



Roma 30.09.2019

**Progetto di ricerca su “Aspetti clinici e terapeutici del lupus neuropsichiatrico” dal titolo:
VALUTAZIONE DELLA NEUROPATIA DELLE PICCOLE FIBRE NEI PAZIENTI AFFETTI DA
LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO ED IDENTIFICAZIONE DI POTENZIALI SPECIFICI
BIOMARCATORI**

RESPONSABILE UNICO DEL PROGETTO: *Dott. Fulvia Ceccarelli, Reumatologia, Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma.*

STATO DELL'ARTE

Il Lupus Eritematoso Sistemico (LES) è una malattia autoimmune sistemica che si caratterizza per uno spettro clinico proteiforme che potenzialmente può coinvolgere qualsiasi organo e/o apparato. Il coinvolgimento del sistema nervoso rappresenta tuttora una delle principali cause di morbilità e mortalità. Da un punto di vista strettamente epidemiologico, è descritta una prevalenza tra il 23% e il 95% e un tasso standardizzato di mortalità di 9.5 volte più alto rispetto alla popolazione generale. Con il termine lupus neuropsichiatrico (NPSLE) si fa riferimento alla totalità delle manifestazioni neurologiche e psichiatriche che possono insorgere in corso di LES e che non possono essere spiegate da altra causa. Al fine di mettere ordine nel vasto scenario di manifestazioni descritte in corso di LES a carico del sistema nervoso, nel 1999 una commissione costituita da 35 specialisti internazionali (reumatologi, neurologi, psichiatri), sotto l'egida dell'*American College of Rheumatology*, ha redatto una lista di 19 sindromi, specificando per ciascuna di esse le caratteristiche cliniche, e la diagnosi differenziale. Sebbene nel corso degli anni la suddetta classificazione abbia rappresentato la pietra miliare nella diagnosi e attribuzione al LES delle manifestazioni neurologiche e psichiatriche, recentemente diversi autori ne hanno evidenziato le numerose criticità e hanno proposto di modificarla al fine di includere altre sindromi che solo recentemente sono state evidenziate. In particolare le manifestazioni a carico del sistema nervoso periferico incluse nella suddetta classificazione hanno una prevalenza che varia dal 2 al 10% e sono rappresentate principalmente da polineuropatie, mononeuropatie e meno frequentemente da neuropatia craniale, polineuropatia acuta infiammatoria demielinizzante, plessopatia, *miastenia gravis* e disautonomia. Tuttavia recenti evidenze suggeriscono che la neuropatia delle piccole fibre, caratterizzata da un danno selettivo delle fibre termo-dolorifiche di piccolo calibro, potrebbe rappresentare una delle manifestazioni di danno neuro-periferico più comune in corso di LES. Dal punto di vista clinico tale neuropatia si caratterizza per un esordio insidioso e si presenta con dolore di tipo neuropatico associato a parestesie o disestesie generalmente non responsivo ai comuni analgesici. I dati di prevalenza relativi a questa specifica manifestazione sono scarsi e oscillano nelle varie coorti studiate fra 1% e 83%. Tale percentuale è risultata, in uno studio, significativamente più elevata rispetto ad altre patologie reumatologiche, quali artrite reumatoide e sindrome di Sjogren. I meccanismi patogenetici alla base della neuropatia delle piccole fibre in corso di LES non sono stati del tutto chiariti. Sulla base delle ridotte evidenze presenti in letteratura è stato ipotizzato un danno endoteliale mediato da depositi di IgG sulla superficie delle fibre amieliniche, che potrebbe determinare lo sviluppo della suddetta neuropatia. Pertanto, sono necessari ulteriori studi volti a definirne i meccanismi eziopatogenetici e la reale frequenza nei pazienti affetti da LES.





L'importanza di approfondire la nostra conoscenza relativamente alla neuropatia delle piccole fibre risiede nella necessità di formulare una corretta diagnosi delle sindromi dolorose croniche, e conseguentemente di poter introdurre una appropriata terapia. Tali sindromi, talvolta francamente invalidanti, determinano un impatto significativo sulla qualità di vita dei pazienti, con compromissione della vita relazionale e lavorativa.

In particolare, una recente metanalisi evidenzia come nel 49% dei casi, una valutazione neurologica mirata consentiva di riformulare diagnosi di neuropatia delle piccole fibre in pazienti precedentemente classificate come affette da sindrome fibromialgica.

Tale considerazione appare estremamente importante alla luce della elevata frequenza di sindrome fibromialgica in corso di LES: i risultati di uno studio precedentemente condotto nella nostra corte di pazienti afferenti alla Lupus Clinic della Reumatologia del Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma, mostrava una prevalenza di fibromialgia pari al 32%.

