

COMUNICAZIONI SUL LUPUS

Moderatori: M. Mosca (Pisa), R. Perricone (Roma)

- Pathway BAFF/APRIL nella sindrome di Sjögren e nel lupus eritematoso sistemico: relazione con infiammazione cronica e attività di malattia
M. Vadacca, D. Margiotta, F. Buzzulini, A. Rigon, M. Lo Vullo, G. Sambataro, A. Afeltra
- Analisi qualitativa delle lesioni in RMN cerebrale nel LES e fattori di rischio associati
P. Tomietto, V. Annese, S. D'Agostini, P. Venturini, M. Regis, S. De Vita, G.F. Ferraccioli
- Qualità di vita nel LES: relazione con il coinvolgimento neuropsichiatrico e extra-cerebrale
P. Tomietto, V. Annese, P. Venturini, M. Regis, S. De Vita, G.F. Ferraccioli
- Long term outcome of treatment of diffuse proliferative glomerulonephritis (DPGN) with pulse steroids and short course pulse cyclophosphamide
C. Tani, M. Mosca, A. d'Ascanio, R. Neri, A. Tavoni, L. Carli, S. Bombardieri
- I deficit di memoria nel lupus eritematoso sistemico
S. Rinaldi, S. Mondini, M. Zen, M. Tonon, S. Bettio, D. Piccoli, A. Ghirardello, G. Arcara, L. Punzi, A. Doria
- Inefficacia della terapia con immunoglobuline endovena nella prevenzione della recidiva del blocco cardiaco congenito
A. Brucato, C.N. Pisoni, A. Tincani, A. Ruffatti, G. Espinosa, V. Ramoni, S.F. Curri, M. Belmonte, J. Sanchez-Roman, F.J. Garcia-Hernandez, M.T. Bertero, A. Doria, G.R.V. Hughes, M.A. Khamashta
- IGG anti-PTX3 nel lupus eritematoso sistemico
N. Bassi, A. Ghirardello, S. Zampieri, M. Canova, M. Tonon, M. Zen, M.E. Rampudda, S. Arienti, L. Punzi, A. Doria
- Glucocorticoid induced TNFR-related protein (GITR) as marker of human regulatory T cells: expansion of the GITR+CD25-cell subset in patients with systemic lupus erythematosus
A. Alunno, G. Nocentini, E. Bartoloni Bocci, R. Bianchini, O. Bistoni, C. Riccardi, R. Gerli

PATHWAY BAFF/APRIL NELLA SINDROME DI SJÖGREN E NEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO: RELAZIONE CON INFIAMMAZIONE CRONICA E ATTIVITÀ DI MALATTIA

M. Vadacca, D. Margiotta, F. Buzzolini, A. Rigon, M. Lo Vullo, G. Sambataro, A. Afeltra
Università Campus Bio Medico, Roma

Introduzione: Il B-cell activating factor (BAFF o BLYS) e il proliferation-inducing ligand (APRIL) sono componenti della superfamiglia del TNFalfa, implicate a vari livelli nella produzione, maturazione e funzione dei linfociti B. Numerosi studi mostrano una implicazione di entrambe le molecole nella patogenesi di malattie autoimmuni come il Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e la Sindrome di Sjogren (SS). Non vi sono dati esaurienti in letteratura sulla relazione tra il sistema BAFF/APRIL e gli indici di attività di malattia e di danno.

Materiali e Metodi: Sono stati arruolati 40 pazienti affetti da LES, 20 affetti da SS e 20 controlli sani. Tutti i soggetti erano di sesso femminile. In tutti i pazienti sono stati valutati gli indici di flogosi (VES, PCR), il dosaggio delle immunoglobuline (IgG, IGA, IgM), gli anticorpi antinucleo (ANA) ed ENA (SSA, SSB e Sm) e gli indici di attività di malattia (SSDAI e SLEDAI) e di danno (SSDDI e SLICC) per la SS e per il LES. I PBMcs sono stati valutati mediante citofluorimetria con un pannello di monoclonali anti CD3, CD19 e CD20 (BD). BAFF ed APRIL sono stati dosati mediante metodica ELISA (Bender MedSystem).

Risultati: Sia i linfociti CD3-CD19+ che i CD20+ sono aumentati in modo statisticamente significativo, in numero assoluto e in percentuale, nelle pazienti con LES rispetto ai soggetti con SS. I livelli di APRIL sono risultati aumentati nel LES rispetto ai con-

trolli (9.3 vs 7.5, p0.001) e nella SS rispetto ai controlli (9.7 vs 7.5, p0.003); non abbiamo riscontrato differenze statisticamente significative tra LES e SS. I livelli di BAFF sono risultati significativamente maggiori nel LES rispetto alla SS (14.6 vs 8.8, p0.02). Inoltre, abbiamo riscontrato una differenza statisticamente significativa tra LES e controlli (14.6 vs 5.7, p0.0003) e SS e controlli (8.8 vs 5.7, p0.01). Nel LES i valori di APRIL correlavano positivamente con SLEDAI (r0.3, p0.04), SLICC (r0.5, p0.001), VES (r0.3, p0.005) e PCR (r0.04, p0.02). Nella SS i livelli di APRIL e BAFF risultavano maggiori nei soggetti con positività ENA SSA (p0.01 e p0.001); inoltre, abbiamo riscontrato una correlazione positiva tra APRIL e SSDAI (r0.4, p0.02), SSDDI (r0.4, p0.01), IgG (r0.5, p0.01), VES (r0.6, p0.01) e PCR (r0.6, p0.02) e tra BAFF e SSDDI (r0.4, p0.02).

Conclusioni: Il nostro studio ha evidenziato non solo aumentati livelli di BAFF ed APRIL nelle pazienti con LES e SS rispetto ai soggetti sani, ma anche una relazione con gli indici di flogosi studiati (VES e PCR) in entrambe le patologie. Inoltre, rappresenta la prima evidenza della correlazione esistente tra livelli di BAFF ed APRIL ed indici di attività di malattia e di danno non solo nel LES ma anche nella SS.

Keywords: Lupus eritematoso sistemico, Sindrome di Sjogren, BAFF/APRIL.

ANALISI QUALITATIVA DELLE LESIONI IN RMN CEREBRALE NEL LES E FATTORI DI RISCHIO ASSOCIATI

P. Tomietto¹, V. Anness², S. D'Agostini³, P. Venturini⁴, M. Regis⁴, S. De Vita⁴, G.F. Ferraccioli⁵

¹Clinica Medica, Università di Trieste; ²Clinica Neurologica, Università di Udine; ³Servizio di Neuroradiologia, Ospedale Santa Maria della Misericordia, Udine; ⁴Clinica Reumatologica, Università di Udine; ⁵Clinica Reumatologica, Università del Sacro Cuore, Roma

Obiettivi: Determinare i fattori di rischio associati alla presenza di lesioni alla RMN cerebrale in pazienti (pz) con LES e la loro relazione con i deficit cognitivi (DC).

Metodi: 52 pz lupici consecutivi sono stati sottoposti a RMN cerebrale e a una batteria neuropsicologica di 3 h. Lo SLEDAI, lo SLICC DI, i fattori di rischio cardiovascolare, la dose di steroide/die, la positività per il Raynaud, per gli antifosfolipidi (aPL) e la presenza di iperomocisteinemia sono stati registrati per tutti i pz. Un'analisi qualitativa delle lesioni in RMN è stata eseguita da un neuroradiologo per i seguenti parametri: atrofia corticale, dimensioni delle lesioni iperintense in T2 (microlesioni <6 mm, macrolesioni >6 mm), localizzazione (corticale, sottocorticale e iuxtacorticale). I dati sono stati valutati mediante regressione logistica multipla e correlazione (Spearman's correlation coefficient).

Risultati: 33 pz (63,5%) presentavano alterazioni alla RMN, in particolare, 51,9% atrofia, 42,3% microlesioni, 25% macrolesioni, 15,4% a localizzazione corticale, 44,2% sottocorticale e 11,5% iuxtacorticale. 28,8% dei pz presentavano DC di grado moderato/severo. Le alterazioni in RMN sono risultate correlate all'età (r=0,29, p=0,037), allo SLICC (r=0,47, p<0,0001), alla positività per gli aPL (r=0,39, p=0,004), all'ipertensione (HTN)(r=0,44, p=0,001), all'iperomocisteinemia (r=0,37, p=0,006) e alla severità dei DC (r=0,585, p<0,0001). Le regressioni logistiche multiple hanno evidenziato come l'età e la positività per gli aPL risultino associate in modo indipendente allo sviluppo di atrofia (rispettivamente p=0,003, OR 9,3,

CI95%2,1-41,6, p=0,05, OR 3,9, CI95% 1-15,2), lo SLICC, l'iperomocisteinemia e l'HTN allo sviluppo di microlesioni (rispettivamente p=0,008, OR 6,8, CI95% 1,6-28,6, p=0,015, OR 5,9, CI95% 1,4-24,5, p=0,05, OR 4,6, CI 95% 1-21,2) e di lesioni sottocorticali (rispettivamente p=0,004, OR 16,6, CI95% 2,5-61,9, p=0,03, OR 5,9, CI95%, 1,2-29,5, p=0,004, OR 16,6, CI95% 2,5-109). La presenza di macrolesioni è risultata associata in modo indipendente allo SLICC (p=0,014, OR 6,9, CI 1,5-32,7) e all'HTN (p=0,02, OR 5,6, CI95% 1,3-25,1) e le lesioni corticali allo SLICC (p=0,002, OR 13,5, CI95% 1,5-120,4); escludendo lo SLICC da questa analisi l'iperomocisteinemia è l'unico fattore di rischio associato alle lesioni corticali (p=0,04, OR 6,6, CI95% 1-40,2). Tutti i tipi di lesioni, eccetto le corticali e le iuxtacorticali, sono risultate correlate alla presenza di DC moderati/severi, in particolare l'atrofia (r=0,46, p=0,001) e le lesioni sottocorticali (r=0,481, p<0,0001).

Conclusioni: Nel LES, i fattori di rischio associati ad alterazioni della RMN cerebrale sono lo SLICC, la positività per gli aPL, l'iperomocisteinemia e l'HTN. Gli aPL risultano associati all'atrofia mentre l'HTN e l'iperomocisteinemia allo sviluppo di micro e macro lesioni sottocorticali. Tali alterazioni condizionano l'insorgenza di DC di grado moderato/severo. Uno stretto controllo dell'HTN e dell'iperomocisteinemia, oltre alla terapia antiaggregante, risultano pertanto necessari per prevenire la comparsa di lesioni in RMN e di DC nel LES.

Keywords LES, Deficit cognitivi, RMN cerebrale.

QUALITÀ DI VITA NEL LES: RELAZIONE CON IL COINVOLGIMENTO NEUROPSICHIATRICO E EXTRA-CEREBRALE

P. Tomietto¹, V. Annesse², P. Venturini³, M. Regis³, S. De Vita³, G.F. Ferraccioli⁴

¹Clinica Medica, Università di Trieste; ²Clinica Neurologica, Università di Udine; ³Clinica Reumatologica, Università di Udine; ⁴Clinica Reumatologica, Università del Sacro Cuore, Roma

Obiettivi: Determinare la possibile relazione della qualità di vita (QoL) nei pazienti con LES con il coinvolgimento d'organo di tipo neuropsichiatrico (NP) e non-neuropsichiatrico.

Metodi: 56 pazienti (pz) consecutivi con LES sono stati sottoposti al Medical Outcome Survey Short Form 36 (SF-36), per valutare la qualità di vita legata alla salute (HRQoL), all'Hospital Anxiety and Depression Scale e a una batteria neuropsicologica di 3 ore per valutare la presenza di deficit cognitivi. Il coinvolgimento d'organo neuropsichiatrico ed extra-cerebrale, lo SLEDAI e lo SLICC DI, la presenza di Raynaud, antifosfolipidi (aPL) e di iperomocisteinemia sono stati registrati per tutti i pazienti. I dati sono stati valutati mediante una regressione logistica multipla e analisi di correlazione (Spearman's correlation coefficient).

Risultati: 52 pz (92,8%) presentavano un coinvolgimento neuropsichiatrico (inclusi ansia, depressione, deficit cognitivi lievi), 47 pz (83,9%) avevano un coinvolgimento cutaneo, 45 (80,3%) artrite, 46 (82,1%) coinvolgimento ematologico (inclusa linfopenia), 7 (12,5%) ulcere orali/nasali, 5 (8,9%) sierositi, 21 (37,5%) il fenomeno di Raynaud, 37 (66,1%) positività per aPL e 22 (39,3%) iperomocisteinemia.

Lo SLICC-DI è risultato correlato con la subscale attività fisica (PA) dell'SF-36 ($r=-0,44$; $p=0,001$), con la componente "fisica" dell'SF-36 (physical component summary=PCS) ($r=-0,267$, $p=0,047$) e con il numero di eventi NP ($r=0,35$, $p=0,007$). Lo SLEDAI non è risultato correlato con nessuna subscale dell'SF-36. Lo score totale dell'SF-36 (TSC), la componente fisica (PSC) e mentale (MCS) sono risultati tutti inversamente cor-

relati al numero di eventi NP ($r=-0,5$, $p<0,001$) ed in particolare alla presenza di ansia e depressione (per TSC $r=-0,56$, $p<0,001$); nessuna relazione è stata trovata con le manifestazioni cerebrali non psichiatriche.

Tra gli impegni d'organo extra-cerebrali, il TSC è risultato correlato con la presenza di sierosite ($r=-0,32$, $p=0,018$), la PCS e le subscale attività fisica (PA) e attività sociali (SA) con la positività per il fenomeno di Raynaud (rispettivamente $r=-0,34$ $p=0,01$, $r=-0,38$ $p=0,003$, $r=-0,3$ $p=0,0027$), la subscale "salute generale" (GH) con l'iperomocisteinemia ($r=-0,31$, $p=0,024$) e la subscale "salute mentale" con la presenza di aPL ($r=0,31$, $p=0,019$).

Nella regressione logistica, la depressione è risultata il principale fattore in grado di influenzare in modo indipendente la QoL ($p=0,015$, OR=0,18, CI95%: 0,045-0,72).

Conclusioni: Nel LES, la QoL, sia nelle componenti mentali che fisiche, è principalmente influenzata dalla presenza di ansia e depressione.

Anche la presenza di sierosite, del fenomeno di Raynaud, di iperomocisteinemia e della positività per gli aPL possono influenzare alcune componenti della QoL.

L'attività di malattia non modifica la QoL mentre l'indice di cronicità riduce principalmente la componente fisica della QoL. L'identificazione dei disturbi dell'umore nei pazienti con LES risulta utile al fine di migliorare, attraverso un supporto psicologico ed eventuali farmaci anti-depressivi, la QoL.

Keywords: LES, Qualità di vita, Depressione.

LONG TERM OUTCOME OF TREATMENT OF DIFFUSE PROLIFERATIVE GLOMERULONEPHRITIS (DPGN) WITH PULSE STEROIDS AND SHORT COURSE PULSE CYCLOPHOSPHAMIDE

C. Tani¹, M. Mosca¹, A. D'Ascanio¹, R. Neri¹, A. Tavoni², L. Carli¹, S. Bombardieri¹

¹Reumatologia, Università degli Studi di Pisa; ²Immunoallergologia Clinica, Università degli Studi di Pisa

Introduction: Cyclophosphamide (CYC) is considered the treatment of choice for DPGN. However, relapses can occur after the end of treatment and, on the other hand, prolonged CYC treatment has been associated with a high incidence of serious side effects.

On this basis, long-term follow-up is necessary to evaluate the risk-benefit ratio of various immunosuppressive strategies. In 2001, we reported the incidence of renal flares and the long-term outcome in a group of SLE patients with DPGN treated with pulse steroids and a short course of pulse CYC leading to the conclusions that this treatment protocol might be effective in controlling disease activity and preventing renal flares (RF), especially in patients characterized by older age and low activity index (AI) on renal histology.

Objectives: We extended the observational period of our original DPGN SLE cohort in order to evaluate:

- the very long-term outcome of DPGN (>10 years);
- cumulative incidence of RF;
- predictor variables of disease outcome at the end of the follow-up.

Methods: *Patients:* female SLE patients fulfilling ACR crite-

ria with active DPGN treated with pulse steroids and pulse CYC.

Outcome measures: RF: increase of at least two of the following parameters after a remission was achieved: dysmorphic erythrocytes, cellular casts, proteinuria, serum creatinine.

Poor renal outcome (at the end of follow-up): renal insufficiency (doubling in serum creatinine values for at least 6 months with a plasma creatinine value of at least 2 mg/dl) or end-stage renal disease (ESRD).

Results: 30 female patients with DPGN were included (mean follow-up 117.7 months, min 20 - max 187 since the end of the treatment protocol).

From the original cohort, 20 (66.7%) patients are actually in follow-up at our unit, 4 (13.3%) died and 6 (20%) were lost during the follow-up.

14 (46.6%) patients presented at least one RF during the follow-up for a total of 21 flares. Interestingly, respect to our previous observation, this extended follow-up allowed us to register four additional late RF.

At our last observation, 18 (60%) presented a good renal outcome, 12 (40%) presented a poor outcome, 7 of which with

ESRD. As previously reported, RF were correlated with younger age at kidney biopsy ($p=0.036$); in addition patients who relapsed tended to have higher AI.

Poor long-term renal outcome significantly correlates with the cumulative numbers of renal flares after remission ($p=0.03$), and it shows a tendency to correlate with the cronicity index on kidney histology at baseline ($p=0.08$).

Conclusions: These data suggest that a short course therapy with CYC might be effective in controlling disease activity and preventing a poor renal outcome in older patients with low activity on renal biopsy and suggest the possibility of tailoring immunosuppressive therapy on the basis of prognostic factor at baseline.

