoce ed ai conseguenti provvedimenti terapeutici, la sopravvivenza in età pediatrica è decisamente aumentata, ed il decorso clinico è più favorevole rispetto al passato. Tuttavia, i bambini risultano essere più esposti agli effetti collaterali della terapia farmacologica immunosoppressiva ed alle comorbidità intercorrenti. Particolari aspetti clinici caratteristici del bambino affetto da LES non sono evidenti, se non il ritardo dell'accrescimento staturale-ponderale e dell'età di insorgenza della pubertà.

La *Dr.ssa Milvia Lotzniker* ha riportato il pannello sierologico anticorpale con il significato clinico del monitoraggio autoanticorpale nei pazienti affetti da LES e nei pazienti affetti da nefrite lupica, ricordando anche l'importanza ed il ruolo patogenetico degli anticorpi antinucleosomi, ed anti C1q del sistema complementare.

Le ultime due relazioni hanno preso in considerazione le nuove prospettive terapeutiche del LES. Il trattamento farmacologico del LES prevede schemi di cura per la fase acuta della malattia e schemi di cura a lungo termine per la fase clinica. Lo scopo è quello di raggiungere il migliore controllo clinico nel singolo paziente, utilizzando dosaggi farmacologici che riducano al minimo gli effetti collaterali tipici della terapia immunosoppressiva. La *Dr.ssa Erica Daina* ha ricordato l'impiego di prednisone e metilprednisolone anche ad alto dosaggio (boli) a volte in associazione a ciclofosfamide (per os o a boli) per il trattamento della fase acuta del LES e della nefrite lupica, considerando anche gli effetti collaterali e la tossicità di queste terapie, e le percentuali di ricadute della malattia dopo l'iniziale miglioramento clinico. Il trattamento cronico di mantenimento con prednisone da solo o in associazione ad altri farmaci immunosoppressori quali agenti alchilanti (ciclofosfamide e clorambucil), agenti antimetaboliti ed antiproliferativi (azatioprina, micofenolato mofetil, sirolimus), agenti inibitori della calcineurina (ciclosporina, tacrolimus), può comportare numerosi effetti clinici collaterali quali anemia, leucopenia, piastrinopenia, diabete mellito, osteoporosi, ulcera gastrica, insufficienza delle gonadi, ed altri ancora. La *Dr.ssa Daina* ha riportato dati sperimentali e dati clinici sull'utilità del micofenolato mofetil nel trattamento della nefropatia lupica, sia nella fase acuta che nella terapia di mantenimento della fase cronica. Nell'animale da esperimento il micofenolato mofetil svolgerebbe anche un ruolo antiproliferativo sulle cellule mesangiali glomerulari. Nel trattamento clinico del LES il metabolita farmacologicamente attivo è l'acido mecofenolico, la cui biodisponibilità è condizionata non solo dalla presenza o meno e dall'entità di insufficienza renale, ma anche dalla possibile interferenza di altri farmaci usati in concomitanza (antiipertensivi, antibiotici, ecc.) e sicuramente dai polimorfismi genetici.

Il *Dr. Fabrizio Conti* ha sottolineato la necessità di proporre alternative terapeutiche per il trattamento del LES con la logica di migliorare la sopravvivenza dei pazienti, ritardare nel tempo la comparsa dell'insufficienza renale cronica, ed ottenere una riduzione degli effetti clinici secondari propri della terapia immunosoppressiva gestita a lungo termine. Ha riportato dati sperimentali (topi NZB/NZW) sul decorso del LES abolendo la popolazione dei linfociti B. Nel trattamento clinico del LES nell'uomo viene oggi proposto l'impiego di anticorpi monoclonali (Rituximab, Belimumab, Epratuzumab, Abetimus sodico) che svolgono una specifica azione di deplezione su sottoclassi di linfociti B inducendone una deplezione duratura nel tempo, e così riducendo marcatamente o abolendo la produzione degli autoanticorpi. Ovviamente, nel singolo paziente occorre valutare il dosaggio ottimale ed il ritmo di somministrazione degli anticorpi monoclonali, per quanto tempo debbano essere somministrati, se da soli od in associazione con altri farmaci immunosoppressori. Ancora, occorre tenere ben presente l'evento clinicamente negativo di riattivare, nei pazienti così trattati, malattie virali pregresse e/o latenti, quali epatiti, poliomavirus, o altri retrovirus .

*Dr. Antonello Villa, Dr.ssa Pamela Della Mina,
Dr. Alessandro Corbelli, Prof. Adalberto Sessa.*
Consorzio MIA Via Cadore 48 20052 Monza
www.consorzioomia.org