Pertanto, una valutazione neurologica mirata potrebbe essere necessaria, soprattutto nei pazienti che riferiscono una sintomatologia dolorosa, al fine di discriminare fra sindrome fibromialgica e neuropatia delle piccole fibre. Una corretta diagnosi è infatti il presupposto indispensabile per l'introduzione di una terapia efficace non solo per il controllo della sintomatologia dolorosa, generalmente non responsiva ai comuni analgesici, ma che abbia lo scopo di rivolgersi alla causa della stessa.

Pertanto, alla luce di queste premesse, l'obiettivo primario del presente studio sarà quello di valutare la prevalenza della neuropatia delle piccole fibre in un'ampia coorte monocentrica di pazienti affetti da LES. Secondariamente, verrà ricercata la presenza di eventuali biomarcatori, in grado di identificare la severità di tale manifestazione, ma anche i soggetti a rischio di sviluppare la stessa. Non ultimo, lo studio valuterà il fenotipo clinico e sierologico di malattia che maggiormente si associa alla presenza di neuropatia delle piccole fibre e ne predice lo sviluppo.

MATERIALI E METODI

In un periodo di 18 mesi, saranno arruolati consecutivamente circa 200 pazienti affetti da LES in accordo con i criteri classificativi ACR 1997, afferenti all'ambulatorio dedicato Lupus Clinic della UOC di Reumatologia del Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma.

In accordo con il protocollo, verranno esclusi dallo studio i pazienti che presenteranno almeno una comorbidità potenzialmente confondente nel determinismo della neuropatia (diabete mellito, carenza di vitamina B12, concomitante sindrome di Sjogren, insufficienza renale terminale). Dopo aver ottenuto il consenso informato, i dati clinici e anagrafici verranno inseriti in un database elettronico che includerà i seguenti parametri: informazioni anagrafiche, anamnesi remota della patologia comprensiva di data della diagnosi, comorbidità, terapie precedenti e concomitanti, specificità autoanticorpali, livelli sierici di complemento. L'attività di malattia sarà valutata mediante l'indice SLEDAI-2K ed il danno cronico mediante lo SLICC Damage Index.

Mediante test ELISA verranno dosati i livelli sierici delle principali citochine coinvolte nella patogenesi del LES (BLyS, IL-17, IFN-alfa).

In collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze Umane della "Sapienza", Università di Roma ciascun paziente sarà sottoposto a:

- valutazione neurologica comprensiva di questionari specifici per la valutazione del dolore neuropatico,
- studio della conduzione nervosa mediante esame elettroencefalografico,
- *quantitative sensory testing* (QST),
- biopsia cutanea finalizzata allo studio delle fibre di piccolo calibro.

Nello specifico, la biopsia di cute rappresenta la metodica morfometrica raccomandata come *gold standard* nell'identificazione del danno a carico delle piccole fibre. È una tecnica mini invasiva,





eseguita utilizzando un punch circolare di 2 mm circa, sotto anestesia locale con lidocaina, e senza la necessità di punti di sutura. Tale metodica consente la valutazione dell'integrità delle terminazioni libere intra-epidermiche, di cui permette una valutazione non solo quantitativa, segnalando un'eventuale riduzione della densità di innervazione periferica, ma anche qualitativa, potendo evidenziare alterazioni morfologiche di significato degenerativo a carico dei terminali nocicettivi. L'esteso complesso di fibre nervose presente negli strati superficiali della cute può infatti essere evidenziato sul preparato bioptico attraverso metodiche di immunoistochimica, con l'utilizzo di anticorpi diretti verso l'idrolasi dell'ubiquitina *protein gene product 9.5* (PGP 9.5), una proteina diffusamente espressa nel sistema nervoso periferico.

Il QST rappresenta una misura psicofisiologica della percezione in risposta a stimoli meccanici, termici e dolorifici. Per ciascuna sensazione la soglia percettiva verrà determinata attraverso l'applicazione di stimoli sulla cute, di intensità crescente o decrescente.

Al fine di poter identificare possibili autoantigeni specifici per la suddetta neuropatia, verrà condotta un'analisi proteomica del campione bioptico e, attraverso spettrometro di massa, verranno identificati i peptidi separati attraverso cromatografia. Inoltre verrà messo appunto un test ELISA *home-made* al fine di identificare potenziali auto-anticorpi rivolti specificatamente verso i suddetti autoantigeni.