Keywords: *Lupus nephritis, Cyclophosphamide, Long term outcome.*

I DEFICIT DI MEMORIA NEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

S. Rinaldi¹, S. Mondini², M. Zen¹, M. Tonon¹, S. Bettio¹, D. Piccoli², A. Ghirardello¹, G. Arcara², L. Punzi¹, A. Doria¹

¹Unità Operativa Complessa di Reumatologia, Padova; ²Dipartimento di Psicologia Generale, Padova

Scopo dello Studio: I risultati degli studi sui deficit cognitivi nel Lupus Eritematoso Sistemico (LES) sono contraddittori.

Obiettivo dello Studio: Verificare se nei pazienti con LES sono presenti deficit cognitivi, in particolare di memoria, e se tali deficit sono correlati a variabili cliniche quali gravità, grado di attività e indice di danno della malattia o se dipendono dalla concomitante presenza di depressione e ansia. Obiettivo secondario era identificare fattori in grado di predire le condizioni mnestiche dei pazienti affetti da LES.

Materiali e Metodi: Abbiamo studiato 126 pazienti ambulatoriali affetti da LES (criteri ARA): 16 maschi e 110 femmine, età media $38,9 \pm 11,9$ anni. Abbiamo definito la gravità di malattia sulla base degli organi ed apparati coinvolti (lieve: cute, articolazioni, sangue e membrane sierose; grave: rene, sistema nervoso, cuore, polmoni, anemia emolitica). L'attività della malattia è stata valutata con European Consensus Lupus Activity Measurement Index (ECLAM); l'indice di danno con il Systemic Lupus International Collaborating Clinics Damage Index (SLICC-DI). Tra le variabili cliniche della malattia abbiamo considerato: artrite, artralgia, rash cutaneo, fenomeno di Raynaud, sierositi, coinvolgimento ematologico, renale e neurologico, anti-dsDNA, anti-RNP, anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anticardiolipina e lupus anticoagulant. Le abilità mnestiche sono state misurate con la Wechsler Memory Scale (WMS), considerando sia il Quoziente di Memoria totale (QM), sia i punteggi ai singoli subtest. I sintomi di depressione e ansia sono stati valutati con due interviste strutturate: Hamilton depression rating scale (HAM-D) e Hamilton rating

scale for anxiety (HAS). L'analisi statistica è stata condotta con il programma SPSS.

Risultati: Al momento della valutazione i pazienti avevano una durata media di malattia di $9,9 \pm 6,3$ anni (range 1-32), un punteggio medio di ECLAM di $1,67 \pm 1,12$ (range 0-6) e di SLICC/ACR di $0,33 \pm 0,84$ (range 0-5), 31 pazienti (24,6%) avevano una forma grave e 95 (75,4%) una forma lieve di malattia. Le prestazioni alla WMS, compreso QM e i singoli subtest della batteria, non sembrano influenzate da gravità, attività e indice di danno del LES, né dalle altre variabili cliniche considerate. I sintomi di depressione e ansia risultano inversamente correlati al QM (rispettivamente $\rho=-0,27$, $p=0,002$ e $\rho=-0,28$, $p=0,001$) e ad alcuni sub-test della WMS (i.e., memoria logica, ripetizione di cifre, riproduzione a rovescio, riproduzione visiva, associazione), ovvero tutte quelle prove che richiedono il coinvolgimento della working memory nella sua componente verbale e visuospatiale. Il metodo statistico Classification Trees ha evidenziato che l'unica variabile in grado di predire il punteggio al QM è il grado di depressione misurato alla HAM-D: un punteggio $>6,5$ alla HAM-D predice un QM medio di 89/100, mentre un punteggio $<6,5$, si predice un QM medio di 96/100.

Conclusione: La memoria dei pazienti affetti da LES sembra dipendere dai sintomi depressivi e non dalle caratteristiche della malattia quali gravità, attività o danno permanente.

Keywords: *Lupus eritematoso sistemico, Deficit di memoria, Ansia e depressione.*

INEFFICACIA DELLA TERAPIA CON IMMUNOGLOBULINE ENDOVENA NELLA PREVENZIONE DELLA RECIDIVA DEL BLOCCO CARDIACO CONGENITO

A. Brucato¹, C.N. Pisoni², A. Tincani³, A. Ruffatti⁴, G. Espinosa⁵, V. Ramoni¹, S.F. Curri¹, M. Belmonte⁶, J. Sanchez-Roman⁷, F.J. Garcia-Hernandez⁷, M.T. Bertero⁸, A. Doria⁴, G.R.V. Hughes², M.A. Khamashta²

¹Internal Medicine, Ospedali Riuniti, Bergamo; ²Lupus Research Unit, The Rayne Institute, St Thomas' Hospital and King College, London, United Kingdom; ³Rheumatology and Clinical Immunology Unit, Spedali Civili, University of Brescia; ⁴Rheumatology Unit, University of Padova; ⁵Department of Autoimmune Disease, Hospital Clinic Barcelona, Catalonia, Barcelona, Spain;

⁶Rheumatology Unit, Hospital General de Castellon, Spain; ⁷Unidad de Colagenosis, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain; ⁸Clinical Immunology Unit, Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino

Il blocco cardiaco congenito (CHB) si presume sia causato dal passaggio transplacentare delle immunoglobuline materne dirette contro le ribonucleoproteine Ro/SSA e La/SSB.

Il rischio di recidiva di tale evento, in una gravidanza successiva ad una precedentemente affetta, è stimata intorno al 19%.

Obiettivo: Prevenire lo sviluppo del CHB in gravidanze ad alto rischio mediante l'uso di immunoglobuline endovena (IVIG).

Metodi: Sono state incluse nello studio 24 gravidanze insorte in 22 donne, maggiorenni, gravide da meno di 12 settimane, con nota positività per anticorpi anti-Ro/SSA e con precedente gravidanza complicate dall'insorgenza di CHB. Quindici pazienti hanno ricevuto IVIG mentre 9 gravidanze in 7 pazienti sono state utilizzate come controlli. La somministrazione di IVIG alla dose di 400 mg/kg è avvenuta alla 12^a, 15^a, 18^a, 21^a e 24^a settimana di gestazione. Controlli ecocardiografici sono stati eseguiti ogni 2-3 settimane tra la 15^a e la 30^a settimana di gravidanza. Un elettrocardiogramma è stato effettuato alla nascita. L'endpoint dello studio è stato lo sviluppo di un bloc-

co cardiaco di 3° grado individuato mediante ecocardiografia fetale.

Risultati: 3 neonati su 15 nel gruppo dei trattati (20%) e 1 neonato su 9 nei controlli (11%) hanno sviluppato un CHB. Tale blocco è stato individuato alle settimane 18, 23 e 26 nel gruppo dei trattati ed alla 19 a settimana nel gruppo dei controlli. Tre gravidanze sono state interrotte, in 2 casi per la patologia fetale ed in un caso per la patologia materna (severa ipertensione polmonare) e fetale.

Conclusioni: La terapia con IVIG a dose e frequenza utilizzate in questo studio non è risultata efficace nella prevenzione del CHB in donne ad alto rischio.

Keywords: *Gravidanza, Blocco cardiaco congenito, Immunoglobuline.*

IGG ANTI-PTX3 NEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

N. Bassi, A. Ghirardello, S. Zampieri, M. Canova, M. Tonon, M. Zen, M.E. Rampudda, S. Arienti, L. Punzi, A. Doria
Cattedra e U.O.C. di Reumatologia, Università di Padova

Introduzione: La pentrassina 3 (PTX3) è una proteina dell'immunità innata e gli anti-PTX3 fanno parte del gruppo di autoanticorpi diretti contro molecole "protettive", potenzialmente coinvolti nella patogenesi delle malattie autoimmuni.

Scopo dello Studio: Valutare prevalenza e correlazioni cliniche degli anti-PTX3 nel lupus eritematoso sistemico (LES).

Pazienti e Metodi: Sono stati testati i sieri di 130 pazienti con LES (criteri ACR), 130 soggetti sani e 130 controlli patologici (artrite reumatoide, piodermatomiolite, sdr di Sjögren, sclerodermia, artrite psoriasica), con una tecnica ELISA home-made, usando come substrato la PTX3 intera e 2 peptidi (PTX3_1 ottenuto dalla porzione N-terminale e PTX3_2 dalla porzione centrale) identificati come possibili siti antigenici con il software Lasergene DNA (DNA Star). I valori di cut-off sono stati calcolati con la curva ROC. Abbiamo inoltre valutato le relazioni tra titoli o positività anticorpale e le variabili cliniche e sierologiche della malattia.

L'analisi univariata e multivariata sono state condotte con il software SPSS 16.0.

Risultati: La prevalenza degli anti-PTX3, anti-PTX3_1 e anti-PTX3_2 è risultata più elevata nei pazienti con LES rispetto ai soggetti sani (46,2% vs 6,2%; 36,9% vs 8,2%; 60,8% vs 5,2%, rispettivamente, $p < 0,001$ per tutti), e ai controlli patologici ($p < 0,001$ per tutti). Anche i titoli di questi anticorpi erano significativamente più elevati nei pazienti con LES rispetto ai soggetti sani ($0,268 \pm 0,19$ vs $0,134 \pm 0,07$; $0,321 \pm 0,19$ vs $0,171 \pm 0,11$; $0,407 \pm 0,24$ vs $0,154 \pm 0,08$, rispettivamente, $p < 0,001$ per tutti), e ai controlli patologici ($p < 0,001$ per tutti). Nessuna differenza significativa è stata osservata nelle fre-

quenze e nei titoli tra controlli sani e patologici. Nei pazienti con LES sono state osservate correlazioni tra titoli di anti-PTX3 e anti-PTX3_1 ($R^2 = 0,148$, $p < 0,001$) o anti-PTX3_2 ($R^2 = 0,378$, $p < 0,001$). Sono stati inoltre riscontrati frequenze anticorpali e titoli significativamente più bassi nei pazienti con glomerulonefrite (GLN) rispetto a quelli senza (GLN) (titoli: $0,176 \pm 0,12$ vs $0,349 \pm 0,21$; $0,247 \pm 0,12$ vs $0,387 \pm 0,22$; $0,325 \pm 0,16$ vs $0,480 \pm 0,28$, rispettivamente, $p < 0,001$ per tutti; frequenze: 24,6% vs 65,2%; 19,7% vs 52,2%; 35,4% vs 73,9%, rispettivamente, $p < 0,001$ per tutti). Livelli e frequenze significativamente più elevate di anti-PTX3 e anti-PTX3_2 sono stati osservati nei pazienti affetti da LES positivi per gli anticorpi antifosfolipidi rispetto a quelli negativi ($0,315 \pm 0,23$ vs $0,241 \pm 0,14$, $p = 0,041$; $0,467 \pm 0,345$, $p = 0,014$; 64,8% vs 43,2%, $p = 0,030$; 66,2% vs 33,8%, $p = 0,026$, rispettivamente). La relazione inversa tra anti-PTX3 e GLN e quella diretta con gli anticorpi antifosfolipidi sono state confermate all'analisi multivariata.

Conclusioni: Gli anticorpi anti-PTX3 sono significativamente prevalenti nei pazienti affetti da LES rispetto ai controlli sani e patologici. Nel LES gli anti-PTX3 sembrano essere associati all'assenza di GLN e alla positività degli anticorpi antifosfolipidi. Le proprietà antigeniche dei 2 peptidi (PTX3_1 e PTX3_2) sembrano essere simili a quelle dell'intera proteina, suggerendo un loro possibile impiego in ulteriori studi su questi anticorpi.

Keywords: *Lupus eritematoso sistemico, Pentrassina, Glomerulonefrite.*

GLUCOCORTICOID INDUCED TNFR-RELATED PROTEIN (GITR) AS MARKER OF HUMAN REGULATORY T CELLS: EXPANSION OF THE GITR+CD25- CELL SUBSET IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

A. Alunno¹, G. Nocentini², E. Bartoloni Bocci¹, R. Bianchini², O. Bistoni¹, C. Riccardi², R. Gerli¹

¹Struttura di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale-Università di Perugia;

²Sezione di Farmacologia, Tossicologia e Chemioterapia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Perugia

Background: Regulatory T cells (T-REGs) represent a T-cell subset able to modulate immune response and their impairment could be involved in the pathogenesis of autoimmune diseases. Historically, the high surface expression of CD25, in association with the intracellular expression of the transcription factor Foxp3, has been considered one of the main phenotypic features of T-REGs. Recent data showed an unexpected expansion of Foxp3+ CD4+ T cells lacking of surface CD25 in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus (SLE). Thus, other surface molecules are needed to further characterize T-REGs. GITR is a well established marker of murine T-REGs, but little is known about its role in humans (1-3).

Object: Phenotypic and functional characterization of T-REG cells in healthy donors (HD) and SLE patients. We aimed to assess the possible role of GITR as a marker of human peripheral blood T-REGs

Methods: The study included 31 SLE patients and 30 sex- and age-matched HD. CD4+ T cells were negatively selected by magnetic cell sorting (CD4+ T Cell Isolation KIT II, Miltenyi). Positive selection strategies were also performed in order to isolate CD25^{high} and GITR^{high} subsets. T-REGs phenotype was investigated by both flow cytometry and qRT-PCR. Primary and secondary antibodies, provided by BD-Pharmingen and Biolegend, as well as TaqMan probes (Applied Biosystems) were used. Proliferation assays were performed on CFSE-labeled anti-CD3-triggered cells.

Results: Results obtained by flow cytometry in HD, CD4+ T cells showed a percentage of CD25^{high}GITR⁻ and CD25^{high}GITR^{high} subsets of 15±3.7% and 0.7±0.2%, respectively. A small CD25-GITR^{high} cell population (0.7±0.3% of CD4+

cells) was also detected. Phenotypic analysis at mRNA level and proliferation assays demonstrated that the 3 cell subsets were suppressive T cells. The analysis of CD4+ cells in SLE revealed a statistically significant decrease in both CD25^{high}GITR⁻ (6.1±3.3%, p<0.01) and CD25^{high}GITR^{high} (0.4±0.2%, p<0.05) circulating cells with respect to HD. Interestingly, an expansion of CD25-GITR^{high} subset was also found in SLE patients compared to HD (3.1±2.3 vs 0.7±0.3%, p<0.01). SLE CD25-GITR^{high} and CD25^{high}GITR^{high} showed a suppressor phenotype similar to that observed in the equivalent HD cell subsets. On the contrary, SLE CD25^{high}GITR⁻ cells displayed a phenotype resembling that of activated effector T cells.

Conclusions: Our study demonstrates that:

- a) a CD4+CD25-GITR^{high} T cell subset with suppressor phenotype, is present in both HD and SLE patients;
- b) CD4+CD25^{high} cells are decreased whereas CD4+CD25-GITR^{high} cells are increased in SLE patients compared to HD;
- c) the expression of high level of GITR, but not of CD25, seems to be sufficient to identify cells with suppressor function in SLE. Experiments are ongoing to better understand the functional meaning of CD4+CD25-GITR^{high} cell expansion.

References

1. Nocentini, et al., P. Natl. Acad. Sci. USA 1997; 94: 6216-21.
2. Nocentini, et al., Eur. J. Immunol. 2007 ; 37: 1165-9.
3. Gerli et al., Autoimmun. Rev. 2009; 8: 426-30.

Keywords: Regulatory T cells, Systemic lupus erythematosus, GITR.

LETTURA

Moderatore: P. Meroni (Milano)

- Diagnosi precoce nel LES
A. Doria (Padova)

DIAGNOSI PRECOCE NEL LES

A. DORIA, S. ARIENTI, N. BASSI, M. RAMPUDDA, M. CANOVA, M. TONON, M. ZEN, S. BETTIO, A. GHIRARDELLO

U.O.C. di Reumatologia, Università di Padova

La sopravvivenza dei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico (LES) è notevolmente aumentata in questi ultimi decenni (1). Una delle principali ragioni del miglioramento è il progressivo sviluppo dei test di laboratorio per la determinazione degli anticorpi antinucleo, che ha reso più semplice la diagnosi di LES ed ha consentito il riconoscimento precoce della malattia in un elevato numero di casi.

Un tempo la diagnosi di LES si basava sul riconoscimento delle manifestazioni cliniche della malattia. Solo le manifestazioni cutanee sono, però, specifiche di LES (2); le altre manifestazioni come artrite, sierositi, glomerulonefrite, le manifestazioni neuropsichiatriche e le alterazioni ematologiche sono indistinguibili da quelle dovute ad altre cause. In assenza di manifestazioni cutanee, la diagnosi era piuttosto difficile e si basava sull'associazione in uno stesso paziente di più manifestazioni tra loro (3), che potevano comparire in un arco di tempo più o meno lungo rendendo la diagnosi quasi sempre tardiva.

La situazione è decisamente migliorata con la scoperta del fenomeno LE nel 1948 e soprattutto dopo l'introduzione degli anticorpi antinucleo (ANA) nel 1954. Gli ANA e gli ANA specifici (4-9) si sono dimostrati markers sensibili e specifici di LES ed hanno migliorato le nostre capacità di diagnosi, consentendo in molti casi la diagnosi precoce.

La positività degli ANA a titolo medio-alto e/o degli ANA specifici, come anti-DNA nativo (nDNA) (5) e anti-Sm (6), permette, infatti, di escludere una buona parte delle malattie sistemiche con cui il LES entra in diagnosi differenziale, come infezioni, malattie linfoproliferative, nefropatie primitive, artriti sieronegative, reumatismo articolare acuto e vasculiti sistemiche.

Risulta invece più difficile, specie nelle fasi iniziali, la diagnosi differenziale con l'artrite reumatoide che pure può presentare positività di ANA, sempre peraltro a basso titolo e senza specificità, e con le altre connettiviti, in particolare la connettivite in-

differenziata (10), la connettivite mista (11), la sindrome di Sjögren, e la dermatopolimiosite (12).

