

L'approccio laboratoristico nella diagnostica delle malattie autoinfiammatorie sistemiche

The laboratory approach in the diagnosis of systemic autoinflammatory diseases

L. Cantarini¹, D. Rigante², M.G. Brizi¹, G.D. Sebastiani³,
O.M. Lucherini¹, M. Galeazzi¹, B. Frediani¹

¹Centro di Ricerca Interdipartimentale per le Malattie Autoimmuni Sistemiche ed Autoinfiammatorie,
Policlinico "Le Scotte", Università di Siena, Siena;

²Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università Cattolica Sacro Cuore, Roma;

³U.O.C. di Reumatologia, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma

SUMMARY

Systemic autoinflammatory diseases are a group of inherited disorders of the innate immunity characterized by the recurrence of febrile attacks lasting from few hours to few weeks and multi-district inflammation of different severity involving skin, serosal membranes, joints, gastrointestinal tube and central nervous system. The vast majority of these conditions is caused by mutations in genes involved in the control of inflammation and apoptosis mechanisms. The group includes familial Mediterranean fever, mevalonate kinase deficiency syndrome, tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome, cryopyrin-associated periodic syndromes, hereditary pyogenic and granulomatous disorders. Their diagnostic identification derives from the combination of clinical and biohumoral data, though can be sometimes confirmed by genotype analysis.

Reumatismo, 2011; 63 (2): 101-110

■ INTRODUZIONE

Le malattie autoinfiammatorie sistemiche (MAIS) costituiscono un gruppo eterogeneo di affezioni geneticamente determinate che coinvolgono l'immunità innata, per definizione caratterizzate dalla ricorrenza apparentemente inspiegabile di episodi infiammatori acuti a carico di cute, sierose, articolazioni, apparato gastroenterico, sistema nervoso centrale. Il termine "autoinfiammatorio" descrive l'insorgenza spontanea dell'infiammazione in assenza di linfociti T auto-reattivi o di autoanticorpi antigene specifici, che hanno invece un ruolo nella fisiopatologia e nella diagnosi delle malattie autoimmuni (1). Tali affezioni sono causate dalla mancata regolazione nella produzione di citochine pro-infiammatorie, come l'interleuchina (IL)-1 β ed

il fattore di necrosi tumorale (TNF)- α , cui segue un ritardo patologico nello spegnimento della risposta infiammatoria (2). Le MAIS possono essere schematicamente distinte in disordini ereditari monogenici, sui quali verterà questa descrizione, e disordini multifattoriali poligenici, quali la malattia di Behçet, la sindrome PFAPA, il morbo di Still dell'adulto e la variante sistemica dell'artrite idiopatica giovanile (3).

Classificazione delle malattie autoinfiammatorie sistemiche

Le MAIS monogeniche si caratterizzano per un fenotipo clinico comune caratterizzato da episodi ricorrenti di febbre e segni variabili di infiammazione sistemica: esse comprendono la febbre Mediterranea familiare (FMF), la sindrome da carenza parziale di mevalonato kinasi (MKD), anche

Indirizzo per la corrispondenza:
Dott. Luca Cantarini
Centro di Ricerca Interdipartimentale
per le Malattie Autoimmuni Sistemiche
ed Autoinfiammatorie
Policlinico "Le Scotte"
U.O.C. Reumatologia
Università degli Studi di Siena
Viale Bracci, 1
53100 Siena
E-mail: cantariniluca@hotmail.com

conosciuta come sindrome da iper-gammaglobulinemia D (HIDS), la sindrome periodica associata al recettore del TNF- α (TRAPS), le cosiddette sindromi periodiche associate alla criopirina (siglate globalmente come CAPS), che comprendono a loro volta l'orticaria familiare da freddo (FCAS), la sindrome di Muckle-Wells (MWS) e la sindrome CINCA (CINCAs, da "chronic infantile neurological cutaneous articular syndrome"), i disordini piogenici ereditari, comprendenti la sindrome PAPA (PAPAs, da "pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, acne") e la sindrome di Majeed (MS), ed infine la sindrome di Blau (BS) (4) (Tab. I). Alcune di queste, nello specifico FMF, HIDS e MS, si trasmettono con modalità autosomica recessiva, mentre le altre, TRAPS, FCAS, MWS, CINCAs, PAPAs e BS, sono caratterizzate da un tipo di trasmissione autosomica dominante. I geni associati a queste malattie sono stati identificati negli ultimi anni e, ad

eccezione di quanto osservato per la HIDS, tutti codificano per proteine coinvolte nella risposta infiammatoria e nei processi di apoptosi cellulare (5).

Dati clinici salienti delle malattie autoinfiammatorie sistemiche

La FMF rappresenta la malattia autoinfiammatoria più diffusa al mondo ed ha un'incidenza particolarmente elevata in tutto il bacino del mare Mediterraneo, in particolar modo fra ebrei Sefarditi (non-Ashkenazi), turchi, armeni ed arabi.

Il gene responsabile della FMF, denominato *MEFV* (da *MEditerranean FeVer*), è stato identificato nel 1997 sul cromosoma 16, è costituito da 10 esoni e codifica per una proteina di 781 aminoacidi chiamata pirina (o "marenostrina", dall'antico nome *mare nostrum* che i latini avevano assegnato al mare Mediterraneo) (6, 7). La pirina è espressa in diversi tipi cellulari, tra i quali figurano granulociti neutrofili e eosinofili,

Tabella I - Sommario descrittivo delle malattie autoinfiammatorie sistemiche.

