



Nacionalni raziskovalni program (P3-0314)

„Sistemske avtoimunske bolezni”

UKC-LJ, Klinični oddelek za revmatologijo

Snežna Sodin-Šemrl

[ssodin1@yahoo.com](mailto:ssodin1@yahoo.com)

[snezna.sodin@kclj.si](mailto:snezna.sodin@kclj.si)

01-522-5596



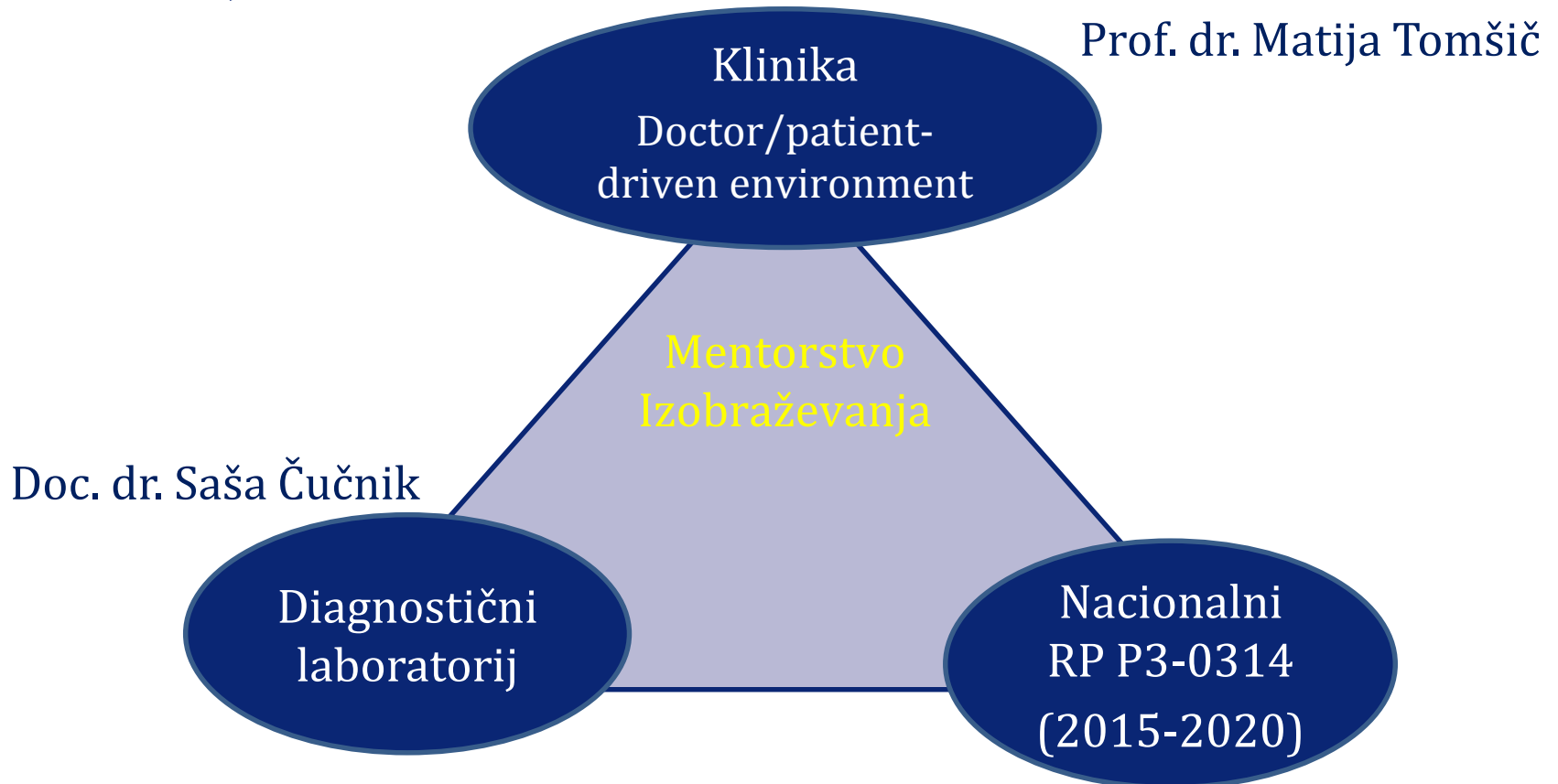
# Nacionalni raziskovalni program (2015-2020) „Sistemske avtoimunske bolezni”

