

Progetto finanziato dal Gruppo LES Italiano ONLUS - SCADENZA BANDO 16/9/2017

Report attività svolte nel 2018 nell'ambito del progetto pilota "P2X7R nel Lupus Eritematoso Sistemico (LES). Studio di una nuova via patogenetica nelle sierositi lupiche"

Attività svolte

Nel corso del 2018 è stata prodotta la documentazione necessaria da sottoporre al Comitato Etico. Dopo avere ottenuto l'approvazione, sono stati arruolati 31 pazienti che hanno espresso consenso scritto previa adeguata informazione e dopo avere preso visione del materiale informativo riguardante le modalità di svolgimento e le finalità dello studio.

I pazienti sono stati reclutati consecutivamente dall'ambulatorio dedicato al LES c/o U.O.C di Reumatologia dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Sant'Anna di Cona (FE).

Come gruppo di controllo, sono stati selezionati 30 volontari sani (donatori AVIS) che presentavano caratteristiche simili per quanto riguarda genere ed età.

Di tutti i pazienti sono stati raccolti dati in forma anonima inerenti la storia clinica, le terapie in atto e pregresse, le indagini di laboratorio (autoanticorpi, complemento, indici di infiammazione), l'attività di malattia ed il quadro clinico. Per la parte sperimentale, tutti i pazienti ed in controlli sono stati sottoposti ad un prelievo di sangue intero. Dal campione prelevato è stato possibile effettuare le seguenti valutazioni:

- Valutazione dei livelli plasmatici delle citochine infiammatorie: IL-6 e IL-1 β
- Isolamento di cellule mononucleate (cellule presenti nel sangue periferico) utilizzate per le seguenti valutazioni:
 1. valutazione dei livelli di espressione di P2X7R e NLRP3 (componente dell'inflammasoma);
 2. valutazione dell'attività di P2X7R.

Risultati preliminari

Caratteristiche cliniche

Dei 31 pazienti arruolati 13(40,6%) sono risultati positivi per storia di sierosite (LS) mentre 18 (59,4%) (LN) non presentavano tale manifestazione clinica (né in atto né pregressa).

Nella tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche cliniche dei due gruppi di pazienti. Considerando valori di p inferiori a 0,05 come compatibili con differenze significative, i due gruppi presentavano caratteristiche cliniche sovrapponibili tranne che per il complemento che è risultata più frequentemente ridotto negli LS (tabella 1).

Tabella 1: confronto fra pazienti LS e LN

	LS (13)	LN (18)	p
Età in anni media \pm DS	43 \pm 13.1	40 \pm 10.4	0.68
Durata di malattia in mesi media \pm DS	141 \pm 98.3	107 \pm 96.2	0.31
SLEDAI2k media \pm DS	4,9 \pm 4,6	3,8 \pm 4,2	0.34
SLICC media \pm DS	0,8 \pm 0,9	0,45 \pm 0,8	0.17
Anti DNA positivo	13 (100%)	15 (83,3%)	0.09
Consumo di complemento	10 (76,9%)	6 (33,3%)	0.03
VES media \pm DS	17.54 \pm 11.04	15.86 \pm 7.91	0.37

PCR media \pm DS	1.47 \pm 2.87	0.43 \pm 0.18	0.24
Steroide in atto	12 (92,3%)	13 (72,2%)	0.35
Idrossiclorochina in atto	10 (76,9%)	14 (77,8%)	1.0
Terapia immunosoppressiva maggiore in atto (Azatioprina, Methotrexate, Micofenolato mofetile, Ciclosporina, Belimumab, Rituximab)	6(46,2%)	8 (44,5%)	0.63
Dosaggio cumulativo steroide (gr)	23.26 \pm 20.05	17.84 \pm 19.01	0.42

Valutazione dell'attività ed espressione dell'asse P2X7R-NLRP3 inflammasoma

Dai risultati preliminari ottenuti, non è emersa al momento evidenza di aumentata espressione ed attività di P2X7R nei pazienti con lupus (LES) rispetto ai controlli sani (CS), anche focalizzando l'analisi sul gruppo di pazienti con sierosite. In particolare, nessuna differenza significativa nei livelli plasmatici di IL-1 β e IL-6 sono stati trovati tra i pazienti ed i controlli sani, anche valutando separatamente il gruppo con sol. Abbiamo osservato una ridotta espressione di P2X7R nei pazienti rispetto ai CS mentre l'espressione NLRP3 è risultata leggermente aumentata.

Il rilascio di IL-1 β in vitro è risultato inferiore diminuito nel paziente con LES (sia LS che LN) rispetto a CS mentre i livelli di IL-6 sono risultati più alti nei pazienti affetti da LES (soprattutto LN) dopo tutte le stimolazioni ed anche in condizioni basali

Conclusioni e valutazioni future

Dai risultati preliminari ottenuti, P2X7R sembra avere attività ridotta ed essere meno espresso nei pazienti affetti da LES. Abbiamo ipotizzato che questo difetto, possa essere correlato ad un effetto della terapia in atto, oppure alla presenza di polimorfismi nei geni codificanti il recettore stesso, in grado di ridurre l'attività o l'espressione. Questi aspetti saranno valutati nel corso dei prossimi mesi con ulteriori esperimenti. Infine, la produzione di IL-6, risultata aumentata nei pazienti, potrebbe invece essere mediata da una via P2X7R-indipendente.

I risultati preliminari sono stati presentati sotto forma di abstract accettato come poster al congresso europeo EULAR 2018 (presentato in occasione di guided poster tour, **Citation:** *Ann Rheum Dis, volume 77, supplement Suppl, year 2018, page A871.*)