	Gene Locus	Proteina coinvolta	Ereditarietà	Caratteristiche cliniche salienti	Terapie prescritte
FMF	MEFV 16p13.3	Pirina	AR	Febbre, sierositi, artralgie e artriti, eruzione erisipeloide a carico degli arti inferiori, amiloidosi nelle forme non-trattate	Colchicina
HIDS	MVK 12q24	Mevalonato kinasi	AR	Febbre, rash maculo-papulare, artralgie, dolore addominale, diarrea, linfadenopatie, splenomegalia, aftosi	Antinfiammatori non-steroidi, anakinra
TRAPS	TNFRSF1A 12p13	Recettore p55 del TNF- α	AD	Febbre, coinvolgimento muscolo-cutaneo migrante, congiuntivite, edema periorbitale, artralgie o artriti, coinvolgimento delle sierose, amiloidosi	Etanercept, anakinra
FCAS	NLRP3 1q44	Criopirina	AD	Febbre, orticaria da freddo, congiuntivite, artralgie	Anakinra, rilonacept, canakinumab
MWS				Febbre, rash simil-orticarioide, congiuntivite, episclerite, artralgie, sordità neurosensoriale, amiloidosi	
CINCAs				Febbre, rash orticarioide, uveite, papilledema, artropatie deformanti a carico delle grosse articolazioni, meningopatia cronica asettica, sordità neurosensoriale, amiloidosi	
PAPAs	PSTPIP1 15q24-25	Proteina 1 legante l'antigene CD2	AD	Artrite piogenica, pioderma gangrenoso, acne	Corticosteroidi, infliximab, anakinra
MS	LPIN2 18p11.31	Lipina 2	AR	Osteomielite multifocale ricorrente, anemia diseritropoietica, dermatosi neutrofilica	Corticosteroidi, interferone
BS	NOD2/CARD15 16q12.1-13	NOD2/CARD15	AD	Poliartrite granulomatosa non erosiva, uveite granulomatosa, rash di tipo granulomatoso	Corticosteroidi, infliximab

FMF: febbre Mediterranea familiare; HIDS: sindrome da iper-gammaglobulinemia D; TRAPS: sindrome periodica associata al recettore del TNF- α ; FCAS: orticaria familiare da freddo; MWS: sindrome di Muckle-Wells; CINCAs: sindrome cronica infantile neurologica cutanea e articolare; PAPAs: sindrome PAPA; MS: sindrome di Majeed; BS: sindrome di Blau. AR: autosomica recessiva; AD: autosomica dominante.

monociti, cellule dendritiche e fibroblasti (8-11) e recentemente è stato dimostrato che è in grado di regolare l'attivazione e la maturazione dell'IL-1 β (12).

La diagnosi di FMF deriva dall'utilizzo dei criteri di Tel Hashomer (episodi febbrili ricorrenti associati a sierositi, riscontro di amiloidosi e risposta favorevole alla colchicina) (13). Sebbene la malattia esordisca tipicamente in età pediatrica, non è raro che la sua diagnosi possa porsi anche oltre la terza decade, pur in presenza di un fenotipo clinico pressoché sovrapponibile a quello osservato nell'infanzia (14, 15), cioè brevi attacchi ricorrenti di febbre, sierositi che si manifestano con dolore toracico e/o addominale, artralgie o artriti a carico di anca, ginocchio o caviglia e lesioni cutanee eritematose con caratteristiche simili all'erisipela, frequentemente a carico degli arti inferiori (16).

Gli episodi febbrili esordiscono all'improvviso, hanno una durata di 1-4 giorni, tendono alla risoluzione spontanea e sono separati da periodi di completo benessere. La più temibile complicanza della FMF non opportunamente diagnosticata e trattata è l'amiloidosi, che può interessare ogni organo, ma frequentemente rene, intestino, milza, fegato e cuore (17).

È descritto anche un possibile coinvolgimento muscolare, estremamente variegato per entità, che varia da forme lievi di mialgia a mialgie febbrili protratte, pur senza alcun aumento degli enzimi muscolari, se non in rarissimi casi in cui tale aumento riflette una deposizione di fibrille amiloidi a livello della muscolatura scheletrica o un danno iatrogeno legato al trattamento con colchicina (18, 19). La maggior parte dei pazienti con amiloidosi ad interessamento renale sviluppa una sindrome nefrosica e può andare incontro ad insufficienza renale cronica (20).

La MKD, soprattutto nota come HIDS o "febbre olandese", poiché descritta per la prima volta nel 1984 nei Paesi Bassi (21), è causata da mutazioni nel gene situato sul cromosoma 12 che codifica per la mevalonato chinasi (MK), secondo enzima nella via metabolica del colesterolo, cui segue una riduzione dell'attività enzimatica, ma

non la sua completa abolizione (22-24): tale enzima normalmente catalizza la fosforilazione di acido mevalonico a 5-fosfomevalonato e fornisce molte molecole bioattive, come gruppi isoprenilici e steroli (25). Nonostante il difetto genetico sia noto da tempo, il meccanismo molecolare alla base del fenotipo infiammatorio non è stato ancora identificato: soprattutto resta enigmatico il rapporto tra deficit di MK e infiammazione.