- **36 članov raziskovalne skupine, 31/36 iz KO za revmatologijo**
- Pulmologija, Nevrologija, Hipertenzija
- Univerza v Ljubljani (Medicinska Fakulteta, Fakulteta za Farmacijo, Fakulteta za elektrotehniko)  
Inštitut Jožef Štefan  
Kemijski inštitut  
Univerza na Primorskem...
- Queen Mary University of London  
Northwestern University  
University of Utah  
University Hospital Zurich  
Technical University Graz...
- Translacijska 4P medicina, molekularna in celična biologija, fizika, kemija, bioinformatika



Kontinuirano izboljšanje diagnostike, prognostike, zdravljenja bolnikov s sistemskimi avtoimunskimi boleznimi, vzporedno z raziskavami, razvojem in izobraževanjem

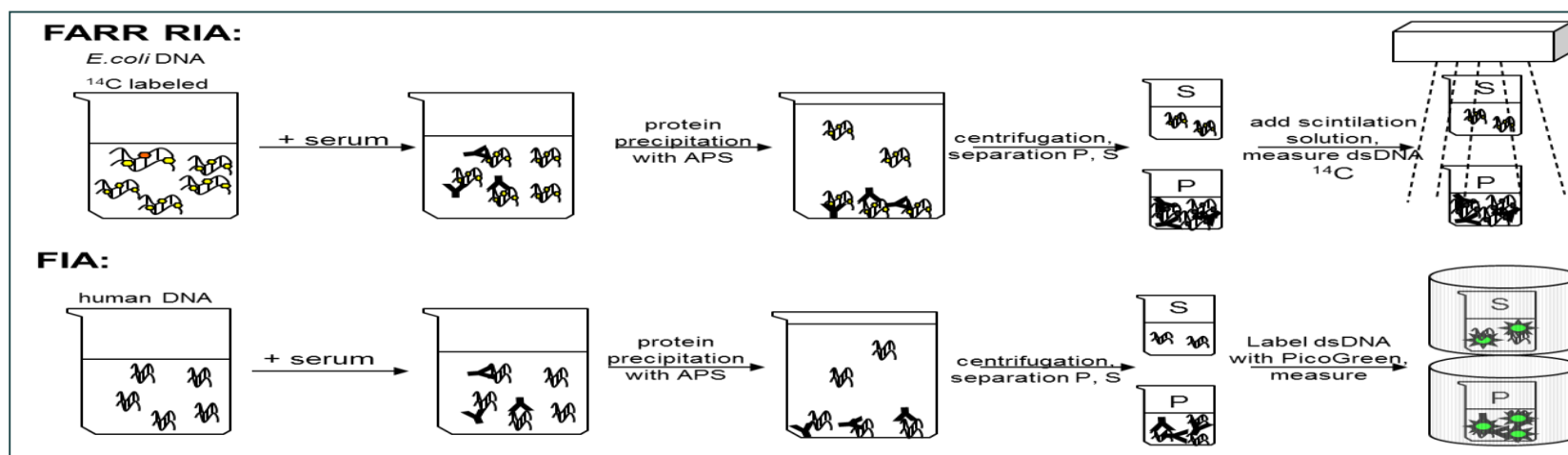
Prof. dr. Matija Tomšič



Fokus na kroničnih revmatičnih in avtoimunskih boleznih (Epidemiologija in terapija; Vasculitis, RA, APS, SSc, SjS...)

# Nekaj ključnih podatkov o P3-0314

- EU patent #3 102 593 B1, 2018; v ZDA (namera o podelitvi)  
„Fluorometric immunoassay for detection of anti-dsDNA antibodies“  
Sprememba detekcije anti-dsDNA protiteles – zamenjava radioaktivnega izotopa  $^{14}\text{C}$  in drugih toksičnih reagentov



- Objave med 2007-2017: povprečno 19 znanstvenih člankov na leto
- Mentorstvo doktorskim (9) in magistrskim (6) študentov
- EULAR in ACR (3 oralne prezentacije letos)