Nonostante il miglioramento della prognosi, la sopravvivenza a lungo termine (15-20 anni) dei pazienti affetti da LES continua ad essere inferiore rispetto a quella di una popolazione simile per sesso ed età (1). Questa differenza che emerge con l'allungarsi della durata di malattia è dovuta alla comparsa di complicanze che possono essere dovute al LES e/o alla sua terapia (13-20).

Nella valutazione della prognosi dei pazienti affetti da LES, oltre alla sopravvivenza, dobbiamo considerare anche la qualità di vita che nei pazienti affetti da LES risulta compromessa (21-23).

Per cercare di migliorare la prognosi a lungo termine e la qualità di vita dei pazienti affetti da LES oltre a nuove strategie terapeutiche dobbiamo cercare di identificare nuovi biomarkers che siano in grado di migliorare ulteriormente le nostre capacità diagnostiche consentendoci di riconoscere in fase precoce:

- a) la malattia,
- b) le fasi di riacutizzazione della stessa,
- c) l'impegno d'organo.

Vi sono numerosi biomarkers in fase di valutazione nel LES quali: i livelli sierici di alcune citochine (IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, INF- α , INF- γ , e il TNF- α), o dei recettori solubili delle citochine (IL-2R, TNFR e IL-1Ra), molecole di superficie solubili (BLyS, CD27, CD154), markers di attivazione endoteliale (sICAM, sVCAM, trombomodulina e cellule endoteliali circolanti), autoanticorpi (antinucleosomi, anti-C1q, anti-proteine P ribosomiali, anti-NMDA, anti-NR2).

Tra questi nuovi biomarkers rivestono una particolare importanza gli autoanticorpi. È stato, infatti, dimostrato come la comparsa di autoanticorpi preceda l'esordio delle manifestazioni cliniche non solo nel LES, ma anche in altre malattie autoimmuni, non-organo e organo specifiche. Questo significa che gli autoanticorpi sono biomarkers precoci nelle malattie autoimmuni ed il loro rilievo

potrebbe consentire la diagnosi di malattia prima della comparsa delle manifestazioni cliniche. Una tale evenienza avrebbe un'importante ricaduta nella pratica clinica in quanto aprirebbe la strada all'impiego di strategie terapeutiche nel tentativo di prevenire la malattia (24-26).

In questa breve rassegna prenderò in considerazione solo alcuni markers anticorpali come gli anticorpi antinucleosomi, gli anti-C1q e gli anticorpi anti-proteine P ribosomiali.

Anticorpi antinucleosomi

I nucleosomi sono l'unità fondamentale della cromatina e derivano dall'associazione del DNA con gli istoni. Al microscopio elettronico appaiono come particelle discoidali di 11 nm di diametro. Ognuna di esse è composta da 8 molecole di istoni che formano un nucleo proteico centrale (core istonico ottamerico) attorno al quale si avvolge per due volte un doppio filamento di DNA; ciascun nucleosoma è unito all'altro da un filamento di DNA linker e dall'istone H1 (27). È stato ipotizzato che siano proprio i nucleosomi endogeni, che si liberano nel corso dell'apoptosi, a guidare la risposta anticorpale contro il complesso cromatinico. Si formerebbero prima gli anticorpi antinucleosomi (DNA/istoni) e successivamente gli anticorpi anti-nDNA, diretti verso epitopi dello scheletro desossiribosio-fosfato del DNA, e gli anti-istoni (27).

Non è ancora chiaro il meccanismo con cui gli anticorpi diretti verso la cromatina possano contribuire al danno renale. Secondo una delle teorie più accreditate gli anticorpi anticromatina si legherebbero ad antigeni solubili presenti sulla membrana basale glomerulare (MBG) per interazione tra antigeni con carica elettrica positiva e molecole con carica elettrica negativa come l'eparan solfato costituente della MBG. Il modello proposto per i nucleosomi è particolarmente interessante. Nei nucleosomi la carica elettrica positiva degli istoni è mascherata dalla carica elettrica negativa del DNA e quindi i nucleosomi liberi non si attaccano alla MBG. Se il nucleosoma è complessato con l'anticorpo anti-nucleosoma o anti-nDNA, la carica elettrica negativa del DNA viene mascherata facilitando l'adesione degli istoni (carica elettrica positiva) all'eparan solfato (carica elettrica negativa).

Sebbene il nucleosoma sia considerato come il principale immunogeno nel LES e rivesta un ruolo chiave nella patogenesi di questa malattia autoimmune, il dosaggio degli anticorpi antinucleosomi ha una scarsa applicazione nella pratica clinica.

Vi sono alcuni studi che suggeriscono come questa popolazione eterogenea di anticorpi potrebbe avere un valore clinico rilevante essendo presente nel 70-80% dei pazienti con LES (27).

Abbiamo dosato gli anticorpi antinucleosomi in 101 pazienti affetti da LES ed in 221 controlli (100 soggetti sani, 30 pazienti con sclerodermia, 23 con sindrome di Sjögren primitiva, 20 con artrite reumatoide e 48 con malattie infettive), ed abbiamo ottenuto una sensibilità del 86% ed una specificità del 95% (28). In questo studio non abbiamo osservato associazioni significative tra questi anticorpi e la glomerulonefrite, né correlazioni con l'attività di malattia. Sono quindi necessari ulteriori studi per chiarire il significato del dosaggio di questi anticorpi nella pratica clinica.

Anticorpi anti-proteine P ribosomiali

Le proteine P ribosomiali sono tre fosfoproteine ubiquitarie altamente conservate, P0, P1 e P2, dal peso molecolare di, rispettivamente, 38 kilodaltons [kd], 19 kd e 17 kd (29). Le tre P proteine contengono lo stesso determinante antigenico, formato dai 22 aminoacidi carbossi-terminali.

Le P proteine risiedono nella subunità maggiore 60S del ribosoma della cellula eucariote, sito che risulta immunologicamente accessibile, ed è stato dimostrato che gli anticorpi diretti contro di esse sono in grado di penetrare le cellule e indurre l'inibizione della sintesi proteica (29).

Il riconoscimento degli anticorpi anti-proteine P ribosomiali IgG, risale al 1985 e da allora sono stati rilevati quasi esclusivamente nel siero di pazienti affetti da LES, anche se con prevalenza molto variabile, dal 6 al 46% dei casi. Questa grande variabilità è in parte dovuta a differenze genetiche. In pazienti di origine asiatica, infatti, gli anticorpi anti-proteina P ribosomiale sono stati osservati con frequenza pari al 36-38% mentre nei pazienti caucasici sono risultati più rari, con prevalenza del 6-20%.

Inoltre la loro prevalenza è risultata maggiore nei casi ad esordio giovanile ed è associata all'attività di malattia e alla terapia.

Il meccanismo che scatena la risposta anti-proteina P non è ancora stato chiarito, ma alcuni studi indicano che potrebbe esserci una relazione tra lo sviluppo della risposta autoimmune e modificazioni della proteina indotte durante il processo di apoptosi (30).

La prima descrizione degli anticorpi anti-proteina P ribosomiale in corso di lupus neuropsichiatrico risale al 1986, quando Bonfa et al. per primi de-

scrissero la presenza di anticorpi IgG anti-proteina P ribosomiale nel siero di 18 su 20 pazienti affetti da LES con manifestazioni neuropsichiatriche. In due casi, inoltre, i livelli anticorpali correlavano con l'attività della malattia psichiatrica.

Studi successivi non hanno, però, confermato uniformemente questi dati: l'associazione tra questi autoanticorpi e manifestazioni esclusivamente neurologiche è stata dimostrata solo in alcuni casi, mentre è stata più spesso rilevata la relazione con sindromi psichiatriche (31-33).

La variabilità dei risultati è imputabile a molti fattori, tra cui le differenti metodologie di studio (34), i diversi criteri di definizione del coinvolgimento neuropsichiatrico, l'eterogeneità nei criteri di selezioni dei pazienti.

Anticorpi anti-C1q

Il C1q è una delle tre subunità che forma il primo componente del complemento (C1). È una glicoproteina di 460,000 kd costituita da 6 catene disposte in modo da formare una struttura ad "ombrello" con un dominio C-terminale detto testa globulare e un dominio N-terminale (collagen-like domain); la testa globulare lega la regione Fc delle immunoglobuline IgG e IgM, le cellule apoptotiche, le cellule danneggiate, alcuni patogeni e la PCR; il dominio collagen-like lega le altre due subunità del C1 (C1r e C1s), la PTX3, la SAP e alcuni recettori di superficie dei macrofagi. Questa glicoproteina viene prodotta a livello extraepatico per esempio da monociti, macrofagi, fibroblasti, cellule dendritiche e cellule epiteliali (35).

Il C1q svolge quindi funzioni diverse in relazione alla sua capacità di legare molecole e recettori differenti. Ha un ruolo fondamentale nell'attivazione della cascata complementare attraverso la via classica: il legame alla regione Fc delle immunoglobuline causa attivazione di C1r e C1s che svolgono un'azione enzimatica, clivando il C4 (35). Il C1q interagisce "a ponte" con i detriti derivanti dall'apoptosi cellulare (corpi apoptotici) e i macrofagi: la testa globulare riconosce i segnali "eat-me", come per esempio la fosfatidilserina, normalmente presente sulla superficie interna della membrana cellulare e che durante l'apoptosi viene ad essere distribuita anche sulla superficie extracellulare; il dominio collagen-like lega i fagociti tra cui i macrofagi, facilitando quindi la fagocitosi e la rimozione dei detriti derivanti dalla morte cellulare programmata.

Il C1q presenta alcune caratteristiche in comune con la famiglia delle collectine; le collectine sono

un gruppo di proteine, tra le quali troviamo la MBL, che sono prodotte dal fegato: si legano alla struttura oligosaccaridica dei microrganismi e attivano il complemento, attivano i fagociti e inibiscono la crescita microbica. È stato dimostrato che il C1q lega il lipide A della membrana batterica, come le collectine, entrando quindi in gioco nei meccanismi dell'immunità innata (35).

Il C1q riveste un ruolo importante anche nell'immunità acquisita. Il sistema del complemento ed in particolare la via classica hanno un ruolo chiave nel prevenire la precipitazione degli immunocomplessi (IC). Ed è stato dimostrato che nei pazienti affetti da LES c'è un difetto della clearance degli IC. Analizzando la funzione che il C1q svolge, è possibile anche interpretare i risultati di alcuni studi. Botto et al. (36) hanno descritto come topi knock-out per il C1q sviluppano glomerulonefrite associata a un difetto di rimozione dei corpi apoptotici, sottolineando in questo modo l'importanza del C1q nei meccanismi di rimozione dei detriti derivanti dall'apoptosi cellulare e suggerendo come l'esposizione di autoantigeni durante questo processo possa giocare un ruolo importante nello sviluppo dell'autoimmunità (37, 38).

Rari sono i casi di carenza congenita di C1q mentre molto più frequente è il riscontro di anticorpi anti-C1q. Questi anticorpi sono stati riportati in numerose malattie: connettiviti, vasculite reumatoide, sindrome di Sjögren e poliarterite nodosa (39).

Marto et al. (40) hanno ricercato gli anticorpi anti-C1q nel siero di un gruppo di pazienti affetti da LES. Dallo studio è emersa l'associazione tra anti-C1q e interessamento renale, suggerendo come il riscontro di questi anticorpi permetta di identificare un sottogruppo di pazienti a rischio di sviluppare la glomerulonefrite.

Alle stesse conclusioni è giunto un altro studio pubblicato nel 2006, dove Bijl et al. (41) mostravano come la riduzione della rimozione dei corpi apoptotici nei pazienti affetti da LES non fosse legata ad un difetto intrinseco dei macrofagi, ma dipendesse da un deficit del complemento (C1q, C3 e C4).

Altri studi hanno confermato che gli anticorpi anti-C1q sono presenti in una alta percentuale di pazienti affetti da LES e che la concentrazione nel siero correla con l'attività di malattia e con la riacutizzazione della glomerulonefrite.

Considerazioni conclusive

La possibilità di diagnosticare precocemente il LES, le sue riacutizzazioni o l'impegno d'organo,

in particolare la glomerulonefrite e le manifestazioni neuropsichiatriche, attraverso il dosaggio di semplici biomarkers, potrebbe essere molto utile nei pazienti affetti da LES e potrebbe consentire un intervento terapeutico tempestivo migliorando la prognosi a lungo termine e la qualità di vita.

BIBLIOGRAFIA

- Doria A, Iaccarino L, Ghirardello A, et al. Long-term prognosis and causes of death in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 2006; 119: 1497-9.
- Bano S, Bombardieri S, Doria A, et al. Lupus erythematosus and the skin. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: S26-S35.
- Doria A, Vesco P, Zulian F, Gambari PF. The 1982 ARA/ACR criteria for classification of systemic lupus erythematosus in pediatric age. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 689-90.
- Ghirardello A, Bendo R, Rampudda ME, Bassi N, Zampieri S, Doria A. Commercial blot assays in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Autoimmun Rev.* 2009 Feb 11. [Epub ahead of print].
- Villata D, Romelli PB, Savina C, et al. Anti-dsDNA antibody avidity determination by simple reliable ELISA method for SLE diagnosis and monitoring. *Lupus* 2003; 12: 31-36.
- Zampieri S, Ghirardello A, Doria A, et al. The use of Tween 20 in immunoblotting assays for the detection of autoantibodies in connective tissue diseases. *J Immunol Methods* 2000; 239: 1-11.
- Ghirardello A, Doria A, Vesco P, et al. Blotting patterns of IgG anti-(U1)RNP antibodies in mixed connective tissue disease. *Rheumatol Int* 1996; 16: 145-50.
- Bizzaro N, Ghirardello A, Zampieri S, et al. Anti-prothrombin antibodies predict thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus: a 15-year longitudinal study. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1158-64.
- Ghirardello A, Doria A, Ruffatti A, et al. Antiphospholipid antibodies (aPL) in systemic lupus erythematosus (SLE). Are they specific tools for the diagnosis of aPL syndrome in SLE? *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 140-2.
- Doria A, Mosca M, Gambari PF, Bombardieri S. Defining unclassifiable connective tissue diseases: incomplete, undifferentiated or both? *J Rheumatol* 2005; 32: 213-5.
- Doria A, Ghirardello A, de Zambiasi P, Ruffatti A, Gambari PF. Japanese diagnostic criteria for mixed connective tissue disease in Caucasian patients. *J Rheumatol* 1992; 19: 259-64.
- Briani C, Doria A, Sarzi-Puttini P, Dalakas MC. Update on idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity.* 2006; 39: 161-70.
- Doria A, Sarzi-Puttini P, Shoenfeld Y. Infections, rheumatism and autoimmunity: the conflicting relationship between humans and their environment. *Autoimmun Rev* 2008; 8:1-4.
- Doria A, Zampieri S, Sarzi-Puttini P. Exploring the complex relationships between infections and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 89-91.
- Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Iaccarino L, Doria A. Environment and systemic lupus erythematosus: an overview. *Autoimmunity* 2005; 38: 465-72.
- Doria A, Canova M, Tonon M, et al. Infections as triggers and complications of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2008; 8: 24-8.
- Doria A, Shoenfeld Y, Wu R, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in a prospective cohort of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1071-77.
- Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation* 2005; 112: 3337-47.
- Doria A, Shoenfeld Y, Pautetto P. Premature coronary disease in systemic lupus. *N Eng J Med* 2004; 350(15): 1571-5.
- Doria A, Sherer Y, Meroni PL, Shoenfeld Y. Inflammation and accelerated atherosclerosis – basic mechanisms. *Rheum Dis Clin N Am* 2005; 31: 329-54.
- Rinaldi S, Doria A, Salaffi F, et al. Health-related quality of life in Italian patients with systemic lupus erythematosus. I. Relationship between physical and mental dimension and impact of age. *Rheumatology* 2004; 43: 1574-9.
- Doria A, Rinaldi S, Ermani M, et al. Health-related quality of life in Italian patients with systemic lupus erythematosus. II. Role of clinical, immunological, and psychological determinants. *Rheumatology* 2004; 43: 1580-6.
- Rinaldi S, Ghisi M, Iaccarino L, et al. Influence of coping skills on health-related quality of life in SLE patients. *Arthritis Rheum* 2006; 55: 427-33.
- Doria A, Briani C. Primary prevention of systemic lupus erythematosus. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008; 4: 576-7.
- Doria A, Briani C. Lupus: improving long-term prognosis. *Lupus* 2008; 17: 166-70.
- Doria A, Arienti S, Rampudda M, Canova M, Tonon M, Sarzi-Puttini P. Preventive strategies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2008; 7: 192-7.
- Ghirardello A, Doria A, Villalta D, Zampieri S, Tozzoli R, Gambari PF. Gli anticorpi antinucleosomi: nuovo marker sierologico di lupus eritematoso sistemico. *Reumatismo* 2000; 52: 242-8.
- Ghirardello A, Doria A, Zampieri S, et al. Antinucleosome antibodies in SLE: a two-year follow-up study of 101 patients. *J Autoimmunity* 2004; 22: 235-40.
- Ghirardello A, Doria A, Zampieri S, Gambari PF, Todesco S. Autoantibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. *Isr Med Assoc J* 2001; 3: 854-7.
- Zampieri S, Degen W, Ghirardello A, Doria A, van Venrooij WJ. Dephosphorylation of autoantigenic ribosomal P proteins during Fas-L induced apoptosis: a possible trigger for the development of the autoimmune response in SLE patients. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 72-6.