La malattia esordisce nel 75% dei casi entro il primo anno di vita e nella totalità dei casi entro i 5 anni di età; solitamente persiste per tutta la vita, ma col tempo gli attacchi tendono a diminuire di intensità e frequenza (26). Dal punto di vista clinico si manifesta con febbre elevata, spesso accompagnata da brividi, della durata di 4-7 giorni, che ricorre generalmente ogni 3-4 settimane; gli episodi febbrili possono essere preceduti da cefalea, astenia, irritabilità e si accompagnano a artralgie, linfadenopatie, vomito, diarrea, dolore addominale, splenomegalia e afte orali. È frequente il coinvolgimento cutaneo che si manifesta in forma di rash con caratteristiche eterogenee, da maculare e papulare a orticarioide e nodulare (27).

La TRAPS, descritta per la prima volta nel 1982 in una famiglia di origine irlandese ed all'epoca definita "febbre iberniana", dall'antico nome latino "Hibernia" dell'Irlanda, è la più frequente patologia autoinfiammatoria trasmessa con modalità autosomica dominante (28). Essa è causata da mutazioni nel gene *TNFRSF1A* che codifica per il recettore di 55 kDa del TNF- α (TNFRSF1A o TNFR p55), membro della famiglia dei recettori del TNF, coinvolto nei processi di attivazione delle cellule T e di omeostasi delle cellule B (29-31). L'età media di esordio della malattia è all'incirca il 3° anno di vita, ma la malattia può talora esordire nella tarda adolescenza. Gli attacchi durano mediamente 20 giorni e ricorrono dopo intervalli di tempo variabili, abitualmente più lunghi rispetto ad altre MAIS (32), iniziando con crampi muscolari o mialgie a direzione centrifuga, seguiti da febbre che si associa a manifestazioni cutanee, articolari, addominali e oculari

(33). La più comune manifestazione cutanea è l'eritema centrifugo migrante, che sovrasta l'area colpita da mialgia: questa lesione è dolente alla palpazione e calda al termotatto. Le artralgie sono comuni e di rado possono osservarsi artriti per lo più monoarticolari. Il dolore addominale è un altro segno tipico della TRAPS ed è il riflesso di uno stato infiammatorio a carico della cavità peritoneale e dei muscoli della parete addominale.

Il coinvolgimento dell'occhio è, infine, piuttosto caratteristico e può manifestarsi con congiuntivite, edema periorbitario ed uveiti (34).

Le CAPS si riconducono a tre espressioni fenotipiche della medesima patologia, trasmessa con modalità autosomica dominante: FCAS, MWS e CINCA, distinte dalla più lieve alla più grave. Fra il 1999 e il 2001 queste condizioni sono state correlate a mutazioni del gene *NLRP3*, localizzato sul cromosoma 1 (35), che codifica per una proteina chiamata "criopirina", uno dei sensori intracellulari che partecipa ai meccanismi di difesa dell'ospite e di induzione della risposta infiammatoria (36). In particolare, la FCAS è caratterizzata da febbre episodica associata a rash cutaneo ed artralgie, per lo più scatenata dall'esposizione al freddo (37). La MWS è invece caratterizzata da un quadro analogo che si associa a lesioni simil-orticarioidi migranti, alterazioni oculari, atrofia del nervo ottico fino alla cecità, sordità neuro-sensoriale progressiva e rischio di insorgenza di amiloidosi (38).

La triade clinica composta da rash cutaneo, meningopatia cronica ed artropatia elettivamente coinvolgente le ginocchia caratterizza invece la CINCA. Il rash cutaneo simil-orticarioide non pruriginoso è persistente e presente nel 75% dei casi già alla nascita. Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale si manifesta nei primi anni di vita con convulsività, ventricolomegalia, cefalea e potenzialmente anche ritardo mentale. Il coinvolgimento dell'occhio può condurre a riduzione ingravescente del visus e si associa a uveite anteriore cronica nella metà dei casi (39). Le principali deformità muscoloscheletriche sono causate da una ossifica-

zione prematura ed aberrante delle rotule con anomalie gravi a carico delle epifisi ed ipertrofia delle cartilagini di accrescimento; spesso possono anche apprezzarsi un accorciamento delle mani e dei piedi ed un ippocratismo digitale (40).

I disordini piogenici ereditari appartengono al gruppo delle MAIS e si caratterizzano per la ricorrenza di segni infiammatori multipli, per lo più legati alla formazione pluri-distrettuale di un essudato granulocitario: essi comprendono la PAPAs, caratterizzata da artrite piogenica erosiva, pioderma gangrenoso, ascessi cutanei ed acne nodulo-cistica (41), e la MS, caratterizzata da osteomieliti multifocali ricorrenti ad insorgenza precoce, anemia diseritropoietica e dermatosi neutrofilica (42).

Tra i disordini granulomatosi la BS può considerarsi una condizione di tipo autoinfiammatorio che si caratterizza per l'associazione di poliartrite granulomatosa non erosiva, uveite di grado severo e panniculiti croniche (43).

La diagnostica genetica delle malattie autoinfiammatorie sistemiche

Ad oggi, sono state riscontrate più di 180 mutazioni del gene *MEFV*, di cui le più frequenti a carico degli esoni 2, 3, 5 e 10; mutazioni più rare sono state descritte negli esoni 1, 7 e 9. Pur non mancando segnalazioni di pazienti eterozigoti sintomatici, i test genetici sono da ritenere positivi nel caso rilevino due mutazioni, una per ogni allele (44).