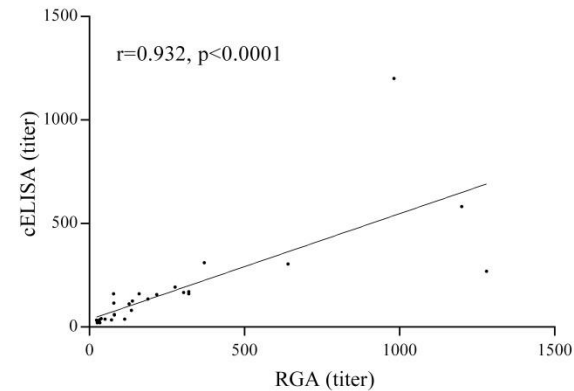
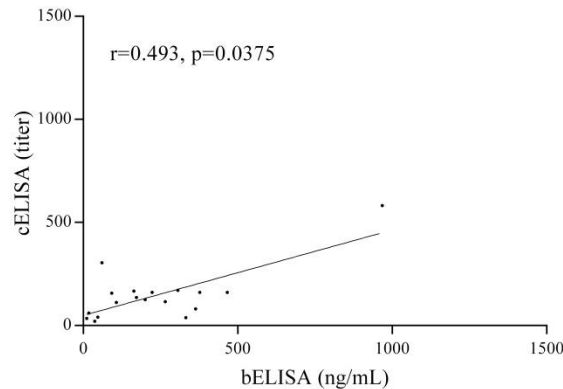
# Imunogenost: razvoj *in house* kompetitivne ELISA-e za detekcijo protiteles proti biološkima zdraviloma (IFX in ADA)

- **Posledica imunogenosti:** nastanek protiteles usmerjenih proti biološkim učinkovinam - njihova nevtralizacija in izločanje iz krvnega obtoka
- Uporaba terapevtskega spremljanja zaviralcev TNF- $\alpha$  in protiteles proti njim kot učinkovita podpora kliničnemu spremljanju bolezni
- Sodelovanje z gastroenterologi, UKC-LJ  
doc. dr. David Drobne in prof. Borut Štabuc

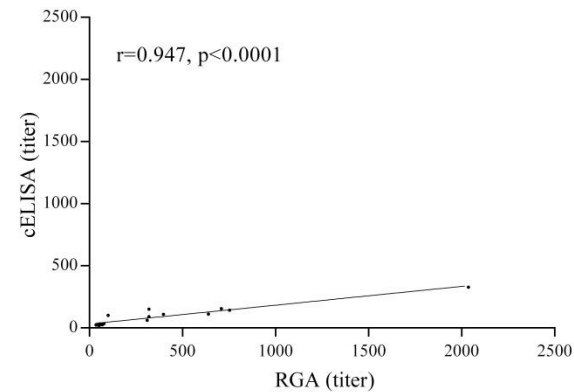
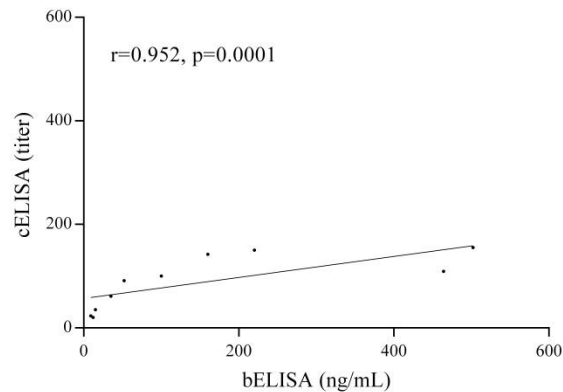


# Primerjava kompetitivne ELISA-e, premostitvena ELISA in celični funkcijski test (Reporter Gene Assay, RGA)

## A anti-IFX assays



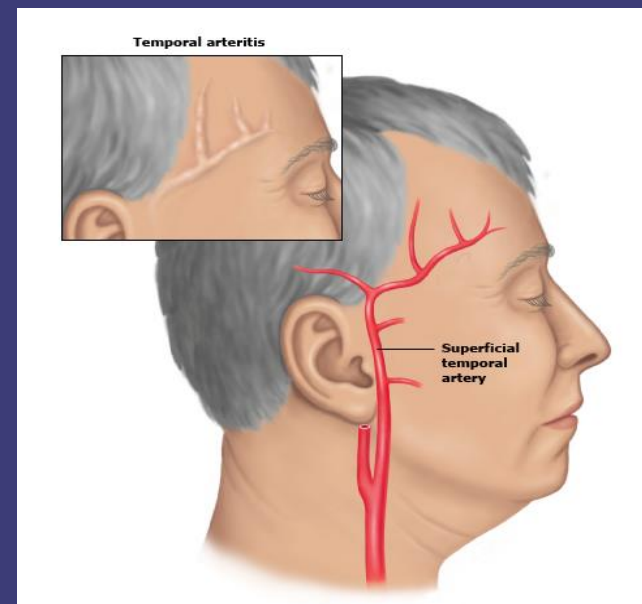
## B anti-ADL assays



# Gigantocelični arteritis

Študija potencialnih diagnostičnih, prognostičnih in predikcijskih kazalcev za bolezensko napredovanje, komplikacije in/ali poslabšanje