Analisi statistica

La valutazione statistica sarà eseguita mediante software dedicati: Statistical Package for Social Sciences 13.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) e GraphPad 5.0 (La Jolla, CA, USA). Le variabili quantitative saranno espresse come media \pm deviazione standard, le variabili qualitative in percentuale. In base alla distribuzione dei dati ottenuti, la comparazione delle variabili quantitative nei diversi gruppi sarà analizzata mediante il test di Mann-Whitney e il test T di student. Il confronto fra variabili nominali avverrà mediante chi-square (χ^2) test o test di Fisher. Un valore di P inferiore a 0.05 sarà considerato significativo. L'analisi multivariata sarà effettuata mediante regressione logistica.

RISULTATI ATTESI

Il presente studio si prefigge di approfondire le possibili cause della sintomatologia dolorosa cronica in corso di LES. Questo potrebbe consentire di introdurre una terapia mirata e quindi efficace, con conseguente miglioramento della qualità di vita dei pazienti. A tutt'oggi il dolore rappresenta sicuramente una delle problematiche più invalidanti per i pazienti, data anche la difficoltà di controllare completamente tale sintomo. Nondimeno, la gestione rappresenta una delle sfide più complesse per i medici.

Durata dello studio: 2 anni, di cui 18 mesi per arruolamento ed esecuzione di esami di laboratorio, 6 mesi per l'analisi dei risultati ottenuti.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. The New England journal of medicine. 2011
- Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 1997.
- Ad Hoc Committee. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. Arthritis Rheum 1999.
- Gladman DD ,et al. The development and initial validation of the systemic lupus international collaborating clinics/American college of rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. Arthritis & Rheumatism 1996.
- Gladman DD et al. Lack of correlation between the 3 outcomes describing SLE: disease activity, damage and quality of life. Clin Exp Rheumatol 1996
- Bortoluzzi et al. Peripheral nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a review of the evidenc Clin and Exp Rheuma 2019.





- Gøransson LG, et al. Small-diameter nerve fiber neuropathy in systemic lupus erythematosus. Arch Neurol. 2006
- Roldan CJ et al. Quantitative sensory testing in pain management. PainManag. 2015.
- Oomata et al Peripheral neuropathies in systemic lupus erythematosus: clinical features, disease associations, and immunologic characteristics evaluated over a twenty-five-year study period. Arthritis Rheumatol 2014.
- Joint Task Force of the EFNS and the PNS. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society Guideline on the use of skin biopsy in the diagnosis of small fiber neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society. J PeripherNerv Syst. 2010
- Oaklander et al. Scientific Advances in and Clinical Approaches to Small-Fiber Polyneuropathy: A Review. JAMA Neurol. 2019
- Zirkzee EJ et al. Mortality in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus (NPSLE). Lupus. 2014;
- Unterman A et al. Neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. Semin Arthritis Rheum. 2011
- Vivaldo JF et al. Definition of NPSLE: Does the ACR Nomenclature Still Hold? Front Med (Lausanne). 2018
- Tay SH et al. Diagnosing and attributing neuropsychiatric events to systemic lupus erythematosus: time to untie the Gordian knot? Rheumatology (Oxford). 2017
- Bortoluzzi A et al. Comment on: Diagnosing and attributing neuropsychiatric events to systemic lupus erythematosus: time to untie the Gordian knot? Rheumatology (Oxford) 2017
- Tseng MT et al. Skin denervation and cutaneous vasculitis in systemic lupus erythematosus. Brain. 2006
- Iannuccelli C et al. Fatigue and widespread pain in systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome: symptoms of the inflammatory disease or associated fibromyalgia? Clin Exp Rheumatol. 2012

Stima dettagliata del budget complessivo e specifico per le principali voci di spesa

Finanziatore	Gruppo LES Italiano		
Responsabile Scientifico	Dr.ssa Fulvia Ceccarelli		
Titolo Progetto	VALUTAZIONE DELLA NEUROPATIA DELLE PICCOLE FIBRE NEI PAZIENTI AFFETTI DA LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO ED IDENTIFICAZIONE DI POTENZIALI SPECIFICI BIOMARCATORI		
Data	30/09/2019		
BUDGET DETTAGLIATO			
Voci di spesa	Totale	%	Note
Acquisto Kit ELISA dosaggi citochine	10000	33	Pannello 3 differenti citochine, esecuzione dosaggio su coorte di circa 200 pazienti
Materiale per analisi proteomica	10000	33	Estrazione, processazione e analisi spettrofotometrica di proteine cellulari
Esecuzione ed analisi delle biopsie cutanee (comprensivo di materiale di consumo)	10000	33	Materiale per biopsia cutanea, estrazione mRNA, materiale per RT-PCR
TOTALE	30000	100	





La sottoscritta Fulvia Ceccarelli dichiara di non avere conflitti di interessi e di legami di parentela con i membri del Consiglio Direttivo del Gruppo LES Italiano.

Roma, 30/09/2019

In fede

Fulvia Ceccarelli