Nel corso degli anni diversi studi sono stati condotti allo scopo di identificare una correlazione genotipo-fenotipo ed i risultati ottenuti indicano che le mutazioni in omozigosi più frequenti, come M694V, M680I e M694I, sono associate ad un quadro clinico più grave rispetto alle forme legate a eterozigosi composta, cioè alla presenza di due mutazioni differenti su entrambi i cromosomi omologhi (45). La maggior parte delle mutazioni del gene *MVK* finora conosciute è di tipo *missense* e la gran parte dei pazienti è eterozigote composta per due diverse mutazioni (46): la mutazione prevalente è V377I osservabile in circa l'80% dei pazienti ed associata ad una riduzione

moderata della stabilità e dell'attività catalitica dell'enzima MK (47).

Sono state descritte più di 60 mutazioni del gene *TNFRSF1A*, di cui circa il 60% è associato alla TRAPS, rappresentate prevalentemente da mutazioni puntiformi che portano alla sostituzione di un singolo aminoacido nella porzione esterna della proteina matura (48).

Invece per il gene *NLRP3* sono state descritte sinora circa 60 mutazioni, tutte presenti sull'esone 3 che codifica il dominio NACHT della criopirina; fanno eccezione 2 mutazioni localizzate sugli esoni 4 e 5, i quali codificano per i domini LRRs (49).

La PAPAs è trasmessa come carattere autosomico dominante ed è legata al gene *PSTPIP1* localizzato sul cromosoma 15, mentre la MS, primariamente descritta nel 1989, è legata al gene *LPIN2* ed è stata esclusivamente descritta in Giordania (50). La BS, inizialmente descritta nel 1985, è legata al gene *CARD15/NOD2*, localizzato sul cromosoma 16: le mutazioni riportate coinvolgono la porzione NACHT e si associano ad un'attivazione del complesso proteico NF- κ B (51).

Tutte le informazioni relative alle mutazioni descritte nei pazienti con MAIS sono riportate all'indirizzo <http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers> (52).

Il quadro biumorale delle malattie autoinfiammatorie sistemiche

Nelle MAIS comunemente gli esami di laboratorio rivelano un aumento degli indici di flogosi durante ogni episodio infiammatorio acuto; in particolare, si osserva un aumento marcato della velocità di eritrosedimentazione e della proteina C-reattiva, ma anche di fibrinogeno ed aptoglobina, che caratteristicamente si normalizzano nei periodi intercritici, pur essendo descritti casi in cui gli indici di flogosi persistono elevati anche nei periodi intercritici. Possono anche osservarsi anomalie dell'esame emocromocitometrico come leucocitosi neutrofila, trombocitosi ed anemia, sia ipocromica che normocromica, tipica delle malattie infiammatorie croniche (53). Non è infrequente il rilievo di una iper-gammaglobulinemia di tipo policlonale dovuta

alla stimolazione della sintesi immunoglobulinica da parte di numerose citochine pro-infiammatorie, come l'IL-6 (54).

Nella MKD è caratteristico, ma non specifico, il riscontro di livelli serici elevati di IgD e IgA, analogamente a quanto osservabile in altre febbri periodiche, in numerose affezioni di tipo infiammatorio, nei deficit immunitari, nelle malattie linfoproliferative e persino in soggetti del tutto sani (55). In ogni caso, la determinazione delle IgD seriche, eseguita nelle fasi di benessere clinico, qualora il risultato si dimostri superiore a 100 UI/ml, è contributiva per la diagnosi, pur richiedendo che venga valutata in almeno due misurazioni consecutive a distanza di un mese (56). Più specifico per i fini diagnostici risulta invece il dosaggio dell'acido mevalonico urinario nell'attacco infiammatorio acuto, anche se il gold-standard resta comunque la quantificazione dell'attività dell'enzima MK (57).

Il dato laboratoristico più discriminatorio delle fasi quiescenti della TRAPS è il riscontro di bassi livelli serici del recettore solubile del TNF (<1 ng/ml), laddove la malattia sia legata a un difettoso rilascio del recettore dalle membrane cellulari (58). Nelle CAPS, soprattutto nella CINCA, è suggestivo il marcato innalzamento dei parametri flogistici acuti ed il dato di una leucocitosi neutrofila pressoché costante (59).

Il contributo diagnostico della siero amiloide-a e della proteina S100A12

La siero amiloide-A (SAA) è una proteina della fase acuta, sintetizzata e secreta dal fegato sotto lo stimolo di citochine pro-infiammatorie come IL-1, IL-6 e TNF- α (60). Il suo frammento amino-terminale si può depositare in vari organi sotto forma di fibrille amiloidi e determinare lo sviluppo di una amiloidosi secondaria. La misura della SAA serica è un utile ausilio diagnostico: concentrazioni elevate si associano ad un rischio di deposizione progressiva di fibrille amiloidi in più parenchimi (61). In particolare, una percentuale variabile ma considerevole di pazienti con FMF, TRAPS e CAPS può sviluppare una amiloidosi renale: la manifestazione clinica più comune è rappresentata dagli edemi

declivi causati dalla proteinuria, che può persino raggiungere il range nefrosico, ed il suo esito abituale è l'insufficienza renale cronica. Alla possibilità di danno renale si associa il rischio di coinvolgimento del sistema nervoso autonomo, cui conseguono alterazioni dell'alvo e ipotensione ortostatica, ma anche del cuore con lo sviluppo potenziale di una cardiomiopatia restrittiva (62). L'obiettivo finale della terapia nelle MAIS è il controllo dello stato infiammatorio, cui deve seguire la riduzione della concentrazione della SAA al di sotto di 10 mg/L (63). In studi condotti sul trattamento delle CAPS si è osservato che la SAA è un parametro utile nella valutazione dell'attività clinica in risposta alla terapia, così come anche per la risposta al trattamento con inibitori del TNF nella TRAPS (64-66).