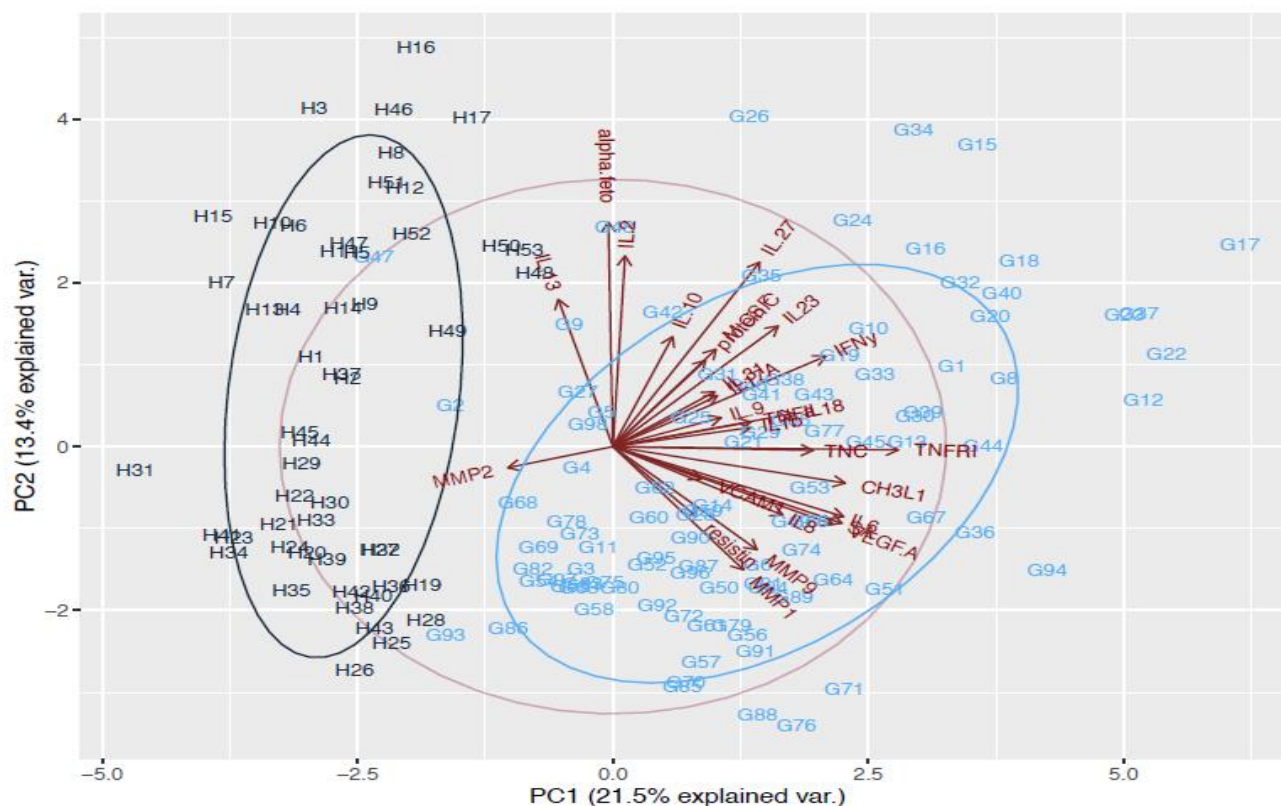
- Splošni simptomi
- Glavobol
- Temporalna arterija – boleča, oddebeljena
- Klavdikacija čeljusti
- Motnje vida (ishemična optična nevropatija): prehodna/stalna!  
**URGENTNO STANJE!!**
- Cerebrovaskularni inzulti **URGENTNO!!**