31. Ghirardello A, Doria A, Zampieri S, Gerli R, Rapizzi E, Gambari PF. Anti-ribosomal P protein antibodies detected by immunoblotting in patients with connective tissue diseases: their specificity for SLE and association with the IgG anticardiolipin antibodies. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 975-81.
32. Briani C, Lucchetta M, Ghirardello A, et al. Neurolupus is associated with anti-ribosomal P protein antibodies: An inception cohort study. *J Autoimmun* 2009; 32: 79-84.
33. Ghirardello A, Caponi L, Franceschini F, Zampieri S, Gambari PF, Doria A. Diagnostic tests for antiribosomal P protein antibodies: a comparative evaluation of immunoblotting and ELISA assays. *J Autoimmun* 2002; 19: 71-7.
34. Karassa FB., Afeltra A, Ambrozic A, et al. Accuracy of Anti-Ribosomal P Protein Antibody Testing for Diagnosis of Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus: An International Meta-Analysis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 312-24.
35. Lu JH, Teh BK, Wang L, et al. The classical and regulatory functions of C1q in immunity and autoimmunity. *Cell Mol Immunol* 2008; 5: 9-21.
36. Botto M, Kirschfink M, Macor P, Pickering MC, Würzner R, Tedesco F. Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies. *Mol Immunol* 2009; 46: 2774-83.
37. Bigler C, Schaller M, Perahud I, Osthoff M, Trendelenburg M. Autoantibodies against complement C1q specifically target C1q bound on early apoptotic cells. *J Immunol.* 2009; 183: 3512-21.
38. Vidalino L, Doria A, Quarta S, Zen M, Gatta A, Pontisso P. SERPINB3, apoptosis and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2009 Mar 27. [Epub ahead of print].
39. Shoenfeld Y, Szyper-Kravitz M, Witte T, Doria A, et al. Autoantibodies against protective molecules-C1q, C-reactive protein, serum amyloid P, mannose-binding lectin, and apolipoprotein A1: prevalence in systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1108: 227-39.
40. Marto N, Bertolaccini ML, Calabuig E, Hughes GR, Khamashta MA. Anti-C1q antibodies in nephritis: correlation between titres and renal disease activity and positive predictive value in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64: 444-8.
41. Bijl M, Reefman E, Horst G, Limburg PC, Kallenberg CG. Reduced uptake of apoptotic cells by macrophages in systemic lupus erythematosus: correlates with decreased serum levels of complement. *Ann Rheum Dis.* 2006; 65: 57-63.

MALATTIA RESIDUA: TRA ATTIVITÀ E DANNO

Moderatori: S. Bombardieri (Pisa), F. Trotta (Ferrara)

- Artrite reumatoide: malattia residua tra attività e danno
G. Ferraccioli (Roma)
- Lupus eritematoso sistemico
G. Valesini (Roma)
- Sclerosi sistemica. Malattia residua: fra attività e danno
G. Valentini (Napoli)
- Polymyositis
N. Pipitone (Reggio Emilia)

ARTRITE REUMATOIDE: MALATTIA RESIDUA TRA ATTIVITÀ E DANNO

G.F. FERRACCIOLI, A. MICHELUTTI, D. PIETRAPERTOSA, M.C. PAPALIA, E. GREMESE

Divisione di Reumatologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

INTRODUZIONE

In ogni patologia acuta l'obiettivo clinico-terapeutico è quello di spegnere la malattia al punto da non consentire danno d'organo o tessuto, ed evitare la comparsa di relapses che porterebbero inevitabilmente a danno d'organo o tessuto.

È il concetto della risposta completa (CR) che in Emato-Oncologia è stato definito sempre più nel corso degli anni. Nei casi in cui non veniva raggiunta la CR, si poneva un obiettivo secondario prioritario: l'introduzione del concetto di malattia minima residua (minimal residual disease-MRD) che richiamava l'attenzione sul fatto che la persistenza di una MRD, seppure con malattia non conclamata, determinava una più elevata frequenza di relapse della malattia neoplastica ed una sopravvivenza peggiore (1).

Più complesso è il problema nelle malattie croniche, nelle quali dimostrare un outcome peggiore, sia in termini di danno persistente che di futuro danno aggravato diventa più complesso per la necessità di lunghi follow-up e di stretti criteri di definizione del relapse.

Negli anni più recenti però anche in alcune delle malattie linfoproliferative croniche è emersa chiara la necessità di puntare alla eradicazione completa della malattia, o come obiettivo alternativo ad uno stato di MRD (2).

MALATTIA MINIMA RESIDUA IN REUMATOLOGIA

Anche in Reumatologia si è affermato nel corso degli ultimi anni il concetto della minimal disease activity nell'ambito dell'artrite reumatoide (RA). In particolare i partecipanti ad Omeract 6, nel 2002, aderivano all'idea di lanciare il concetto di minima attività di malattia (MDA: minimal disease activity) nell'AR come "quello stato di attività di malattia giudicato un target utile di trattamento sia dal

paziente che dal medico, date le possibilità ed i limiti terapeutici attuali". Per definire lo stato di MDA, venivano selezionati due possibili definizioni sulla base della opinione degli esperti, riuniti ad Omeract 7 nel 2004, e sulla base di una discussione di casi clinici, una basata sul DAS 28 (DAS28 <2.85) ed una basata sul soddisfacimento di 5 su 7 items selezionati: Dolore ≤ 2 (scala 0-10); SJC (Swollen joint count) ≤ 1 (su 28 articolazioni esaminate); TJC (tender joint count) ≤ 1 (su 28 articolazioni); HAQ (health assessment questionnaire: scala 0-3) ≤ 0.5 ; PGA (physician global assessment-scala 0-10) ≤ 2 ; PaGA (patient global assessment-scala 0-10) ≤ 2 ; ESR (velocità di sedimentazione - 0-100 mm/1^a ora) ≤ 20 (3).

Definito il concetto e definito lo score si trattava di documentare qual'era il risultato dell'intervento terapeutico nella popolazione AR e chiarire se questo outcome della MDA, fosse un goal possibile ed in che percentuale, come si posizionasse in rapporto agli score di remissione, e da ultimo quale fosse il potere predittivo di aggravamento e progressione di chi raggiungeva una MDA e di chi no la raggiungeva. Da ultimo bisognava rispondere al quesito se questo score MDA rappresenti o rappresentasse il vero importante outcome del paziente.

Due studi importanti su coorti rilevanti hanno dato risposta alla percentuale di pazienti portati ad MDA. Il primo studio riguarda una coorte di 200 pazienti con early arthritis (ERA), con una mediana di durata di malattia di 5.2 mesi, con un DAS28 basale di 5.48, un HAQ basale di 1.2, trattati con Methotrexate (MTX) (od altri DMARDs) in monoterapia nella maggioranza di casi, con MTX in combinazione nel 28% dei casi, con una triplice combinazione nel 5% dei casi, e la valutazione clinica sulla remissione o la MDA raggiunta posta al 6°, 12° (e 24° mese) di follow-up. Al 12° mese 142 pazienti erano valutabili e su questi la percentuale di remissione DAS risultava del 24%, mentre la MDA secondo DAS-MDA (<2.85) risultava del

27%, quella CDAI-MDA (clinical disease activity index ≤ 10) del 32% e quella Omeract 5/7 del 2%. Dunque la percentuale di pazienti in remissione DAS, in MDA-DAS ed MDA-Omeract nella ERA oggetto di studio, e strettamente legata al mondo reale, risultava molto simile ed attorno al 30%. Confrontando la progressione dello score erosivo secondo Sharp, ed il valore HAQ al 12° mese, il risultato clinicamente di grande rilievo era che il valore HAQ era statisticamente nettamente peggiorativo in chi non raggiungeva MDA rispetto al chi raggiungeva MDA, e che lo Sharp score era statisticamente molto peggiorato in chi non raggiungeva la MDA-DAS (< 2.85) rispetto a chi raggiungeva la MDA-DAS (7.63 vs 4.25, $p=0.05$), CDAI-MDA si comportava nello stesso modo della MDA-DAS(4).

La conclusione di questo studio su pazienti ERA nel mondo reale è che raggiungere la MDA con terapie convenzionali è un goal raggiungibile in oltre un terzo dei pazienti e che raggiungere la MDA significa migliorare sensibilmente la capacità funzionale e rallentare in modo rilevante la progressione del danno strutturale.

Il secondo studio invece riguarda una coorte molto ampia di pazienti, refrattari a terapia con DMARDs e posti in terapia anti-TNF α con Adalimumab in quanto clinicamente attivi. Si tratta dello studio ReACT che ha raccolto dati longitudinali su 6610 pazienti, con AR di lunga durata (11 anni), con DAS 28 basale elevato (media 6), con alto HAQ (media 1.64), seguiti per un periodo osservazionale di 12 settimane dopo associazione di Adalimumab a MTX. Alla 12ª settimana di follow-up la percentuale di pazienti portati alla remissione è stata del 38% con DAS28, e la percentuale di pazienti portati alla MDA è stata rispettivamente del 45% per DAS-MDA e del 43% con MDA-core set Omeract. In questo studio era possibile studiare anche i possibili predittori di risposta DAS remissione e MDA, che risultavano essere basso valore basale di DAS e di HAQ, sesso maschile e giovane età (5).

MALATTIA MINIMA RESIDUA E DANNO EROSIIVO

Per avere seppure indirettamente un confronto con le terapie immuno-biologiche, nello studio *Aspire* nel quale venivano confrontati due regimi terapeutici MTX+placebo versus MTX+Infliximab in pazienti con ERA (durata malattia 0.9 anni; HAQ

basale 1.5), si osservava una remissione DAS con MTX+placebo del 15% e del 21.2% con MTX + Infliximab 3 mg/kg) con una progressione dello score Sharp-Van der Heijde di 3.7 con MTX+placebo versus 0.4 con MTX + Infliximab 3 mg/kg (6). Nello studio COMET in pazienti ERA (durata malattia 9 mesi, HAQ basale 1.6, DAS 28 basale 6.5) dopo 12 mesi di terapia (MTX+ placebo vs MTX+ Etanercept), la remissione veniva raggiunta nel 28% dei pazienti trattati con MTX+placebo vs 50% dei pazienti trattati con MTX+Etanercept, ma estremamente importante risultava il dato che si osservava una non-progressione del danno radiologico nel 59% dei pazienti trattati con MTX, ma nell'80% dei pazienti in terapia biologica. Di interesse il fatto che la low disease activity (LDA-DAS < 3.2) veniva ottenuta nel 41% dei pazienti in MTX+placebo verso 64% dei pazienti in MTX+ Etanercept (7).

Questo a sostegno indirettamente del fatto che esiste una possibilità di rallentare la progressione della malattia che quando si usino terapie convenzionali impone il raggiungimento della remissione DAS o della MDA, ma che può anche essere di LDA nel caso in cui si faccia uso di terapie immuno-biologiche.

Noi abbiamo affrontato il tema della attività minima residua da due punti di vista:

- 1) verifica dei criteri di minima necessari per definire la MDA;
- 2) verifica della effettiva remissione clinica e strumentale quando si raggiunga MDA.

Nel primo studio abbiamo esaminato oltre 400 pazienti divisi in tre coorti, una coorte di 214 pazienti, con AR di lunga durata esploratoria e 2 coorti successive, una di AR early di 95 pazienti ed una di 112 pazienti AR longstanding, confermatorie. Un'analisi fattoriale, l'utilizzo di curve ROC, poi l'uso di una analisi kappa pesata lineare secondo Cohen, ci hanno consentito di raggiungere una definizione molto semplificata di MDA, da noi ridefinita RMDA (residual minimal disease activity), che si può definire tale quando siano soddisfatti 3 dei seguenti 4 criteri: ESR < 20 mm/hour, PAGA ≤ 1.5 [0-10], SJC ≤ 2 [out of 28 joints] and HAQ ≤ 0.5 [range 0-3]. La concordanza con DAS-MDA e CDAI-MDA risulta buona (AR long standing) o moderata (ERA) (8).

Il dato significativo dal punto di vista clinico è suffragato ulteriormente dalla osservazione che trasferendo la remissione clinica alla remissione strutturale si è osservata una concordanza molto significativa tra RMDA e remissione eco-doppler. Dun-

que è possibile molto semplicemente individuare i pazienti che non hanno attività di malattia residua, che non progrediscono dal punto di vista strutturale e che saranno in remissione US-Doppler. Questo fornisce delle linee guida molto semplici per l'attività clinica quotidiana del reumatologo.

L'analisi delle coorti ha altresì consentito di documentare che il 66.7% dei pazienti ERA in remissione ACR vs il 26.1% ($p=0.0001$) dei pazienti AR long standing sempre in remissione ACR, erano anche in remissione eco-doppler, a dimostrazione che neppure lo stringente criterio ACR consente di individuare i pazienti in persistente remissione Eco-Doppler ma che la remissione ACR nell'ERA identifica i 2/3 dei pazienti in remissione US. Un altro dato di grande interesse è che nella coorte ERA, gli elevati livelli basali di anti-CCP2 sono risultati insieme con l'età dei pazienti gli unici predittori di futura remissione.

Questo è un dato biologico che è stato di recente analizzato e confermato su tre coorti di differente background (giapponese, scandinava ed americana) (9).

CONCLUSIONI

In conclusione la RMDA sembra essere il target oggettivamente più utile per definire un controllo clinico adeguato, un livello di malattia residua che non fa progredire il danno strutturale, l'obiettivo reale della terapia che può essere tarata nel mondo reale, e che consente un elevatissimo livello di remissione funzionale.

BIBLIOGRAFIA

1. Brüggemann M, Pott C, Ritgen M, Kneba M. Significance of minimal residual disease in lymphoid malignancies. *Acta Haematol.* 2004; 112: 111-9.
2. Montserrat E. Further progress in CLL therapy. *Blood.* 2008; 112: 924-5.
3. Wells GA, Boers M, Shea B, Brooks PM, et al. Minimal disease activity for rheumatoid arthritis: a preliminary definition. *J Rheumatol.* 2005; 32: 2016-22.
4. Khanna D, Oh M, Furst DE, et al. Evaluation of the preliminary definitions of minimal disease activity and remission in an early seropositive rheumatoid arthritis cohort. *Arthritis Rheum.* 2007; 57: 440-7.
5. Burmester GR, Ferraccioli G, Flipo RM, Monteagudo-Sáez I, Unnebrink K, Kary S, Kupper H. Clinical remission and/or minimal disease activity in patients receiving adalimumab treatment in a multinational, open-label, twelve-week study. *Arthritis Rheum.* 2008; 59: 32-41.
6. St Clair EW, van der Heijde DM, Smolen JS, et al. Combination of infliximab and methotrexate therapy for early rheumatoid arthritis: a randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2004; 50: 3432-43.
7. Emery P, Breedveld FC, Hall S, et al. Comparison of methotrexate monotherapy with a combination of methotrexate and etanercept in active, early, moderate to severe rheumatoid arthritis (COMET): a randomised, double-blind, parallel treatment trial. *Lancet.* 2008; 372: 375-82.
8. Pietrapertosa D, Salaffi F, Peluso G, et al. Residual Minimal disease Activity (RMDA) in rheumatoid arthritis: a simple definition through an in depth statistical analysis of the major outcome. *Rheumatology* 2009 accepted.
9. Hueber W, Tomooka BH, Batliwalla F, et al. Blood autoantibody and cytokine profiles predict response to anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2009 May 21; 11 (3): R76.

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

G. VALESINI

Reumatologia, Università La Sapienza, Roma

Testo non pervenuto

LA SCLEROSI SISTEMICA. MALATTIA RESIDUA: FRA ATTIVITÀ E DANNO

G. VALENTINI, G. ABIGNANO, G. CUOMO

Unità di Reumatologia, Seconda Università di Napoli

INTRODUZIONE

La Sclerosi Sistemica (SSc) è una malattia autoimmunitaria sistemica reumatica caratterizzata da 3 ordini di processi morfologici:

- vasculopatia obliterativa dei vasi del microcircolo ed ostruttiva delle piccole arterie;
- accumulo nell'interstizio di collagene e di altri costituenti della matrice;
- infiltrazione linfocitaria perivascolare, evidente nelle prime fasi della malattia e caratterizzata da un'espansione oligoclonale T linfocitaria, espressione di una risposta autoimmune promossa da uno o più autoantigeni tissutali ancora non identificati (1).

La definizione delle manifestazioni cliniche espressione di attività di malattia e la separazione di esse da quelle indicative di danno costituiscono un esercizio difficile nella SSc rispetto ad altre malattie autoimmunitarie sistemiche reumatiche quali l'artrite reumatoide ed il lupus eritematoso sistemico (2). Ciò dipende in parte dal decorso lentamente evolutivo proprio della maggior parte dei pazienti di SSc a sclerosi cutanea limitata (lcSSc), in parte dalle caratteristiche morfologiche tipiche della malattia (i.e. la fibrosi interstiziale e la vasculopatia), che sono la conseguenza dell'attivazione linfomonocitaria, fibroblastica, endoteliale e piastrinica e, quindi, portato dell'attività nella fase di realizzazione delle lesioni, ma, una volta stabilizzate, sono la causa dell'atrofia dei parenchimi e del sistema vascolare fisso che sottendono il danno (2).

Queste realtà rendono conto delle difficoltà incontrate nella definizione e nella validazione di criteri di attività di malattia (3) e nella mancanza, a tutt'oggi, di criteri di danno, essendo solo disponibili score non pesati di severità (4) i.e. di parametri prognostici che riflettono la sommatoria dell'attività (quota parte reversibile del processo morboso) e del danno (quota parte irreversibile) e, pertanto, nel singolo paziente potrebbe-

ro essere in teoria espressione o solo dell'una o solo dell'altro.

Al di là delle difficoltà sopra elencate, sul piano concettuale, è possibile identificare processi fisiopatologici che riflettono precipuamente l'uno o l'altro aspetto (Tab. I).