Parallelamente alla SAA nei processi infiammatori di varia origine è stato messo in luce il ruolo della proteina S100A12 (o calgranulina C) (67): si tratta di una proteina legante il calcio, espressa e secreta dai granulociti neutrofili, che attraverso la via del fattore NF- κ B attiva la risposta infiammatoria nei leucociti e nelle cellule endoteliali di pazienti con CAPS. È stato dimostrato che la determinazione dei livelli serici di S100A12 correla strettamente non solo con l'attività di malattia, ma anche con l'efficacia clinica della terapia, consentendo pertanto di poter utilizzare nel futuro in modo affidabile questo nuovo marker (68).

Il pattern citochinico nelle malattie autoinfiammatorie sistemiche

Le citochine rappresentano un importante gruppo di molecole-segnale che regolano aspetti molteplici della comunicazione intercellulare: il signaling citochinico è fondamentale per il corretto funzionamento del sistema immunitario, inclusa la risposta ai patogeni e alle cellule estranee, nonché la tolleranza al *self*. L'attivazione o la deregolazione della produzione citochinica è implicata direttamente nella patogenesi delle MAIS: in particolare, l'attivazione del pathway dell'IL-1 β sembra essere il principale meccanismo evocato nella gran parte di esse (69). Ad esempio, nella FMF la forma mutata della pirina è in grado di attivare la caspasi-1 con successiva secrezione di IL-1 β ed innesco della risposta infiammatoria; nella FMF si hanno inoltre aumenti dell'IL-6 e dell'IL-10 (70-72). Nella HIDS possono risultare aumentate l'IL-1 β , così come anche il TNF- α e l'IL-6 (73). Caratteristico della TRAPS è l'aumento dei livelli di IL-6, TNF- α , IL-8 e IFN- γ (74,75), mentre nelle CAPS ogni manifestazione clinica correla con i livelli serici di IL-1 β , ed in misura inferiore anche di IL-18 (76).

Il complesso di queste recenti acquisizioni ha consentito di instaurare terapie mirate con farmaci ad azione "anti-citochinica", diretti contro le molecole-target responsabili delle manifestazioni flogistiche delle MAIS, riuscendo pertanto a rivoluzionare

Tabella II - Esami di laboratorio e dati salienti utili nel corso degli attacchi infiammatori per la diagnosi delle malattie autoinfiammatorie sistemiche (da correlarsi con il background anamnestico/clinico del probando).

Esame di laboratorio	Dati salienti nel corso degli attacchi infiammatori	Note
Esame emocromocitometrico	Leucocitosi neutrofila, anemia	La leucocitosi è marcata, ma soprattutto è presente anche nei periodi di benessere dei pazienti con CINCA
Indici infiammatori	Aumento di velocità di eritrosedimentazione, proteina C-reattiva, siero amiloide-A, fibrinogeno, aptoglobina e ferritina	In alcuni pazienti può residuare una flogosi subclinica negli intervalli intercritici con movimento variabile degli indici infiammatori
Immunoelettroforesi	Aumento di IgA e IgD	Le IgD si rivelano costantemente elevate nella maggioranza dei pazienti con HIDS
Recettore del TNF	Diminuzione (<1 ng/ml)	Questa determinazione è utile nei pazienti con il sospetto di TRAPS
Acidi organici urinari	Aumentata escrezione di acido mevalonico	Questa determinazione è utile nei pazienti con HIDS

CINCA: sindrome cronica infantile neurologica cutanea e articolare; TRAPS: sindrome periodica associata al recettore del TNF- α ; HIDS: sindrome da iper-gammaglobulinemia D.

in larga misura le storie cliniche ed i destini di questi pazienti, come per l'etanercept o l'anakinra in gruppi differenti di pazienti affetti da TRAPS e per il canakinumab nei pazienti affetti da CAPS (77-79).

■ CONCLUSIONI

Le MAIS costituiscono un nuovo settore in continua espansione della medicina, oltre che una fonte di complicanze croniche potenzialmente sottodiagnosticate nella comunità. Il processo diagnostico della gran parte di esse richiede competenze specialistiche di alto livello nell'area medica e genetica, pur essendo ancora poco chiaro il contributo effettivo dei test genetici alla diagnosi. La raccolta dei dati familiari è parte cruciale dei protocolli di valutazione di questi pazienti e prioritaria resta la valutazione obiettiva e laboratoristica del

paziente sia nel corso di un attacco infiammatorio che al di fuori di esso (Tab. II) con il fine di confermare la presenza di una infiammazione subclinica tra i vari attacchi ed escludere una lunga serie di malattie croniche di tipo infettivo, autoimmune o neoplastico.

Un contributo finale alla diagnosi può derivare dalla possibilità di analisi genetiche mirate relative ai geni MEFV, MVK, TNFRSF1A, NLRP3, PSTPIP1, LPIN2 e CARD15/NOD2.

È in atto la promozione di una rete collaborativa internazionale per lo studio delle MAIS con l'obiettivo di una standardizzazione dei protocolli diagnostici tra vari centri, della definizione di linee-guida che regolino e ottimizzino l'utilizzo dei test genetici e la creazione di registri dei vari disordini con il fine di ampliare le attuali conoscenze epidemiologiche e migliorare gli strumenti terapeutici disponibili.