**Ni znanih serumskih markerjev za zasledovanje GCA, komplikacij in /ali poslabšanja bolezni**



- Najvišje povišani analiti: SAA (83x), IL-23 (58x), IL-6 (11x)
- Prvič pokazani signifikantno spremenjeni nivoji MARCO, alpha-fetoprotein, protein C, resistin, TNC, TNF-RI, M-CSF, IL-18 in IL-31



Principle component analysis: bolnikov z GCA (n=97) in krvodajalcev (n=52), 27 analiti



**Table 3** Significant association between measured parameters and GCA symptoms and complications

Symptoms/ complications	n+	n-	Parameter	+ median (Q25–Q75)	– median (Q25–Q75)	<i>p</i> value	<i>p</i> value adjusted
General symptoms	75	23	age	74.9 (67.8–79.0)	72.1 (66.7–74.6)	0.0498	0.6446
	73	23	aPS/PT IgA	0.0 (0.0–7.0)	6.0 (0.0–10.5)	0.0333	0.6446
	75	23	IFN-gamma	1.6 (1.6–3.2)	3.2 (1.6–10.4)	0.0100	0.4588
PMR	18	80	age	76.3 (73.7–79.5)	73.1 (66.4–78.5)	0.0307	0.7065
	18	80	MMP-1	22.1 (13.2–43.9)	16.2 (8.6–22.4)	0.0261	0.7065
Jaw claudication	38	58	aPS/PT IgA	0.0 (0.0–6.0)	5.5 (0.0–9.0)	0.0103	0.1576
	38	58	aPS/PT IgG	0.0 (0.0–0.0)	0.0 (0.0–0.0)	0.0030	0.1384
	39	59	IL-18	191.5 (159.5–250.7)	237.0 (194.0–306.1)	0.0303	0.2784
	29	46	MARCO	13.7 (8.8–17.1)	10.2 (6.8–12.8)	0.0174	0.2005
	39	59	MMP-2	488 (432.9–581.1)	444.8 (347.3–515.9)	0.0090	0.1576
Visual disturbances	28	70	CRP	51 (29.5–68.5)	74.5 (50.2–129.5)	0.0044	0.1338
	28	70	ESR	70 (58.8–91.2)	92.5 (70.2–116.0)	0.0068	0.1338
	25	68	Haptoglobin	3.8 (3.0–5.4)	5.0 (3.6–6.2)	0.0283	0.2167
	28	70	MMP-1	14.0 (6.0–19.5)	18.0 (10.6–29.3)	0.0466	0.3061
	28	70	SAA	148.0 (54.5–290.2)	283.0 (132.5–628.0)	0.0121	0.1394
	28	70	Thrombocytes	306.0 (258.2–421.8)	395.0 (343.0–488.5)	0.0087	0.1338
	28	70	TNF-alpha	7.9 (5.5–12.1)	5.5 (2.9–8.3)	0.0226	0.2078
New malignoma	6	91	aCL IgG	0.0 (0.0–3.8)	8.0 (0.0–19.5)	0.0472	0.6296
	6	75	AGP	2.9 (2.0–3.1)	1.8 (1.4–2.4)	0.0472	0.6296
	6	92	VCAM-1	1254.3 (1138.8–1515.0)	938.3 (688.2–1231.1)	0.0238	0.6296
Relapse	35	47	CRP	82 (54.5–129.0)	57.0 (32.0–108.5)	0.0468	0.4341
	35	47	ESR	94.0 (75.0–111.5)	77.0 (55.0–98.5)	0.0157	0.2412
	35	47	MMP-2	403.8 (336.1–506.6)	482.9 (427.4–566.7)	0.0128	0.2412
	35	47	SAA	315.0 (185.5–695.5)	163.0 (44.1–448.0)	0.0032	0.1492
Permanent visual loss	6	92	Age	80.2 (79.2–86.8)	73.7 (67.1–78.4)	0.0093	0.4279
Limb artery involvement	11	86	aCL IgG	22.0 (17.0–31.0)	5.0 (0.0–15.8)	0.0002	<b>0.0079</b>
	11	87	Alpha-fetoprotein	0.1 (0.1–0.5)	0.8 (0.1–1.5)	0.0419	0.3927
	11	87	IL-27	425.1 (330.1–474.1)	509.9 (388.1–653.6)	0.0439	0.3927
	8	67	MARCO	8.0 (6.2–9.8)	11.5 (8.4–15.0)	0.0347	0.3927
	11	87	VCAM-1	711.8 (628.3–957.3)	1007.7 (774.0–1376.8)	0.0307	0.3927