Cionondimeno, la coesistenza, nello stesso paziente, così come appare evidente nel decorso dell'interstiziopatia polmonare di fibrosi e di alveolite, chiarisce le motivazioni alla base della individuazione di criteri di severità e non di danno nella SSc. Infatti, ciò che appare facilmente comprensibile per la interstiziopatia polmonare, si realizza per tutti i processi morfologici espressione della malattia fatta eccezione per gli infiltrati mononucleari che riflettono la sola attività e che sono confinati alle fasi iniziali.

La necessità di identificare la quota parte di malattia residua da ascrivere ad attività da quella dipendente da danno, ancorché fondamentale sul piano delle scelte terapeutiche, si scontra con difficoltà notevoli nel paziente di lcSSc, il cui decorso, così come già accennato, è lentamente evolutivo, ma presenta alcuni ostacoli anche nel paziente di SSc a sclerosi cutanea diffusa (dcSSc), che nei primi 3 anni, per effetto di farmaci, presenti un miglioramento di una o entrambe le misure di outcome validate per la SSc nel suo complesso i.e. il modified Rodnan skin score (mRss) e l'Health Assessment Questionnaire-Disability Index (HAQ-DI) (5). Sono, infatti, disponibili, per questi pazienti, criteri di

Tabella I - Processi fisiopatologici espressione di attività e rispettivamente di danno nella SSc.

Attività	Danno
Vasocostrizione reversibile	Difetto vascolare fisso
Deposizione di fibrina	Aree avascolari
Neosintesi di collagene	Atrofia
Alveolite	Fibrosi interstiziale
Artrite	Contratture articolari
Versamenti sierositici	Fibrosi delle sierose

Tabella II - Modifiche clinicamente significative nella SSc*.

Parametro	Variazione
- mRss	>30% del valore basale
- Capacità vitale forzata	>15% del valore basale
- Capacità di diffusione del CO	>15% del valore basale
- Frazione di eiezione del ventricolo sinistro	> 10% del valore basale
- Creatininemia	>70% del valore basale
- Pressione arteriosa	>20 mm Hg sistolica; >10 mmHg diastolica in 2 momenti separati

*da Furst et al. (6).

risposta alla terapia, ma il soddisfacimento di essi (Tab. II), così come avviene per i criteri ACR 20-50-70 dell'artrite reumatoide, non comporta l'abbandono dell'attività di malattia.

La distinzione fra danno ed attività appare concettualmente possibile, così come avviene nelle altre malattie autoimmuni sistemiche reumatiche, in pazienti che siano in remissione i.e. in una condizione in cui i processi di immunoflogosi, di deposizione di costituenti della matrice e di rimodellamento della parete vasale sono bloccati e le manifestazioni cliniche sono il solo frutto di ciò che è avvenuto precedentemente.

Non esistono al momento criteri validati di remissione della SSc. Alcuni anni or sono fu fatto un tentativo in tal senso (7), finora presentato solo in sede congressuale.

In accordo a tale proposta, i criteri elencati in Tabella III dovrebbero essere tutti soddisfatti consecutivamente in pazienti di SSc qualsivoglia sia il subset e la terapia in atto, per almeno un anno, periodo così lungo rispetto a quello prospettato per altre malattie, per il più volte citato lento decorso della maggior parte dei casi.

L'analisi preliminare della coorte seguita presso l'Unità Operativa della Seconda Università di Napoli, per ora, limitata ai pazienti con dcSSc in fase precoce (durata di malattia <3 anni) ha messo in luce che in tutti i pazienti responsivi al trattamento, compresi quelli che soddisfano i criteri elencati nella Tabella III, permane una quota di deficit funzionale da danno.

Queste evidenze inducono ad indirizzare la ricerca non solo sulla terapia dei casi "ensitive to change" quali sono i pazienti di dcSSc in fase precoce, ma anche su pazienti con decorso tipicamente indolente, tenendo presente che in tali casi la dimostrazione dell'efficacia di qualsivoglia strategia te-

Tabella III - Criteri di remissione nella SSc.

Tentativo
- Assenza di riduzione significativa (i.e. >5%) del peso corporeo
- Assenza di ispessimento della cute (può essere presente aderenza della cute atrofica ai piani sottostanti)
- Assenza di ulcere ischemiche (possono essere presenti cicatrici)
- Assenza di nuove contratture articolari
- Non deterioramento(i.e. >10% decrease) o miglioramento di FVC-DLCO
- Non aumento della pressione arteriosa polmonare e stabilità della funzione ventricolare dx
- Non diminuzione (i.e. >5%) della frazione di eiezione del ventricolo sinistro
- Non variazioni dei parametric di funzione diastolica dx e sx
- Non riduzione della clearance della creatinina
- Non incremento (i.e. >0.14 Units) dell'HAQ-DI
- Assenza di nuovi segni o sintomo di impegno esofago-gastrointestinale, polmonare, cardiaco, renale, articolare, muscolare da malattia
- Normalità degli indici di flogosi e dei parametric di attivazione linfocitaria, endoteliale, piastrinica e fibroblastica

rapeutica non può che fondarsi su misure di outcome, quali la morte e/o lo sviluppo di disabilità, la cui realizzazione richiede lunghi periodi di osservazione, che sono raggiungibili solo con registri multicentrici.

BIBLIOGRAFIA

1. Seibold J. Scleroderma. In: Harris ED, et al., eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 8th edition. Philadelphia. Elsevier-Saunders 2008: 1311-44.
2. Valentini G. The assessment of the patient with systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2003; 2: 370-6.
3. Valentini G, Silman AJ, Veale D. Assessment of disease activity. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21 (Suppl 29): s39-s41.
4. Medsger TA Jr, Bombardieri S, Czirjak L0, et al. Assessment of disease severity and prognosis. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21 (Suppl 29): s42-s46.
5. Valentini G, Matucci Cerinic M. Disease-specific quality indicators, guidelines and outcome measures. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25 (Suppl 47): s159-s162.
6. Furst DE, Clements PJ, Seibold JR. Treatment of systemic sclerosis by potentially disease modifying drugs. In: Clements PJ, Furst DE, eds. *Systemic sclerosis*. Second Edition. Lippincott William and Wilkins, Philadelphia, 2004: 351-61
7. Valentini G, Matucci Cerinic M, Furst D. Criteria for remission in Systemic Sclerosis: a proposal. Non pubblicato.

POLYMYOSITIS

N. PIPITONE, C. SALVARANI

Unità Operativa di Reumatologia, Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia

INTRODUCTION

Polymyositis (PM) is a chronic inflammatory muscle disease characterized by proximal symmetrical muscle weakness, raised serum muscle enzymes, myopathic changes on electromyography (EMG), and lymphocyte endomysial infiltration leading to muscle damage. The mechanisms causing muscle weakness in PM are only incompletely understood, but both inflammation *per se* and inflammation-induced muscle damage are thought to play a role (1). Muscle damage in myositis has been defined as changes that persist for at least six months despite therapy (2). Discriminating muscle weakness due to active inflammation from that due to chronic muscle damage is a crucial part of the assessment of PM, since active inflammation requires aggressive treatment, whereas chronic muscle damage is best managed by physiotherapy. However, distinguishing active disease from chronic damage is often challenging, since persistent muscle weakness may be due to chronic damage, but also to grumbling inflammation only partially controlled by drug therapy, to glucocorticoid-induced myopathy, to deconditioning, or to a combination of the above. Herein, we reviewed the current approaches to evaluate muscle disease activity and chronic damage in patients with PM. We also discuss how to best tease out disease activity from established damage using the tools available at the present.

OUTCOME MEASURES IN MYOSITIS

Measurement of serum muscle enzymes

Muscle enzymes are released in active PM by damaged muscles into the circulation. Measurement of these enzymes, particularly of creatine kinase (CK), which is considered the most specific enzyme for muscle disease, is an established part of the assessment of PM (3). CK is often raised in active PM, but CK levels do not correlate too well

with other parameters of disease activity including muscle strength and histology. CK levels may even be normal in patients with long-standing active PM characterized by widespread muscle hypotrophy, since serum CK is physiologically related to muscle mass. On the other hand, CK levels may remain persistently (usually slightly to moderately) elevated in some patients with inactive PM, perhaps reflecting chronic muscle damage (4-6).

Measurement of CK levels before and after treatment onset is useful to gauge response to therapy. Data from clinical trials suggest that a drop in CK levels of at least 30% (7), especially if associated with an improvement in other parameters of disease activity, may be considered clinically meaningful. An improvement of at least this order of magnitude following therapy would thus be in keeping with active myositis responding to treatment.

Electromyography

Needle EMG is useful in diagnosing muscle disease because of its high sensitivity. In active myositis, EMG usually shows increased spontaneous activity with fibrillations, complex repetitive discharges, positive sharp waves, and small polyphasic motor unit potentials. Theoretically, the presence of spontaneous activity might help to distinguish active from inactive disease. However, according to published data as well as in our experience these signs may be subtle or absent (5, 8). Furthermore, EMG may cause significant discomfort to patients. Therefore, EMG is not ordinarily used to assess disease activity in clinical practice, and is not a standard outcome measure in clinical trials.

Muscle biopsy

Histology is the gold standard for the diagnosis of PM because of its very high specificity and good sensitivity. However, muscle biopsy is not an ideal method to assess disease activity because of its invasive nature. In addition, because in PM the in-

flammatory infiltrate is focal, false negative results may occur.

Manual muscle testing

Assessment of muscle strength by manual muscle test (MMT) is the main outcome measure in the vast majority of clinical trials on myositis. MMT is mostly scored using the extended scale of the Medical Research Council (MRC) ranging from 0 (complete absence of muscle activity) to 5 (normal muscle strength) (9) or the (roughly equivalent) Kendall 10-point scale (10). Changes in muscle strength as detected by MMT are considered clinically significant if they are in the order of at least 15% (7) MMT has an excellent inter-observer reliability with an intraclass correlation coefficient of ~0.80 (N.P., unpublished data). MMT has also a good discriminant validity, with data from clinical trials showing a mean 6%-25% improvement in MMT proximal muscle scores with active treatment, but not with placebo (7)

Per se, MMT is not able to discriminate between active and inactive disease. However, sequential changes over time can be used to monitor disease activity (11). A minimum 15% improvement is regarded as clinically meaningful (7). An improvement of at least this order of magnitude following therapy would thus be in keeping with active myositis responding to treatment. Similarly, a decreased score of the same magnitude may be construed as a disease flare.

Imaging procedures

MRI, usually focused on the proximal lower limb muscles, is probably the best imaging procedure to assess myositis activity and to discriminate between disease activity and established damage. In active PM, T2-weighted and fat-suppressed (short tau inversion recovery, STIR) images can show muscle edema, which is thought to reflect active inflammation. Gadolinium enhancement provides no additional information (11). Fat-suppressed sequences are preferable to T2-weighted images because hyperintensity on T2 MR images can represent not only edema, but also fat tissue. However, even on fat-suppressed sequences a high MRI signal is not specific for inflammation, since it can also be seen in non-inflammatory conditions such as rhabdomyolysis and subacute denervation (12). Conversely, patients with active disease by clinical and histological parameters may have a normal MR muscle signal.

In chronic PM, T1-weighted images are useful to

document the presence and the extent of muscle atrophy and fatty infiltration (13), which are quite specific for chronic muscle damage. Both muscle atrophy and fatty infiltration may coexist with signs of active inflammation. There is insufficient data on muscle MR appearance in steroid myopathy.

In conclusion, MRI is theoretically indicated to document disease activity, to differentiate disease activity from chronic damage, and to monitor response to therapy, although its use remains to be properly validated in adequately powered prospective studies (8, 14, 15). Discrepancies between MRI assessment of disease activity and assessment by other tools including muscle enzymes and histological findings have been reported (16).

Ultrasonography (US) has been proposed as an additional tool to investigate muscle disease. US is easily available, relatively cheap, and safe. However, compared to MRI, US is more operator-dependent and is unable to visualize deep muscle layers. Grey-scale US may show increased echo intensity in affected muscles from myositis patients, reflecting muscle damage and replacement by fat and fibrous tissue. On the other hand, contrast-enhanced US may reveal increased blood perfusion (a surrogate measure for inflammation-related hyperemia) in actively involved muscles (17). In a pilot study from our group, contrast-enhanced US signal of the quadriceps muscles from myositis patients decreased after treatment onset, but showed no significant correlation to MRI edema in the same muscles (18). So far, US has not gained acceptance as a tool for the assessment of myositis, probably owing to its insufficient standardization.

Measures of physical function

The Childhood Health Assessment Questionnaire (HAQ) has been validated for juvenile dermatomyositis (18). Correlation with proximal muscle strength and sensitivity to change make the childhood HAQ a useful adjunctive assessment tool of disease activity. In contrast, in adult myositis patients the evidence of validity of the HAQ is more limited. The HAQ may be able to measure cumulative functional abnormalities and be sensitive to change following treatment, but a formal validation is still lacking (2). Other functional assessment tools have been proposed, but not yet gone beyond the stage of experimental use.

Core set measures for disease assessment

There is only a limited correlation between different methods to assess myositis, probably because

each tool captures different facets of the same disease. This hampers the capacity of the physicians to correctly gauge the clinical course of myositis and to reliably discriminate between established muscle damage and ongoing disease activity. In an attempt to obviate these shortcomings, a consensus conference of the International Myositis Assessment and Clinical Studies Group (IMACS) has proposed a core set of disease activity measures consisting of five domains: physician and patient global assessments of disease activity; muscle strength; physical function; serum muscle enzymes; and an assessment tool to capture extraskeletal muscle disease activity (2). The committee of the consensus conference has also proposed as possible candidates for a core set of measures to assess damage in myositis (defined as changes that persist for at least six months despite prior therapy) the following tools: physician global damage assessment, the use of the HAQ, an assessment of the severity of damage of different organ systems using visual analog scales, and a modification of the Systemic Lupus International Collaborative Clinics - American College of Rheumatology damage index. Finally, the IMACS has published consensus guidelines for defining disease improvement and worsening (19). In particular, improvement has been defined as an at least 20% improvement in three of any six core set measures (physician' global activity assessment, patient's global activity assessment, muscle strength, physical function, muscle-associated enzymes, and extramuscular activity assessment), with no more than two worsening by 25% or more (measures that worsen cannot include manual muscle strength) (7). Criteria for disease worsening include a 20% or more worsening of the patient's global condition as assessed by a physician, a 20% or more worsening of global extramuscular organ disease activity, and worsening of 30% or more of any three of six IMACS core set activity measure. The IMACS has recommended that these criteria be used in future trials of adult and juvenile dermatomyositis and PM.

CONCLUSIONS AND SUGGESTIONS FOR THE CLINICAL PRACTICE

Different parameters may be used to assess outcome in myositis, with assessment of muscle strength being the key tool. As shown herein, these parameters appear to only partially correlate with each other, which means that to best monitor dis-

ease activity a combination of various parameters should preferentially be used. Even so, sometimes it is difficult to determine whether persistent weakness is due to chronic damage or to active inflammation. Improvement in MMT scores in proximal muscles, especially if associated with improvement in serum CK levels and decreased edema on muscle MRI, would point to active disease responding to treatment. Persistent proximal muscle weakness despite therapy, on the other hand, may suggest chronic muscle damage, but also insufficient response to treatment, glucocorticoid-induced myopathy, deconditioning, or a combination of the above. MRI signs of chronic muscle damage (muscle atrophy and fat-replacement) are quite specific, therefore if persistent muscle weakness is found in association with these signs, the most likely diagnosis would be chronic damage of the affected muscles. It should be borne in mind, though, that active disease and chronic damage may coexist. There is insufficient data on muscle MR appearance in steroid myopathy.

Assessment of myositis remains challenging, but using and interpreting correctly the available tools often allows to zero in on the actual cause of muscle weakness in the individual patient and to tailor treatment accordingly.

REFERENCES

1. Lundberg IE. Idiopathic inflammatory myopathies: why do the muscles become weak? *Curr Opin Rheumatol*. 2001; 13 (6): 457-60.
2. Miller FW, Rider LG, Chung YL, et al. Proposed preliminary core set measures for disease outcome assessment in adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40 (11): 1262-73.
3. Dayal NA, Isenberg DA. Assessment of inflammatory myositis. *Curr Opin Rheumatol*. 2001; 13 (6): 488-92.
4. Hilton-Jones D. Diagnosis and treatment of inflammatory muscle diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74 (Suppl 2): ii25-ii31.
5. Dalakas MC, Hohlfeld R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* 2003; 362 (9388): 971-82.
6. Kroll M, Otis J, Kagen L. Serum enzyme, myoglobin and muscle strength relationships in polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol* 1986; 13 (2): 349-55.
7. Rider LG, Giannini EH, Harris-Love M, et al. Defining clinical improvement in adult and juvenile myositis. *J Rheumatol* 2003; 30 (3): 603-17.
8. Briani C, Doria A, Sarzi-Puttini P, Dalakas MC. Update on idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity* 2006; 39 (3): 161-70.
9. Genth E. Inflammatory muscle diseases: dermatomy-

- myositis, polymyositis, and inclusion body myositis. *Internist (Berl)* 2005; 46 (11): 1218-3.
10. Kendall FP, McCreary EK, Provance PG. *Muscles: testing and function*. 4th edition, Baltimore, Williams & Wilkins 1993.
 11. Sultan SM. Clinical assessment in adult onset idiopathic inflammatory myopathy. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16 (6): 668-72.
 12. Messineo D, Cremona A, Trinci M, Francia A, Marini A. MRI in the study of distal primary myopathies and of muscular alterations due to peripheral neuropathies: possible diagnostic capacities of MR equipment with low intensity field (0.2 T) dedicated to peripheral limbs. *Magn Reson Imaging* 1998; 16 (7): 731-41.
 13. Scott DL, Kingsley GH. Use of imaging to assess patients with muscle disease. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16 (6): 678-83.
 14. Fraser DD, Frank JA, Dalakas M, Miller FW, Hicks JE, Plotz P. Magnetic resonance imaging in the idiopathic inflammatory myopathies. *J Rheumatol* 1991; 18 (11): 1693-700.
 15. Garcia J. MRI in inflammatory myopathies. *Skeletal Radiol* 2000; 29 (8): 425-38.
 16. Pipitone N, Zuccoli G, Macchioni P, Bajocchi G, Moti L, Marbini A, Nicoli F, Salvarani C. Role of imaging in myopathies: preliminary results. Abstract presented at the 2008 American College of Rheumatology Meeting.
 17. Pillen S, Arts IMP, Zwarts MJ. Muscle ultrasound in neuromuscular disorders. *Muscle Nerve* 2008; 37: 679-93.
 18. Huber AM, Hicks JE, Lachenbruch PA, Perez MD, Zemel LS, Rennebohm RM, Wallace CA, Lindsley CB, Passo MH, Ballinger SH, Bowyer SL, Reed AM, White PH, Katona IM, Miller FW, Rider LG, Feldman BM. Juvenile dermatomyositis disease activity collaborative study group. Validation of the childhood health assessment questionnaire in the juvenile idiopathic myopathies. *J Rheumatol*. 2001; 28 (5): 1106-11.
 19. The idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 2005; 52 (9): 2607-15.

MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE

Moderatori: M. Govoni (Ferrara), A. Martini (Genova)

- Definizione e classificazione delle malattie autoinfiammatorie sistemiche
L. Punzi (Padova)
- Autoinflammatory diseases
M. Galeazzi (Siena)
- Artrite idiopatica giovanile sistemica e sindrome da attivazione macrofagica
A. Martini (Genova)

COMUNICAZIONI

- IL-18 sierica e tissutale nella malattia di Still dell'adulto
R. Priori, C. Alessandri, S. Colafrancesco, A. Gattamelata, G. Valesini, M. Bombardieri, E. Astorri, C. Pitzalis, F. Barone, I.B. McInnes
- Diagnosi di Mild mevalonate kinase deficiency in pazienti con febbri periodiche NDD mediante tecniche di analisi indiretta
A. Gava, A. Furlan, F. Navaglia, M. Razetti, D. Basso, M. Plebani, L. Punzi

DEFINIZIONE E CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE SISTEMICHE

L. PUNZI, A. GAVA, A. FURLAN

Cattedra ed Unità Operativa Complessa di Reumatologia, Università di Padova

Le malattie autoinfiammatorie sistemiche (MAIS) sono un gruppo di malattie di recente inquadramento caratterizzate da episodi infiammatori ricidivanti, apparentemente primitivi, a carico di vari organi od apparati, in particolare articolazioni e cute (1). La definizione di autoinfiammatorie fa riferimento allo sviluppo apparentemente spontaneo di infiammazione associata ad uno sregolamento del sistema dell'immunità innata, senza coinvolgimento dei linfociti T-specifici o di (auto)anticorpi specifici. Alcune di queste malattie erano già note come "sindromi delle febbri periodiche ereditarie" che includono le note febbre mediterranea familiare (FMF) e sindrome da IperIgD (HIDS) detta più appropriatamente mevalonate kinase deficiency (MKD), ma anche la Muckle-Wells syndrome (MWS), l'orticaria da freddo familiare (FCAS) e la tumor necrosis factor receptor-1-associated periodic syndrome (TRAPS). Alcuni autori hanno proposto di includere in questa categoria anche le meno caratterizzate sindromi febbrili quali la periodic fever aphthous stomatitis and adenitis (PFAPA) e la chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome (CINCA), nota anche come neonatal onset multisystem inflammatory disease (NOMID). Nell'ambito delle MAIS sono state inserite alcune affezioni granulomatosi quali la s.di Blau, molto vicina per certi aspetti genetici e fisiopatologici alla m.di Crohn, che è diventata una sicura candidata a rientrare in questo gruppo, ed alla sarcoidosi giovanile o "early-onset sarcoidosis".

Il primo autore a proporre il termine di malattie autoinfiammatorie fu Mc Dermott, il quale, esattamente 10 anni fa, identificò la mutazione del gene per il recettore p55 del TNF nei pazienti con TRAPS (2). Questa scoperta seguiva di poco quella del gene responsabile della FMF, un'altra malattia autosomica caratterizzata da febbri ricorrenti (3). Sia la FMF che la TRAPS sono caratterizzate da ricorrenti episodi apparentemente spontanei di febbre, sierositi, artrite ed interessamento cutaneo, ma

senza riscontro di alcuni elementi tipici delle malattie autoimmuni, quali autoanticorpi ad alto titolo o cellule T antigene specifiche. Per cui, il termine autoinfiammatorio fu introdotto per sottolineare la distinzione fra questa categoria di malattie e quelle classicamente note come autoimmuni, quali ad es. il lupus eritematoso sistemico e l'artrite reumatoide, che pur talvolta simili nella presentazione clinica, si differenziano per un marcato coinvolgimento dell'immunità acquisita.

Lo sviluppo più concreto ed interessante delle conoscenze nell'ambito delle MAIS è venuto dalla FMF, che è nettamente la più rappresentativa ed è caratterizzata clinicamente da episodi ricorrenti di febbre ed infiammazione articolare, addominale e cutanea. Nel 1997, da un gruppo di francesi, è stato individuato il gene responsabile della FMF, chiamato MEFV (MEditerranean FeVer) (3). Questo gene codifica una proteina di 781 aminoacidi chiamata pyrin (o marenostin) che è espressa soprattutto nei polimorfonucleati e nei monociti attivati da citochine. La Pyrin contiene 4 domini funzionali, fra i quali quello N-terminale, costituito da 92 aminoacidi, è chiamato pyrin domain (PyD). Questo dominio è ritrovabile in numerose proteine coinvolte nell'apoptosi e nell'infiammazione ed è membro della superfamiglia "death-domain" che include i domini death-domain (DD), death effector domains (DED) e caspase recruitment domains (CARD) (4). La particolarità di queste proteine è quella di interagire fra di loro in un rapporto proteina:proteina. Così, DD interagisce con altre DD, DED con altri DED, CARD con CARD e PyD con PyD, formando complessi macromolecolari. Si è poi osservato che la PyD interagisce specificamente con un altro dominio contenente una PyD, chiamato apoptosis-associated speck-like protein with a CARD (ASC).

L'ASC possiede un dominio Pyrin N-terminale ed un dominio CARD C-terminale che si lega specificamente, a sua volta, con la CARD della procaspasi-1, anche nota come interleukin (IL)-1 β con-

verting enzyme, portando alla sua aggregazione ed autoattivazione. Il risultato è che la derivante caspasi-1 trasforma la pro-IL-1 β in IL-1 β , che viene secreta ed interagisce con il recettore dell'IL-1 per mediare l'infiammazione. L'ASC è una proteina che nelle cellule apoptotiche forma grandi aggregazioni citoplasmatiche chiamate "specks", che fra le altre funzioni hanno il significato di annunciare l'apoptosi. In effetti, il 100% delle cellule che formano questi specks vanno incontro ad apoptosi completa (5).

È stato suggerito come la pyrin sia in grado di stimolare l'apoptosi in presenza di ASC, proponendosi come una proteina pro-apoptotica ed antinfiammatoria. Quindi, nel caso della FMF e di altre malattie ad essa correlate o simili, la pyrin ha un ruolo centrale nell'infiammazione, essendo coinvolta nell'attivazione citochinica e nell'apoptosi. Inoltre, mutazioni della pyrin possono predisporre alcuni soggetti ad altre malattie infiammatorie recidivanti quali le malattie infiammatorie intestinali e la m.di Behçet.

A dimostrazione di una possibile appartenenza di quest'ultima alle MAIS è la buona risposta all'inibitore dell'IL-1 anakinra di alcune forme refrattarie ad altre terapie (6).

Similmente alla pyrin, anche la cryopyrin, recentemente individuata come prodotto proteico del gene responsabile (CIAS1) della MWS e della FCAS (7) sembra coinvolta in un gruppo di sindromi autoinfiammatorie chiamate Cryopyrin Associated Periodic Syndromes (CAPS). Queste, nella loro espressione più mite, si manifestano con febbre, rash orticarioide ed artralgie spesso scatenate dal freddo. Nelle forme più gravi, si può avere anche sordità, amiloidosi, complicazioni importanti a carico del sistema nervoso centrale, fra cui ritardo mentale ed alterazioni della vista, e gravi deformità osteoarticolari.

La cryopyrin (detta anche NALP3, PYPAF1, CATERPILLER 1.1) è codificata dal gene CIAS1 che si trova sul cromosoma 1q44 ed è membro di una grande famiglia di proteine chiamate NODs (chiamate anche proteine CATERPILLER) implicate nella regolazione della risposta immune e nell'apoptosi sia degli animali che delle piante. Studi recenti indicano che la cryopyrin ha un ruolo centrale nell'elaborazione dell'IL-1 da parte dei macrofagi in risposta all'RNA batterico, ad alcuni batteri Gram-positivi ed ai cristalli di urato monosodico e di pirofosfato di calcio diidrato, alle tossine cellulari e ad alcuni agonisti dei Toll-like receptor (8). Questa risposta è mediata da un com-

plesso sistema chiamato "inflammasoma", che è responsabile della produzione di IL-1 attraverso l'oligomerizzazione e l'attivazione della caspasi 1 (9). Fra i diversi tipi di inflammasoma esistenti, il più noto e studiato è quello coinvolto nell'attivazione da cristalli, l'inflammasoma NALP3 (10).

Fra le sindromi delle febbri periodiche ereditarie, la TRAPS è forse quella che ha ricevuto più notorietà negli ultimi tempi, grazie alla constatazione di un importante effetto terapeutico dei nuovi farmaci biologici anti-TNF. La TRAPS è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante dovuta ad alcune mutazioni della super famiglia 1A del recettore solubile del TNF (TNFRF1A) (11). I pazienti con TRAPS hanno attacchi ricorrenti di febbre e dolori a carico di articolazioni, addome, muscoli, cute ed occhio. Nei periodi fra gli attacchi i livelli del TNFRSF1 sono estremamente bassi (<1 ng/ml).

Questi possono talvolta aumentare fino alla normalità durante le crisi, in accordo con l'aumento dei livelli del TNF. In questi soggetti è stata ritrovata una mutazione del gene TNFRF1A sul cromosoma 12p13. Questa mutazione colpisce il dominio extra-cellulare del TNFRSF1A, impedendo la sua solubilizzazione e quindi predisponendo la cellula a subire maggiori effetti di trasmissione intra-cellulare del segnale da parte del TNF. La TRAPS è la prima malattia in cui sia stata ritrovata una mutazione naturale del recettore del TNF. Tuttavia, alcuni pazienti con un quadro clinico molto simile e suggestivo di TRAPS che non presentano questa mutazione, definiti "TRAPS-negativi", sono probabilmente dovuti ad altre mutazioni simili o aggiuntive.

Al contrario, possono aversi soggetti con mutazione del gene del TNFRSF1A che presentano minimi sintomi o addirittura nessun disturbo (11). Un'ulteriore possibilità è che esistano soggetti con livelli costituzionalmente bassi di TNFRF1A, ma senza mutazioni del gene del TRAPS, e quindi probabilmente influenzati da altre vie genetiche. Questi soggetti, dietro stimolazioni ambientali, possono sviluppare delle sindromi simil-TRAPS. L'ipotesi patogenetica riguardante il ruolo del difetto del recettore TNFRSF1A è confermato dall'efficacia terapeutica degli anti-TNF. L'etanercept, una proteina di fusione contenente due copie del recettore p75 del TNF legati ad un frammento costante delle IgG umane è stato impiegato per il trattamento della TRAPS con ottimi risultati (12), non riuscendo però a prevenire gli attacchi (13).

Un'altra interessante malattia facente parte del

gruppo della MAIS è la s.di Blau (BS), una rara malattia ereditaria con trasmissione autosomica dominante caratterizzata da artrite, rash cutaneo ed uveite, ma che può coinvolgere altri organi od apparati (14). Nei due membri dell'unica famiglia italiana conosciuta, da noi seguita da quasi venti anni, l'esordio è stato molto precoce, in età infantile, ma l'evoluzione è stata mite, se si eccettua una grave uveite (15). Il gene di suscettibilità della SB è stato recentemente identificato come CARD 15 (già noto come NOD2), lo stesso gene che si associa allo sviluppo del m.di Crohn (16). La CARD 15 codifica una proteina di 1040 aminoacidi che contiene strutturalmente due CARD N-terminali legati ad un (NBS) e (LRR) nella porzione C-terminale. La CARD 15 è espressa prevalentemente nei monociti e può interagire con i lipopolisaccaridi (LPS) attraverso i domini LRR che attivano la via del segnale NF- κ B. È interessante la constatazione che le mutazioni che coinvolgono i LRR predispongono al M. di Crohn, mentre quelle che coinvolgono la NBS sono specifici per la SB. Nella nostra famiglia è stata recentemente ritrovata una nuova mutazione del sito NBS, E383K, differente dalle altre tre individuate finora, R334Q, R334W, L469F (17).

Mentre tutte queste malattie hanno una collocazione stabile e caratterizzante nel gruppo della MAIS, il concetto di autoinfiammatorio è andato allargandosi e modificandosi con il tempo, soprattutto a partire della scoperta dell'inflammasoma, portando a candidarsi in questa categoria molte malattie infiammatorie frequenti e dall'incerta collocazione patogenetica. Recentemente, Masters et al. (18) hanno proposto una nuova classificazione delle MAIS abbastanza provocatoria, che però ha il merito di indicare come il concetto di autoinfiammatorio si sia arricchito di contributi tali da modificare radicalmente la sua iniziale unicità classificativi. Secondo questi autori, le MAIS possono suddividersi in:

- Tipo 1) IL-1 activation disorders (inflammasomopathies): a1) intrinseche (FCAS, MWS, NOMID/CINCA); a2) Estrinseche (FMF, PAPA, chronic recurrent multifocal osteomyelitis (CRMO)/SAPHO, HIDS, Majeed syndrome, mole idatiforme ricorrente; a3) complesse/acquisite (Gotta, pseudogotta, affezioni fibrotizzanti: silicosi, asbestosi, diabete mellito tipo 2, s. di Schnitzler);
- Tipo 2) NF- B activation disorders (M. di Crohn, s. di Blau, FCAS2 (Guadeloupe periodic fever);
- Tipo 3) Protein folding disorders of the innate immune system (TRAPS, spondyloarthropathies);
- Tipo 4) Complement disorders (atypical hemolytic uremic syndrome (HUS), age-related macular degeneration (AMD));
- Tipo 5) Cytokine signaling disorders (cherubismo);
- Tipo 6) Macrophage activation (Familial hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH), Chediak-Higashi sindrome, s. di Griscelli, X-linked lymphoproliferative syndromes, Hermansky-Pudlak sindrome, HLH secondaria, Aterosclerosi).

Come si può notare, pur completa e quasi eccessiva, questa lista non comprende alcune malattie, quali la m. di Behçet ed il m. di Still, che la maggior parte degli esperti collocano nell'ambito delle MAIS a tutto titolo.

In conclusione, quello della fisiopatologia dell'autoinfiammazione è un settore in espansione così ricca e rapida da rendere i tentativi di definizione e di classificazione sempre più provvisori ed inadeguati, ma pur tuttavia estremamente necessari. In questo contesto sta cercando di operare il gruppo di studio sulle MAIS della SIR, che propone fra i suoi obiettivi anche la creazione di un registro.

BIBLIOGRAFIA

1. Hull KM, Shoham N, Chae JJ, Aksentjevich, Kastner DL. The expanding spectrum of systemic autoinflammatory disorders and their rheumatic manifestations. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 61-69.
2. McDermott MF, Aksentjevich I, Galon J, et al. Germline mutations in the extra-cellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFRSF1A, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999; 97: 133-44.
3. French FMF Consortium: a candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* 1997; 17: 25-31.
4. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, et al. Fire and Ice: the role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20 (suppl 26): S45-S53.
5. Richards N, Schaner P, Diaz A, et al. Interaction between pyrin and the apoptotic speck protein (ASC) modulates ASC-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2001; 276: 39320-9.
6. Botsios C, Sfriso P, Furlan A, Punzi L, Dinarello CA. Resistant Behçet disease responsive to anakinra. *Ann Intern Med*. 2008; 149: 284-6
7. Hoffman HM, Mueller JL, Brode DH, Wanderer AA, Kolodner RD. Mutation of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nat Genet* 2001; 29: 301-5.
8. Goldbach-Mansky R, Dailey NJ, et al. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to inter-

- leukin-1 inhibition. *N Engl J Med* 2006; 355: 581-92.
9. Martinon F, Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death Differ* 2007; 14: 10-22.
 10. Martinon F, Petrilli V, Mayor A, Tardivel A, Tschopp J. Gout associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006; 440: 237-41.
 11. Drenth JP, van der Meer JW. Hereditary periodic fever. *N Engl J Med* 2001; 345: 1748-57.
 12. Drewe E, McDermott EM, Powell RJ. Treatment of the nephrotic syndrome with etanercept in patients with the tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *N Engl J Med* 2000; 343: 1044-5.
 13. Drewe E, McDermott EM, Powell PT, Isaacs JD, Powell RJ. Prospective study of anti-tumour necrosis factor receptor superfamily 1A fusion protein, in tumour necrosis factor receptor associated periodic syndrome (TRAPS): clinical and laboratory findings in a series of seven patients. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42: 235-9.
 14. Blau EB. Familial granulomatous arthritis, iritis, rash. *J Pediatr* 1985; 107: 689-93.
 15. Punzi L, Furlan A, Podswiadek M, et al. Clinical and genetic aspects of Blau syndrome: A 25-year follow-up of one family and a literature review. *Autoimmun Rev*. 2009; 8: 228-32.
 16. Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M, Prieur A-M, Manouvrier-Hanu S, Hafner R, et al. CARD 15 mutations in Blau syndrome. *Nature Gen* 2001; 29: 19-20.
 17. van Duist MM, Giachino D, De Marchi M, Podswiadek M, Punzi L. A new CARD 15 mutation in Blau syndrome: E383K. *Eur J Hum Gen* 2005; 13: 742-7.
 18. Masters S, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu Rev Immunol* 2009. 27: 621-68.
 19. Punzi L, Galeazzi M, Modena V, Bombardieri S. The registry for the systemic autoinflammatory syndromes of the Italian Society of Rheumatology. *Reumatismo*. 2006; 58: 1-4.