RIASSUNTO

Le malattie autoinfiammatorie sistemiche sono affezioni ereditarie dell'immunità innata che si caratterizzano per la ricorrenza di episodi febbrili di durata variabile accompagnati a segni di infiammazione multi-distrettuale di più organi o apparati. La loro diagnosi è fondamentalmente di tipo clinico, pur se supportata dal riscontro delle mutazioni a carico dei geni implicati. Alcuni esami di laboratorio possono tuttavia rivelarsi utili sia a supporto della diagnosi, sia nella valutazione dei pazienti in termini di risposta al trattamento.

Parole chiave: Amiloide A, citochine, criopirina, febbre mediterranea familiare, febbre familiare ereditaria, genetica, interleuchina, malattie autoinfiammatorie, recettore del tumor necrosis factor, sistema immunitario.

Key words: Autoinflammatory diseases, cryopyrin, cytokine, familial mediterranean fever, genetics, hereditary familial fever, immune system, interleukin, serum amyloid-A, tumor necrosis factor receptor.

■ BIBLIOGRAFIA

1. Touitou I, Koné-Paut I. Autoinflammatory diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008; 22: 811-29.
2. Joost PH, van Der Meer JW. The inflammasome: a linebacker of innate defense. *N Engl J Med* 2006; 355: 730-2.
3. Rigante D. The protean visage of systemic autoinflammatory syndromes: a challenge for inter-professional collaboration. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 1-18.
4. Rigante D. Autoinflammatory syndromes behind the scenes of recurrent fevers in children. *Med Sci Monit* 2009; 15: RA179-87.
5. Masters SL, Simon A, Aksentjevich I, Kastner DL. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 621-68.
6. The French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997; 17: 25-31.
7. Yepiskoposyan L, Harutyunyan A. Population genetics of familial Mediterranean fever: a review. *Eur J Hum Genet* 2007; 15: 911-6.
8. Chae JJ, Wood G, Richard K, Jaffe H, Colburn NT, Masters SL, et al. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, is cleaved by caspase-1 and activates NF-kappaB through its N-terminal fragment. *Blood* 2008; 112: 1794-803.
9. Centola M, Wood G, Frucht DM, Galon J, Aringer M, Farrell C, et al. The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood* 2000; 95: 3223-31.

10. Diaz A, Hu C, Kastner DL, Schaner P, Reginaldo AM, Richards N, et al. Lipopolysaccharide-induced expression of multiple alternatively spliced MEFV transcripts in human synovial fibroblasts: a prominent splice isoform lacks the C-terminal domain that is highly mutated in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3679-89.
11. Matzner Y, Abedat S, Shapiro E, Eisenberg S, Bar-Gil-Shitrit A, Stepensky P, et al. Expression of the familial Mediterranean fever gene and activity of the C5a inhibitor in human primary fibroblast cultures. *Blood* 2000; 96: 727-31.
12. Yu JW, Wu J, Zhang Z, Datta P, Ibrahim I, Taniguchi S, et al. Cryopyrin and pyrin activate caspase-1, but not NF-kappaB, via ASC oligomerization. *Cell Death Differ* 2006; 13: 236-49.
13. Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1879-85.
14. Cantarini L, Capecchi PL, Lucherini OM, Laghi Pasini F, Galeazzi M. Familial Mediterranean fever diagnosed in an elderly patient. *Clin Exp Rheumatol* 2010; 28 (4 Suppl. 60): 591.
15. Sayarlioglu M, Cefle A, Inanc M, Kamali S, Dalkilic E, Gul A, et al. Characteristics of patients with adult-onset familial Mediterranean fever in Turkey: analysis of 401 cases. *Int J Clin Pract* 2005; 59: 202-5.
16. Cantarini L, Lucherini OM, Cimaz R, Brizi MG, Galeazzi M. Autoinflammatory disorders and patients with isolated serosal involvement. *Rheumatol Int* 2011; 31: 979-80.
17. Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, Livneh A, Cattan D, et al. Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1706-12.
18. Cantarini L, Volpi N, Galeazzi M, Giani T, Fanti F, Lucherini OM, et al. Colchicine myopathy and neuromyopathy: report of two cases with different characteristics. *J Clin Rheumatol* 2010; 16: 229-32.
19. Cantarini L, Volpi N, Lucherini OM, Giannini F, Galeazzi M. A case of amyloid myopathy in a patient with familial Mediterranean fever. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27 (2 Suppl 53): S106-7.
20. Rigante D, La Torraca I, Ansuini V, Compagnone A, Salli A, Stabile A. The multi-face expression of familial Mediterranean fever. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2006; 10: 163-71.
21. van der Meer JM, Vossen JM, Radl J, van Nieuwkoop JA, Meyer CJ, Lobatto S, et al. Hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever: a new syndrome. *Lancet* 1984; 1: 1087-90.
22. Drenth JP, Cuisset L, Grateau G, Vasseur C, van de Velde-Visser SD, de Jong JG, et al. Mutations in the gene encoding mevalonate kinase cause hyper-IgD and periodic fever syndrome. *Nat Genet* 1999; 22: 178-81.
23. Houten SM, Kuis W, Duran M, de Koning TJ, van Royen-Kerkhof A, Romeijn GJ, et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nat Genet* 1999; 22: 175-7.
24. Houten SM, Wanders RJ, Waterham HR. Biochemical and genetic aspects of mevalonate kinase and its deficiency. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529: 19-32.
25. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343: 425-30.
26. Frenkel J, Houten SM, Waterham HR, Wanders RJ, Rijkers GT, Duran M, et al. Clinical and molecular variability in childhood periodic fever with hyperimmunoglobulinaemia D. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 579-84.
27. Frenkel J, Houten SM, Waterham HR, Wanders RJ, Rijkers GT, Kimpen JL, et al. Mevalonate kinase deficiency and Dutch type periodic fever. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 525-32.
28. Williamson LM, Hull D, Mehta R, Reeves WG, Robinson BH, Toghiani PJ. Familial hibernian fever. *Q J Med* 1982; 51: 469-80.
29. Hull KM, Drewe E, Aksentijevich I, Singh HK, Wong K, McDermott EM, et al. The TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS): emerging concepts of an autoinflammatory disorder. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 349-68.
30. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999; 97: 133-44.
31. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ* 2003; 10: 45-65.
32. Kimberley FC, Lobito AA, Siegel RM, Screaton GR. Falling into TRAPS-receptor misfolding in the TNF receptor 1-associated periodic fever syndrome. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 217.
33. Dodé C, André M, Bienvenu T, Hausfater P, Pêcheux C, Bienvenu J, et al. French Hereditary Recurrent Inflammatory Disorder Study Group. The enlarging clinical, genetic, and population spectrum of tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2181-8.
34. Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E, Hull K, Oh HH, et al. The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in TNFRSF1A, ancestral ori-