New malignoma refers to active cases or those within 1 year from diagnosis

*n+*/*n-* the number of GCA patients who developed/or did not develop the specific clinical symptom/complication, along with measurements of the indicated parameter

# IgA Vaskulitis (Henoch-Schönlein purpura)

Najpogostejša oblika vaskulitisa pri otrocih

- IgA1-imunskimi depoziti
- Faktorji komplementa
- Nevtrofilno infiltracijo
- Vnetje žil
- Vpletenost kože, sklepov in gastrointestinalnih motenj



## ■ Vprašanje:

Kakšen je lahko doprinos celičnih in molekularnih markerjev pri odraslih bolnikih z IgAV?

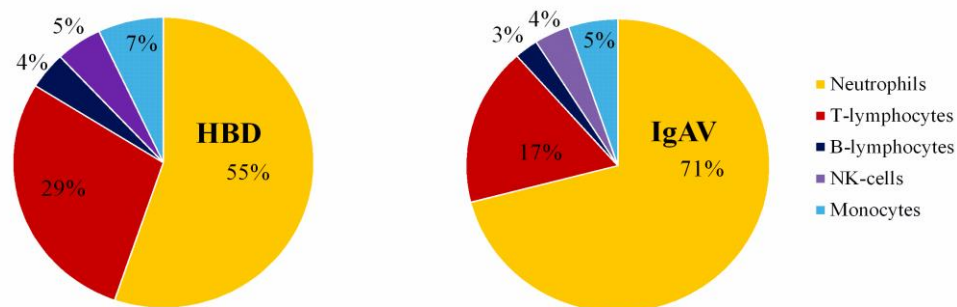


# Spremenjeni celični profil pri bolnikih z IgAV



- Bolniki z IgAV v primerjavi z zdravimi:
  - Manjši delež CD4+ in CD8+ T-celic ter B-celic
  - Večji delež nevtrofilnih granulocitov

Cells (% of WBC)	MEDIAN (Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )		P value
	HBD (N=15)	IgAV (N=15)	
Neutrophils	51.0 (47.1-56.9)	67.5 (63.6-73.3)	<0.001
T-cells	26.4 (23.0-31.8)	16.6 (10.2-21.4)	<0.001
CD4 <sup>+</sup> T cells	13.6 (11.7-18.4)	10.4 (7.7-14.4)	0.003
CD8 <sup>+</sup> T cells	10.3 (6.0-12.6)	5.0 (1.9-7.9)	0.002
B-cells	3.8 (2.9-4.7)	2.4 (1.6-2.9)	0.006
NK cells	4.6 (3.8-6.3)	3.6 (2.3-6.1)	ns
Monocytes	6.5 (5.0-7.1)	5.0 (4.0-8.6)	ns



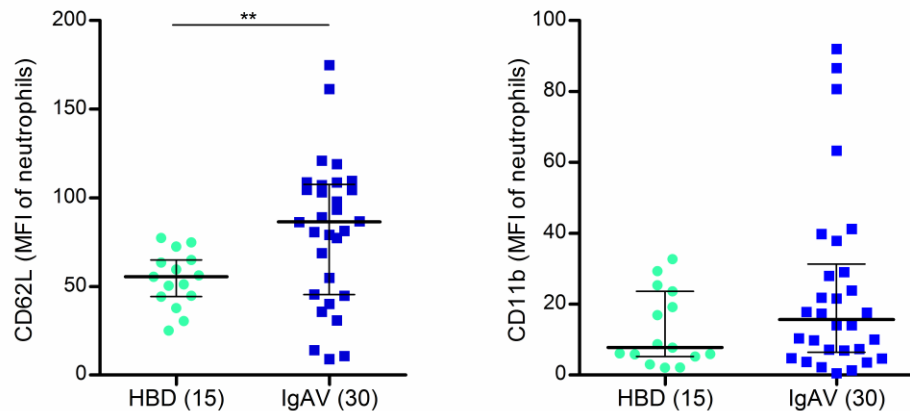
Imunofenotipizacija polne krvi pri bolnikih z IgAV v primerjavi z zdravimi (HBD)  
 Prikazane so mediane deležev posameznih tipov levkocitov.