AUTOINFLAMMATORY DISEASES

M. GALEAZZI¹, L. CANTARINI¹, G. BRIZZI¹, S. NICCOLINI¹, O.M. LUCHERINI²,
C.T. BALDARI²

¹*Interdepartmental Research Center of Systemic Autoimmune and Autoinflammatory Diseases, Unit of Rheumatology, Policlinico Le Scotte, University of Siena, Siena, Italy;*

²*Department of Evolutionary Biology, University of Siena, Siena, Italy*

Autoinflammatory diseases are a group of disorders characterized by spontaneous attacks of systemic inflammation as well as inflammation of specific tissues without autoimmune etiology or presence of pathogens.

These diseases include both hereditary (Familial Mediterranean Fever, FMF; Mevalonate Kinase Deficiency, MKD; TNF Receptor Associated periodic Syndrome, TRAPS; Cryopyrin associated Periodic Syndrome, CAPS; Blau Syndrome, Pyogenic sterile Arthritis, Pyoderma gangrenosum and Acne syndrome, PAPA; Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis, CRMO) and multifactorial disorders (Crohn's and Behcet's diseases) (1).

Among the hereditary periodic disorders, the Tumor necrosis factor (TNF)- α receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) is a dominantly inherited disease caused by missense mutations in the *TNFRSF1A* gene which encodes for the TNF- α receptor (2). TRAPS is characterized by attacks of fever, polyserositis, arthralgia, myalgia, skin rash, periorbital oedema and/or conjunctivitis; up to 25% of patients may develop systemic amyloidosis (3).

Familial Mediterranean Fever (FMF) is the most common autoinflammatory disorder; it is autosomal recessive and is caused by mutations in the *MEFV* gene, which encodes the pyrin protein, and is characterized by recurrent attacks of fever with serositis, synovitis and skin involvement (4). Attacks of FMF last from 1 to 3 days and are typically characterized by colchicine responsiveness (5, 6).

The diagnosis of FMF is based on clinical criteria, and the demonstration of *MEFV* mutations confirms the diagnosis in suspected patients (7). Concerning the group of multifactorial forms, an autoinflammatory etiology has recently been proposed also in more common skin diseases sharing candidate genes or clinical features with the classically previously described autoinflammatory diseases. In particular, some of the candidate genes

implicated in the pathogenesis of psoriasis are shared with Crohn's disease and pustular psoriasis is actually going to be considered as a chronic autoinflammatory disease not only for its clinical recurrent episodes but also for its typical pronounced infiltration of neutrophils, which is the "histopathological hallmark" in all the classically previously described autoinflammatory diseases. Recurrent episodes and neutrophilic cell infiltrates are also typical of the previously defined "neutrophilic cold urticaria".

Although a genetic mutation has not been associated to the "neutrophilic cold urticaria", these features and the cold induced urticarial rash, also described in the classical Cryopyrin associated Periodic Syndromes, support the hypothesis that also the neutrophilic cold urticaria's pathogenesis can be related to an altered cryopyrin. Furthermore, other disorders such as Behcet's disease and adult Sill syndrome have been recently included in the group of autoinflammatory diseases.

In our experience, over a period of 12 months we have analyzed 120 patients admitted in our Unit and presenting with clinical manifestations suggestive of autoinflammatory disorders. Fifty eight were females and 62 were males; out of them, 41 one were pediatric patients (age <16 years). The mean age of the patients recruited was 27.05 years and the mean age referred at disease onset was 22.78 years. All patient were tested for mutations in the *MEFV* (exons 2, 3, 10) and in the *TNFRSF1A* (exons 2, 3, 4, 6) genes.

Among the 120 evaluated patients, 30 of them showed recurrent episodes of fever and recurrent pericarditis as the sole clinical manifestation. These 30 patients were part of a larger cohort of patients admitted in our Unit for idiopathic recurrent pericarditis and all were characterized by a poor response to colchicine.

TNFRSF1A mutations were found in 4 of 30 patients. One of the 4 patients had a novel heterozygous deletion (Y103-R104) and three patients car-

ried a low-penetrant R92Q mutation. One of the patients carrying the R92Q mutation, also carried a low-penetrant mutation E148Q in *MEFV* gene, but was clinically diagnosed with TRAPS basing on the poor response to colchicine, on the duration of fever attacks (>2 weeks), and on the late onset (34 years).

All four patients were diagnosed with TRAPS and were successfully treated with etanercept (25 mg twice weekly). At 1-year-follow-up all four patients with TRAPS did not show signs of disease relapse, thus confirming etanercept as a first line treatment for TRAPS.

Of the remaining 90 patients, 6 of them carried mutations in *MEFV* and 7 patients showed mutations in *TNFRSF1A*. In our experience we found that 14.16% of patients with clinical features suggestive of periodic syndrome carried mutations *MEFV* and *TNFRSF1A* genes.

Four of them were affected by recurrent pericarditis as the sole clinical manifestation. Our preliminary data suggest that autoinflammatory disorders are more frequent than initially thought and that the disease onset may occur, frequently, also in adult age. Adult onset may frequently occur in association with low penetrant mutations in *MEFV* and *TNFRSF1A* genes and these patients may present atypical clinical manifestations, such as isolate serosal involvement.

Furthermore, although in echocardiographic studies up to 50% of patients with FMF may present pericardial involvement (8), our data suggest that TRAPS should be kept in mind, more than FMF,

in the differential diagnosis of recurrent pericarditis and mutation analysis in *TNFRSF1A* should be considered.

REFERENCES

1. Ozen S, Hoffman HM, Frenkel J, Kastner D. Familial Mediterranean fever (FMF) and beyond: a new horizon. Fourth International Congress on the Systemic Autoinflammatory Diseases held in Bethesda, USA, 6-10 November 2005. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 961-4.
2. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, 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.
3. Aganna E, Hawkins PN, Ozen S, 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.
4. Livneh A, Langevit P, Zemer D, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* 1997; 10: 1879-85.
5. Ben-Chetrit E, Bergmann S, Sood R. Mechanism of the anti-inflammatory effect of colchicine in rheumatic diseases: a possible new outlook through microarray analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006; 45: 274-82.
6. Lidar M, Livneh A. Familial Mediterranean fever: clinical, molecular and management advancements. *Neth J Med* 2007; 65: 318-24.
7. Ben-Chetrit E, Levy M. Familial Mediterranean fever. *Lancet* 1998; 351: 659-64.
8. Dabestani A, Noble LM, Child JS, Krivokapich J, Schwabe AD. Pericardial disease in familial Mediterranean fever: an echocardiographic study. *Chest* 1982; 81: 592-5.

ARTRITE IDIOPATICA GIOVANILE SISTEMICA E SINDROME DA ATTIVAZIONE MACROFAGICA

A. MARTINI, C. MALATTIA

Dipartimento di Pediatria, Università di Genova, Pediatria II, Istituto G. Gaslini, Genova, EULAR Centre for Excellence in Rheumatology 2008-13

L'artrite idiopatica giovanile (AIG) (1) non costituisce una malattia ma una diagnosi di esclusione che si applica a tutte le artriti persistenti e di causa sconosciuta che insorgono in età pediatrica. Sotto questo termine è perciò compreso un eterogeneo gruppo di artriti croniche che, in assenza di conoscenze eziopatogenetiche, si è cercato di classificare sulla base di criteri clinici con lo scopo di identificare singole entità che potessero rappresentare malattie differenti.

L'AIG sistemica

La forma sistemica di AIG è definita dalla presenza, accanto all'artrite, di una febbre quotidiana e persistente accompagnata da uno o più dei sintomi seguenti: rash, epatomegalia o splenomegalia, linfadenomegalia generalizzata, sierositi. La febbre è elevata (39-40°C), persistente, intermittente, con due o più spesso una puntata giornaliera. Una eruzione maculo-papulare, rosata, fugace accompagna sovente la puntata febbrile per poi scomparire quando la temperatura si normalizza. Linfadenomegalia, splenomegalia e l'epatomegalia, se presenti, sono in genere modeste. Pericarditi e pleuriti sono abbastanza frequenti ma in genere modeste e asintomatiche. Mialgie, anche importanti, e dolori addominali, attribuiti alla presenza di una sierosite, possono accompagnare le puntate febbrili.

Le puntate febbrili si accompagnano spesso ad artralgie; una franca artrite, in genere simmetrica e poliarticolare, può non essere presente all'esordio della malattia e comparire a distanza di settimane o di mesi dall'inizio della sintomatologia sistemica. Fino a che l'artrite non è comparsa la diagnosi di AIG sistemica non può, ovviamente e per definizione, essere posta.

Gli esami di laboratorio mostrano segni molto marcati di infiammazione con VES elevata, marcato incremento della proteina C reattiva, piastrinosi, leucocitosi neutrofila, marcato aumento della ferritina ed un'anemia di tipo infiammatorio che è caratteristicamente microcitica.

L'evoluzione dell'AIG sistemica è variabile e testimonia, assieme alle differenze nella sensibilità alla terapia (vedi oltre) la sua assai probabile eterogeneità. Si possono schematicamente distinguere due gruppi principali di pazienti. Un primo gruppo è caratterizzato da un interessamento articolare modesto che recede generalmente con il recedere della sintomatologia sistemica; dopo alcuni episodi acuti la malattia tende più spesso a guarire senza lasciare sequele articolari. Un secondo gruppo di malati presenta una franca artrite pauci o, assai più spesso, poliarticolare che finisce con il dominare il quadro clinico; la sintomatologia sistemica può persistere o, più spesso, tendere con il tempo ad attenuarsi fino a scomparire. Questo secondo gruppo di pazienti ha un rischio elevato di sviluppare danni articolari importanti.

L'AIG sistemica è una malattia caratteristica del bambino dove costituisce circa il 15% di tutte le forme di AIG mentre è di osservazione occasionale nell'adulto dove è conosciuta come malattia di Still dell'adulto. L'eziologia è ignota ma appare differente da quella delle altre forme di AIG.

Studi effettuati negli anni '90 avevano portato ad ipotizzare un ruolo patogenetico centrale per interleuchina (IL)-6 (2). Questa ipotesi è stata poi confermata dai brillanti risultati ottenuti da uno studio clinico controllato con Tocilizumab, un anticorpo diretto contro il recettore di IL-6 (3). Risultati molto positivi sono anche stati ottenuti con l'inibizione di IL-1 ottenuta con l'impiego di Anakinra, la forma ricombinante dell'antagonista recettoriale di IL-1 (4). Queste osservazioni non sono in contraddizione con le precedenti poiché la secrezione di IL-1 è spesso a monte di quella di IL-6. Inoltre è stato di recente dimostrato che mentre alcuni pazienti rispondono in maniera spettacolare ad Anakinra in altri l'effetto è molto più modesto, il che fa pensare che i primi costituiscano una entità clinica differente con una patogenesi a se stante (5). È perciò possibile che ulteriori studi controllati sia con Tocilizumab, Anakinra o altri, più

potenti inibitori di IL-1, potranno rappresentare non solo importanti progressi terapeutici ma anche uno strumento utile per comprendere la eterogeneità clinica dell'AIG sistemica individuando forme patogeneticamente distinte.

La sindrome da attivazione macrofagica

Circa il 5-8% dei pazienti con AIG sistemica sviluppa una complicanza potenzialmente molto grave che ricorda quanto si osserva in corso di shock settico (con cui ovviamente non va confusa) e che è ritenuta secondaria ad un improvviso, importante rilascio di citochine pro-infiammatorie. Questo quadro, denominato "sindrome da attivazione macrofagica" (MAS), si caratterizza per la comparsa di una febbre continua (non quindi intermittente), una diatesi emorragica a tipo coagulazione intravascolare disseminata, una epatomegalia dura e dolente con un marcato aumento delle transaminasi e di altri enzimi, una pancitopenia caratterizzata da una marcata neutropenia e manifestazioni neurologiche che vanno dalla letargia, al coma, alle convulsioni. Gli esami di laboratorio mostrano, oltre ai segni della coagulazione intravascolare disseminata (riduzione del fibrinogeno, aumento dei fattori di degradazione del fibrinogeno, piastrinopenia), una riduzione della VES (secondaria alla riduzione del fibrinogeno), un marcattissimo incremento della ferritinemia, un aumento dei trigliceridi ed una riduzione della sodiemia. All'aspirato midollare sono evidenti macrofagi che fagocitano attivamente le cellule ematopoietiche.

Spesso non è identificabile un fattore scatenante, anche se casi di MAS sono stati messi in relazione con l'assunzione di farmaci, infezioni intercorrenti o una riattivazione della malattia di base. Criteri diagnostici preliminari per la MAS associata all'AIG sistemica sono stati recentemente proposti (6).

La MAS rappresenta un quadro particolare di linfoistocitosi emofagocitica (HLH) (Tab. I) (7). Le forme più note e più severe di HLH sono quelle legate a difetti genetici ed in particolare al difetto di perforina che è anche la forma meglio studiata da un punto di vista patogenetico per la disponibilità di un modello animale. La mutazione determina una grave alterazione della funzione citotossica delle cellule NK e dei linfociti citotossici. Ciò causa una massiccia espansione ed attivazione di queste cellule con ipersecrezione di citochine pro-infiammatorie come INF- γ , TNF- α , e GM-CSF che, a loro volta, inducono una attivazione macrofagica con infiltrazione tissutale e produzione di IL-1 e IL-6. La patogenesi nelle forme non genetiche,

Tabella I - Classificazione delle linfoistocitosi emofagocitiche (secondo Janka (6)).

Genetiche

Familiari (Malattia di Farquhar)

Da deficit genetici noti (perforina, munc 13-4, syntaxin 11)

Da deficit genetici ignoti

Associate a deficit immunitari

Sindrome di Chédiak-Higashi

Sindrome di Griscelli

Sindrome linfoproliferativa legata all'X

Acquisite

Da agenti esogeni (infezioni (in particolare EBV), tossine)

Da prodotti endogeni (danno tissutale, alcune malattie del metabolismo come la intolleranza alla proteine con lisinuria)

Associate a malattie reumatiche

Associate a neoplasie (in particolare linfomi)

comprese quelle in corso di malattie reumatiche, è ignota ma presenta molto verosimilmente elementi in comune con quella delle forme genetiche (8). La MAS è stata descritta anche in altre malattie reumatiche come la sindrome di Kawasaki ed il lupus eritematoso sistemico (LES); per la MAS in corso di LES sono stati elaborati criteri diagnostici che differiscono, per il diverso quadro clinico della malattia di base, da quelli proposti per la AIG (9). Il motivo per cui la MAS si osserva molto più di frequente nella AIG sistemica sono ancora ignoti ma hanno probabilmente a che vedere con la marcata stimolazione dell'immunità innata che caratterizza questa malattia.

La MAS richiede un pronto riconoscimento perché, se non trattata, può essere fatale. Il trattamento con steroidi e ciclosporina (10, 11) è efficace nella grande maggioranza delle forme che si osservano in corso di AIG sistemica.

BIBLIOGRAFIA

1. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet*, 2007; 369: 767-78.
2. De Benedetti F, Martini A. Is systemic juvenile rheumatoid arthritis an interleukin 6 mediated disease? *J Rheumatol* 1998; 25: 203-7.
3. Yokota S, Imagawa T, Mori M, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial. *Lancet* 2008; 371: 998-1006.
4. Pascual V, Allantaz F, Arce E, et al. Role of interleukin-1 (IL-1) in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J Exp Med* 2005; 201: 1479-86.

5. Gattorno M, Piccini A, Lasigliè D, et al. The pattern of response to anti IL-1 treatment distinguishes two subset of patients with systemic onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1505-15.
6. Ravelli A, Magni-Manzoni S, Pistorio A, et al. Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Pediatr* 2005; 146: 598-604.
7. Janka G, Zur Stadt U. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005; 82-8.
8. Grom AA. Natural killer cell dysfunction: A common pathway in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis, macrophage activation syndrome, and hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Arthritis Rheum.* 2004; 50: 689-98.
9. Parodi A, Davi S, Pringe AB, et al. Macrophage activation syndrome in juvenile systemic lupus erythematosus A multinational multicenter study of 38 patients. *Arthritis Rheum* in press.
10. Ravelli A, De Benedetti F, Viola S, Martini A. Macrophage activation syndrome in systemic juvenile rheumatoid arthritis successfully treated with cyclosporine. *J Pediatr* 1996; 128: 275-78.
11. Mouy R, Stephan J-L, Pillet P, et al. Efficacy of cyclosporine A in the treatment of macrophage activation syndrome in juvenile arthritis: report of five cases. *J Pediatr* 1996, 129: 750-4.