- gins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 301-14.
35. Feldmann J, Prieur AM, Quartier P, Berquin P, Certain S, Cortis E, et al. Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 198-203.
 36. Fritz JH. Nod-like proteins in immunity, inflammation and disease. *Nat Immunol* 2006; 7: 1250-7.
 37. Hoffman HM, Wanderer AA, Bride DH. Familial cold autoinflammatory syndrome: phenotype and genotype of an autosomal dominant periodic fever. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 615-20.
 38. Muckle TJ, Wells M. Urticaria, deafness and amyloidosis: a new heredo-familial syndrome. *Q J Med* 1962; 31: 235-48.
 39. Lepore L, Paloni G, Caorsi R, Alessio M, Rigante D, Ruperto N, et al. Follow-up and quality of life of patients with cryopyrin-associated periodic syndromes treated with anakinra. *J Pediatr* 2010; 157: 310-5.
 40. Ebrahimi-Fakhari D, Wahlster L, Mackensen F, Blank N. Clinical manifestations and long-term followup of a patient with CINCA/NO-MID syndrome. *J Rheumatol* 2010; 37: 2196-7.
 41. Tallon B, Corkill M. Peculiarities of PAPA syndrome. *Rheumatology* 2006; 45: 1140-3.
 42. Ferguson PJ, Chen S, Tayeh MK, Ochoa L, Leal SM, Pelet A, et al. Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic recurrent multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome). *J Med Genet* 2005; 42: 551-7.
 43. Okafuji I, Nishikomori R, Kanazawa N, Kambe N, Fujisawa A, Yamazaki S, et al. Role of the NOD2 genotype in the clinical phenotype of Blau syndrome and early-onset sarcoidosis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 242-50.
 44. Touitou I. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 473-83.
 45. Gershoni-Baruch R, Brik R, Shinawi M, Livneh A. The differential contribution of MEFV mutant alleles to the clinical profile of familial Mediterranean fever. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 145-9.
 46. Milhavel F, Cuisset L, Hoffman HM, Slim R, El-Shanti H, Aksentijevich I, et al. The Infevers autoinflammatory mutation online registry: update with new genes and functions. *Hum Mutat* 2008; 29: 803-8.
 47. Simon A, Mariman EC, van der Meer JWM, Drenth JP. A founder effect in the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Am J Med* 2003; 114: 148-52.
 48. Rebelo SL, Bainbridge SE, Amel-Kashipaz MR, Radford PM, Powell RJ, Todd I, et al. Modeling of tumor necrosis factor receptor superfamily 1A mutants associated with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome indicates misfolding consistent with abnormal function. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2674-87.
 49. Aksentijevich I, D Putnam C, Remmers EF, Mueller JL, Le J, Kolodner RD, et al. The clinical continuum of cryopyrinopathies: novel CIAS1 mutations in North American patients and a new cryopyrin model. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1273-85.
 50. Ferguson PJ, El-Shanti HI. Autoinflammatory bone disorders. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19: 492-8.
 51. Villanueva-Mendoza C, Arellanes-García L, Cubas-Lorenzo V, Jimenez-Martinez MC, Flores-Suárez LF, Zenteno JC. Familial case of Blau syndrome associated with a CARD15/NOD2 mutation. *Ophthalmic Genet* 2010; 31: 155-8.
 52. Touitou I, Lesage S, McDermott M, Cuisset L, Hoffman H, Dode C, et al. Infevers: an evolving mutation database for auto-inflammatory syndromes. *Hum Mutat* 2004; 24: 194-8.
 53. Gattorno M, Federici S, Pelagatti MA, Caorsi R, Brisca G, Malattia C, et al. Diagnosis and management of autoinflammatory diseases in childhood. *J Clin Immunol* 2008; 28 (Suppl 1): S73-83.
 54. Manukyan G, Ghazaryan K, Ktsoyan Z, Khachatryan Z, Kelly D, Tatyán M, et al. Comparative analysis of cytokine profiles in autoinflammatory and autoimmune conditions. *Cytokine* 2010; 50: 146-51.
 55. Steichen O, van der Hilst J, Simon A, Cuisset L, Grateau G. A clinical criterion to exclude the hyperimmunoglobulin D syndrome (mild mevalonate kinase deficiency) in patients with recurrent fever. *J Rheumatol* 2009; 36: 1677-81.
 56. Haas D, Hoffmann GF. Mevalonate kinase deficiencies: from mevalonic aciduria to hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2006; 26: 1-13.
 57. Simon A, Cuisset L, Vincent MF, van der Velde-Visser SD, Delpech M, van der Meer JW, et al. Molecular analysis of the mevalonate kinase gene in a cohort of patients with the hyper-IgD and periodic fever syndrome: its application as a diagnostic tool. *Ann Intern Med* 2001; 135: 338-43.
 58. Aganna E, Hammond L, Hawkins PN, Aldea A, McKee SA, van Amstel HK, et al. Heterogeneity among patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome phenotypes. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2632-44.
 59. Lachmann HJ, Lowe P, Felix SD, Rordorf C, Leslie K, Madhoo S, et al. In vivo regulation