# Večje izražanje L-selektina (CD62L) na nevtrofilnih granulocitih IgAV bolnikov

Izražanje L-selektina (CD62L) in integrina  $\alpha$ M (CD11b) na nevtrofilnih granulocitih pri bolnikih z IgAV in zdravih krvodajalcih (HBD).

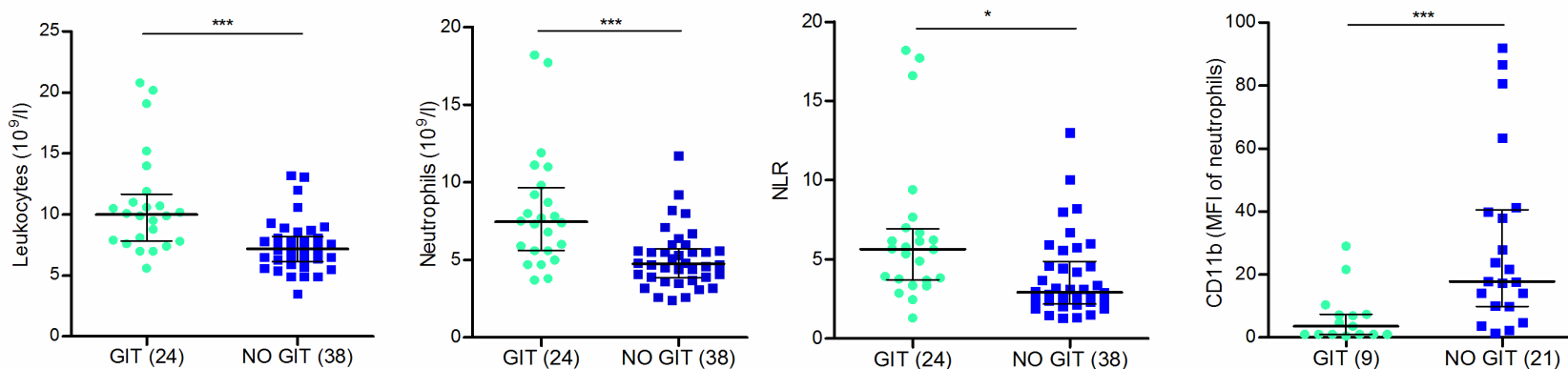
	MEDIAN (Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )		
Neutrophil surface proteins (MFI)	HBD (N=15)	IgAV (N=30)	P value
CD62L	55.5 (44.3-64.9)	86.5 (45.4-107.5)	<b>0.008</b>
CD11b	7.8 (5.2-23.6)	15.7 (6.4-31.3)	ns



Izražanje L-selektina (CD62L) in integrina  $\alpha$ M (CD11b) na nevtrofilnih granulocitih pri bolnikih z IgAV v primerjavi z zdravimi (HBD); št. bolnikov je podano v oklepajih; \*\* $p < 0.01$ .

# Povezava s kliničnimi znaki

- Bolniki z IgAV in vpletenostjo gastrointestinalnega traku (GIT) imajo:
  - večje število levkocitov in nevtrofilnih granulocitov,
  - večje razmerje med deležem nevtrofilnih granulocitov in limfocitov (NLR)
  - manjše izražanje integrina  $\alpha$ M (CD11b)



Slika 4: Število levkocitov in nevtrofilnih granulocitov, razmerje med deležem nevtrofilnih granulocitov in limfocitov (NLR) ter izražanje CD11b na nevtrofilnih granulocitih pri bolnikih z IgAV in gastrointestinalnimi težavami (GIT) v primerjavi s tistimi brez (NO GIT); št. bolnikov je podano v oklepajih; \* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$ .

# Nase moci

- Klinicno okarakterizirani in zasledovani bolniki
- Dobra naveza z ZTM
- Raziskave in razvoj diagnostike
- Mladi raziskovalci

# Načrti in potencial za sodelovanja

- Živalski modeli
- Mikrobiološke študije
- Elektronska mikroskopija in mikroskopija na atomsko silo
- Bioinformatika



# Hvala za vašo pozornost

**ARRS**

**UKC-LJ - Kliničnemu Oddelku za Revmatologijo**

prof. dr. Matija Tomsic, predstojnik KOR

doc. dr. Saša Čučnik, Vodja laboratorija za Imunologijo

**Raziskovalna skupina P3-0314**

**Nacionalni in mednarodni partnerji in  
sodelavci**