- of interleukin 1beta in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes. *J Exp Med* 2009; 206: 1029-36.
60. Rocken C, Shakespeare A. Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA amyloidosis. *Virchows Arch* 2002; 440: 111-22.
61. Grateau G. Clinical and genetic aspects of the hereditary periodic fever syndromes. *Rheumatology* 2004; 43: 410-5.
62. Lachmann HJ, Gillmore JD. Renal amyloidosis. *Br J Hosp Med (Lond)* 2010; 71: 83-6.
63. Gillmore JD, Lovat LB, Persey MR, Pepys MB, Hawkins PN. Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet* 2001; 358: 24-9.
64. Aganna E, Hawkins PN, Ozen S, Pettersson T, Bybee A, McKee SA, et al. Allelic variants in genes associated with hereditary periodic fever syndromes as susceptibility factors for reactive systemic AA amyloidosis. *Genes Immun* 2004; 5: 289-93.
65. Goldbach-Mansky R, Dailey NJ, Canna SW, Gelabert A, Jones J, Rubin BI, et al. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1beta inhibition. *N Engl J Med* 2006; 355: 581-92.
66. Cantarini L, Rigante D, Lucherini OM, Cimaz R, Laghi Pasini F, Baldari CT, et al. Role of etanercept in the treatment of tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: personal experience and review of the literature. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2010; 23: 701-7.
67. Pietzsch J, Hoppmann S. Human S100A12: a novel key player in inflammation? *Amino Acids* 2009; 36: 381-9.
68. Wittkowski H, Frosch M, Wulffraat N, Goldbach-Mansky R, Kallinich T, Kuemmerle-Deschner J, et al. S100A12 is a novel molecular marker differentiating systemic-onset juvenile idiopathic arthritis from other causes of fever of unknown origin. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3924-31.
69. Simon A, van der Meer JW. Pathogenesis of familial periodic fever syndromes or hereditary autoinflammatory syndromes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R86-98.
70. Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, et al. The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 9982-7.
71. Direskeneli H, Ozdogan H, Korkmaz C, Akoglu T, Yazici H. Serum soluble intercellular adhesion molecule 1 and interleukin 8 levels in familial Mediterranean fever. *J Rheumatol* 1999; 26: 1983-6.
72. Köklü S, Öztürk MA, Balci M, Yüksel O, Ertenli I, Kiraz S. Interferon-gamma levels in familial Mediterranean fever. *Joint Bone Spine* 2005; 72: 38-40.
73. Drenth JP, van Deuren M, van der Ven-Jongekrijg J, Schalkwijk CG, van der Meer JW. Cytokine activation during attacks of the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Blood* 1995; 85: 3586-93.
74. Nowlan ML, Drewe E, Bulsara H, Esposito N, Robins RA, Tighe PJ, et al. Systemic cytokine levels and the effects of etanercept in TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) involving a C33Y mutation in TNFRSF1A. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 31-7.
75. Baykal Y, Saglam K, Yilmaz MI, Taslipinar A, Akinci SB, Inal A. Serum IL-2r, IL-6, IL-10 and TNF-alpha level in familial Mediterranean fever patients. *Clin Rheumatol* 2003; 22: 99-101.
76. Stack JH, Beaumont K, Larsen PD, Straley KS, Henkel GW, Randle JC, et al. IL-converting enzyme/caspase-1 inhibitor VX-765 blocks the hypersensitive response to an inflammatory stimulus in monocytes from familial cold autoinflammatory syndrome patients. *J Immunol* 2005; 175: 2630-4.
77. Cantarini L, Lucherini OM, Galeazzi M, Fantì F, Simonini G, Baldari CT, et al. Tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome caused by a rare mutation in the TNFRSF1A gene, and with excellent response to etanercept treatment. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 890-1.
78. Gattorno M, Pelagatti MA, Meini A, Obici L, Barcellona R, Federici S, et al. Persistent efficacy of anakinra in patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1516-20.
79. Lachmann HJ, Koné-Paut I, Kuemmerle-Deschner JB, Leslie KS, Hachulla E, Quartier P, et al. Canakinumab in the cryopyrin-associated periodic syndrome. *N Engl J Med* 2009; 360: 2416-25.