IL-18 SIERICA E TISSUTALE NELLA MALATTIA DI STILL DELL'ADULTO

R. Priori¹, C. Alessandri¹, S. Colafrancesco¹, A. Gattamelata¹, G. Valesini¹, M. Bombardieri², E. Astorri², C. Pitzalis², F. Barone³, I.B. McInnes⁴

¹U.O.C. Reumatologia, Sapienza Università di Roma; ²Centre for Experimental Medicine and Rheumatology, WHRI, QMUL, Londra, United Kingdom; ³Immunobiology, Kings College, Londra, United Kingdom; ⁴Centre for Experimental Medicine and Rheumatology, University of Glasgow, United Kingdom

L'interleuchina 18 (IL-18) è una citochina ad azione pleiotropica di cui vengono individuate sempre più numerose e complesse proprietà pro-infiammatorie. In precedenza, nella malattia di Still dell'adulto (adult onset Still disease - AOSD) sono stati evidenziati elevati livelli sierici di IL-18 ed una sua aumentata espressione a livello linfonodale. L'accumularsi di simili evidenze suggerisce che IL-18 possa rappresentare un futuro target terapeutico nell'AOSD.

Obiettivo: Valutazione del ruolo di IL-18 sierica come marcatore biologico di malattia e della sua attività. Studio dell'espressione tissutale dell'IL-18 in pazienti con AOSD ed impegno epatico.

Materiali e Metodi: Presso la nostra UOC sono afferiti negli ultimi 10 anni 41 pazienti affetti da AOSD (criteri di Yamaguchi). 23 F, 18 M, età M 39,5 anni. IL-18 è stata dosata nel siero di 22 pazienti, l'attività di malattia al momento del prelievo è stata definita in base ai criteri proposti da Pouchot (1991) che prevede uno score compreso tra 0 e 12 (1 punto per ciascuno delle seguenti manifestazioni: febbre, rash, faringodinia, artrite, mialgie, pleurite, pericardite, polmonite, linfadenopatia, impegno epatico, dolore addominale, leucociti >15000/mm³).

Come gruppi di controllo sono stati utilizzati i sieri di 21 soggetti sani, 44 pazienti con artrite reumatoide (AR), 95 con sindrome di Sjögren primaria (pSS) e di un paziente con una forma di AOSD risultata poi paraneoplastica. IL-18 è stata misurata con metodica commerciale ELISA. Sezioni sequenziali di due campioni di tessuto epatico di AOSD e uno di epatite ia-

trogena sono state esaminate con metodica di doppia immunostochimica (IHC) con ab anti IL-18 e ab anti-CD68. Per l'analisi statistica sono stati usati il test di MW e di Spearman.

Risultati: IL-18 (pg/mL) è risultata significativamente più elevata nel siero dei pazienti con AOSD in fase attiva (score >1) (1047,45; range 33,71-6015) rispetto ai tre gruppi di controllo: AR (332; range 0-2000; p=0,004), pSS (66,24; range 1,2-1532; p=0,0001), sani (189; range 0-491; p=0,0045). IL-18 nel paziente con AOSD paraneoplastico era 56,77 pg/mL. In AOSD è stata inoltre identificata una correlazione statisticamente significativa tra concentrazione di IL-18 e attività di malattia (p<0,0001). Infine il livello sierico di IL-18 è risultato correlare significativamente con le concentrazioni di PCR (p=0,006) e di ferritina (p=0,006) e con il numero dei neutrofilii circolanti (p=0,045).

All'esame IHC è stata dimostrata un'accentuata espressione di IL-18 nei campioni di fegato di AOSD in confronto al controllo, in co-localizzazione con il marker monocito-macrofagico CD68.

Conclusioni: Si conferma il ruolo dell'IL-18 come marker biologico nell'AOSD correlato all'attività di malattia. La sua espressione a livello epatico, già in precedenza dimostrata a livello linfonodale, suggerisce che IL-18 eserciti il suo potenziale patogenetico negli organi linfoidi secondari e/o nel sistema reticolo-endoteliale, laddove la disregolata produzione di IL-18 ha presumibilmente luogo.

Keywords: IL-18, Malattia di Still dell'adulto, Fegato.

DIAGNOSI DI MILD MEVALONATE KINASE DEFICIENCY IN PAZIENTI CON FEBBRI PERIODICHE NDD MEDIANTE TECNICHE DI ANALISI INDIRETTA

A. Gava¹, A. Furlan¹, F. Navaglia², M. Razetti², D. Basso², M. Plebani², L. Punzi¹

¹Cattedra e U.O.C. di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Padova;

²Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Università-Ospedale di Padova

Scopo del Lavoro: La Mevalonate Kinase Deficiency (MKD), già nota come sindrome da Iper IgD (HIDS), è una rara malattia autoinfiammatoria di tipo autosomico recessivo caratterizzata da febbre ricorrente e disturbi muscoloscheletrici. La MKD è dovuta a mutazioni del gene MVK, il quale codifica per l'enzima mevalonato chinasi (MK); polimorfismi (SNP) in MVK sono la causa di un'alterata attività enzimatica di MK.

Ad oggi sono state descritte 106 variazioni di sequenza in MVK e l'indagine genetica si è resa indispensabile per la diagnosi, soprattutto in pazienti con valori sierici di IgD normali.

La determinazione di mutazioni può essere resa più efficiente utilizzando la DHPLC come tecnica di screening per identificare alterazioni nella regione codificante del gene MVK in pazienti con sospetta sindrome autoinfiammatoria.

Materiali e Metodi: Sono stati presi in esame 31 pazienti (età media 29 anni, range 3-61 anni) con febbri ricorrenti non imputabili ad infezioni o malattie autoimmuni e 10 controlli sani; 14 pazienti avevano un andamento febbrile tipico di MKD.

In ogni paziente è stato effettuato il dosaggio delle IgD nel siero. L'analisi del DNA è stata effettuata mediante amplificazione con primers specifici per MVK.

I prodotti di amplificazione sono stati analizzati mediante DHPLC utilizzando il sistema Wave[®] Fragment Analysis (Transgenomic, Omaha, NE, USA).

Le temperature di melting sono state calcolate con Navigator Software 1.7.0 (Transgenomic). Le sequenze degli stessi frammenti amplificati sono state determinate mediante l'uso di un sequenziatore automatico ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (APPLIED BIOSYSTEMS).

Risultati: Non è stata osservata correlazione tra un elevato livello sierico di IgD e la presenza di alterazioni di sequenza in MVK.

Nessun campione di controllo presentava alterazioni dei profili DHPLC e delle sequenze. 19 dei 31 pazienti esaminati presentavano almeno un profilo di DHPLC alterato e i dati sono stati confermati con sequenziamento.

Il numero di SNP per paziente è risultato maggiore nel grup-

po di pazienti con febbre MKD-tipica rispetto a quelli con febbre atipica in modo statisticamente significativo ($p=0,0023$).

Conclusioni: Un elevato livello sierico di IgD non rappresenta più un marker per fare diagnosi di MKD. L'analisi genetica è indispensabile per fare diagnosi in pazienti con sospetta MKD e IgD normali.

La DHPLC è una tecnica capace di effettuare uno screening rapido, a basso costo e con una specificità del 100% nell'analisi di SNP in pazienti con sospetta MKD.

Maggiore è il numero di SNP in MVK, maggiore sembra la probabilità di avere una clinica compatibile con MKD e che tante variazioni di sequenza possano indurre una diminuzione nell'attività della MK predisponendo quindi alla MKD. 11 pazienti sono risultati portatori delle varianti alleliche D170D e c.632-18A>G; tale evento suggerisce che questi SNP potrebbero essere in linkage disequilibrium. Per confermare tali ipotesi sono necessari ulteriori studi.

Keywords: *Malattie autoinfiammatorie, Deficit di Mevalonato chinasi, DHPLC.*

COMUNICAZIONI SUGLI ANTIFOSFOLIPIDI

Moderatori: A. Cauli (Cagliari), N. Del Papa (Milano)

- Il complemento: un marker predittivo di complicanze nella APS ostetrica? Studio Collaborativo Italiano promosso dal Gruppo di Studio sulla gravidanza della SIR
T. Ziglioli, L. Andreoli, M. Mosca, V. Ramoni, A. Iuliano, M. Gerosa, C. Montecucco, A. Brucato, M. Galeazzi, P.L. Meroni, A. Tincani
- Complement involvement in antiphospholipid antibody-mediated placental damage: prospective study in APS pregnant women
M. Gerosa, V. De Angelis, L. Trespidi, B. Acaia, I. Cetin, S. Calabrese, M. Nebuloni, C. Guarnotta, C. Tripodo, F. Tedesco, P.L. Meroni
- Utilizzo di dosi aggiustate di nadroparina associata ad aspirinetta nel trattamento di donne in gravidanza con sindrome da antifosfolipidi a basso rischio. Studio prospettico di coorte
M. Favaro, M. Tonello, T. Del Ross, A. Bontadi, A. Cavazzana, S. Cuffaro, A. Ruffatti, L. Punzi
- Detection of IGG/IGM antibodies that recognize epitope GLY40-ARG43 in domain I of beta2GPI with an Elisa assay: a new perspective in prediction of thrombotic manifestations in antiphospholipid syndrome?
V. De Angelis, G. Van Os, F. Pregnolato, C. Grossi, C. Chighizola, M. Biggioggero, P.G. de Groot, R.H.W.M. Derksen, P.L. Meroni, R.T. Urbanus
- Anticorpi anti-SU nella sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi primaria (PAPS)
A. Ceribelli, I. Cavazzana, A. Tincani, R. Cattaneo, F. Franceschini, E.K.L. Chan, M. Satoh
- Sindrome da anticorpi antifosfolipidi e lesioni puntiformi della sostanza bianca alla risonanza magnetica. Qual è il loro significato? Valutazione di 169 pazienti con manifestazioni neurologiche
C. Casu, L. Andreoli, M. Codella, R. Cattaneo, A. Tincani
- Anticorpi antifosfolipidi: è possibile distinguere gli anticorpi “innocenti” da quelli “trombofilici”? Analisi della fine specificità diretta verso i domini della beta2glicoproteina I
L. Andreoli, C. Nalli, M. Motta, G.L. Norman, Z. Shums, W.L. Binder, M. Nuzzo, M. Frassi, A. Lojaco, T. Avcin, P.L. Meroni, A. Tincani

IL COMPLEMENTO: UN MARKER PREDITTIVO DI COMPLICANZE NELLA APS OSTETRICA? STUDIO COLLABORATIVO ITALIANO PROMOSSO DAL GRUPPO DI STUDIO SULLA GRAVIDANZA DELLA SIR

T. Ziglioli¹, L. Andreoli¹, M. Mosca², V. Ramoni^{2,4}, A. Iuliano⁵, M. Gerosa⁶, C. Montecucco³, A. Brucato⁴, M. Galeazzi⁵, P.L. Meroni⁶, A. Tincani¹

¹Reumatologia e Immunologia Clinica, Università di Brescia; ²Reumatologia, Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa; ³Dipartimento di Reumatologia, IRCCS Fondazione Policlinico San Matteo, Università di Pavia; ⁴Medicina Interna, Ospedali Riuniti, Bergamo; ⁵Unità di Reumatologia, Policlinico Le Scotte, Università di Siena; ⁶Allergologia Clinica, Immunologia Clinica e Reumatologia Istituto Auxologico Italiano, Milano

Scopo del Lavoro: La Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi è caratterizzata da almeno un evento trombotico e/o una complicanza ostetrica in presenza di una persistente positività degli anticorpi antifosfolipidi. In alcuni modelli sperimentali è stata osservata l'attivazione del complemento in manifestazioni ostetriche correlate agli anticorpi anti fosfolipidi. Pochi studi sull'uomo hanno valutato la presenza di un processo flogistico, complemento-mediato, in placentate a termine di gravidanze con complicanze ostetriche, riportando risultati discordanti. L'obiettivo del presente studio è verificare l'ipotesi di una possibile correlazione tra le complicanze ostetriche e livelli sierici di complemento in pazienti con APS.

Materiali e Metodi: È stato condotto uno studio multicentrico su 41 gravidanze in 29 donne affette da APS, confrontate con un gruppo di controllo composto da 43 gravidanze in 35 donne affette da Sindrome di Sjögren o Connettivite Indifferenziata. Sono stati dosati, mediante nefelometria, i valori sierici del C3 e del C4 sia prima della gravidanza che durante ogni trimestre. In ciascun gruppo le pazienti sono state suddivise in sottogruppi in base alla presenza/assenza di ipocomplementemia. Gli esiti delle gravidanze sono state correlati ai valori di complementemia sierica.

Risultati: La prevalenza delle complicanze ostetriche è risultata maggiore nelle donne affette da APS (29,27%) rispetto al

gruppo di controllo (9,3%) ($p=0,019$) mentre la prevalenza dell'ipocomplementemia è simile nei 2 gruppi posti a confronto ($p=0,22$).

La prevalenza delle complicanze nel sottogruppo di donne con APS e bassi livelli di complemento (62,5%) è risultata superiore in maniera statisticamente significativa rispetto a quella presente nel sottogruppo di APS con normale complementemia (24,24%) ($p=0,02$).

Nei due sottogruppi di controllo (complemento normale e ridotto) non sono state osservate differenze statisticamente significative di prevalenza di complicanze ($p=0,06$). Confrontando le pazienti con complicanze e ipocomplementemia di entrambi i gruppi (APS e controlli) si osserva una prevalenza nettamente superiore delle complicanze nelle APS ($p=0,0139$).

Conclusioni: Le complicanze ostetriche tipiche della PAPS sono state osservate più frequentemente nei casi con consumo di complemento.

Questa osservazione supporta la nostra ipotesi secondo cui l'ipocomplementemia costituisce un parametro predittivo di complicanze gravidiche nelle pazienti con PAPS. Al contrario nelle pazienti con SS e UCTD il profilo complementare sembra non influire sull'esito gestazionale.

Keywords: Complemento, APS, Complicanze ostetriche.

COMPLEMENT INVOLVEMENT IN ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODY-MEDIATED PLACENTAL DAMAGE: PROSPECTIVE STUDY IN APS PREGNANT WOMEN

M. Gerosa^{1,2}, V. De Angelis^{1,2}, L. Trespidi³, B. Acaia³, I. Cetin⁴, S. Calabrese⁴, M. Nebuloni⁴, C. Guarnotta⁵, C. Tripodo⁵, F. Tedesco⁶, P.L. Meroni^{1,2}

¹IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milan; ²Dept. Internal Medicine, University of Milan; ³Dept. Gynecology, Fondazione Policlinico, Milan; ⁴Dept. Clinical Sciences Luigi Sacco, University of Milan; ⁵Dept. Human Pathology, University of Palermo; ⁶Dept. Physiology and Pathology, University of Trieste

Antiphospholipid Syndrome (APS) is characterized by fetal losses in the presence of aPL. aPL are pathogenic & several pathogenic mechanisms were described. Complement (C') activation was reported to play a role in murine models of aPL-induced fetal loss but still debated is whether comparable findings can be found in patients.

Aims: to prospectively investigate C' deposition in placentas from primary APS (PAPS) pregnant women & to evaluate its relationship with pregnancy outcome, histology and therapy.

Methods: PAPS patients were classified according to Miyakis et al. (J Thromb Haemost. 2006). Placenta specimens at delivery or after abortion were collected; clinical/laboratory data were prospectively collected C' deposition was evaluated by immunohistochemistry.

Results: 11 PAPS patients and 5 controls (same gestation weeks) were enrolled; 14 pregnancies (1 twin) in the PAPS and 5 in the control group. 9 placentas after term pregnancy and 4 abortive specimens (3 at 20th and 1 at 25th wg) were collected in the PAPS group. LMWH; 100 IU/Kg/day s.c.) and low

dose ASA (100 mg/day) were used in 11/24 pregnancies, in 2/14 low dose ASA only as 1st pregnancies, while in 1 patient IVIg and low dose corticosteroids were also used because of previous fetal losses in spite of the treatment (LMWH and ASA). Plasma C3 and C4 levels were within the normal ranges in all the samples. Histology: decidual vasculopathy was detectable mainly in PAPS, decidual necrosis and inflammation in some cases and controls.

Intervillous thrombi were found in PAPS cases, while villous infarcts and foci of villitis were detected both in patients and controls.

Immunohistochemistry: C' deposits were constantly detected in PAPS samples while almost absent in controls. Among PAPS samples, a slight degree of variation in the extent of C' deposition was noticeable though it was not gradable.

C1q and C3 were both detected on the endothelium of the decidual vessels showing signs of IgG and/or IgM deposition, as well as in the interstitium among decidual stromal cells at sites of inflammation.

In the decidual vessels, C9/TCC showed a subendothelial distribution.

Similarly to Igs, C1q, C3 and C9/TCC were also detected on the surface of the villous syncytiotrophoblast, with C9/TCC deposits being more conspicuous in infarcted villi.

Conclusions:

- 1) histological analysis does not show any specific pattern and no signs of widespread inflammation in agreement with previous reports;
- 2) C' activation was reported for the 1st time in human APS placentas in a prospective study;
- 3) C' deposition was found both in abortive specimens & in placentas at term, & there was no relationship with therapy.

Keywords: APS, Complement involvement, Placenta.

UTILIZZO DI DOSI AGGIUSTATE DI NADROPARINA ASSOCIATA AD ASPIRINETTA NEL TRATTAMENTO DI DONNE IN GRAVIDANZA CON SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI A BASSO RISCHIO. STUDIO PROSPETTICO DI COORTE

M. Favaro, M. Tonello, T. Del Ross, A. Bontadi, A. Cavazzana, S. Cuffaro, A. Ruffatti, L. Punzi
U.O.C. Reumatologia, Università di Padova

Scopo: Il recente aggiornamento dei criteri di classificazione per la sindrome da antifosfolipidi (APS) ha introdotto il concetto di stratificazione del rischio di trombosi in pazienti con APS sulla base delle caratteristiche cliniche e di laboratorio. I pazienti con più di una positività di un test di laboratorio sono stati classificati nella categoria I (ad alto rischio di trombosi), mentre quelli positivi per un singolo test sono classificati nella categoria II (a basso rischio di trombosi). Inoltre sono stati riconosciuti altri due sottogruppi di APS in accordo con la presenza o assenza di fattori aggiuntivi di rischio trombotico. Il nostro studio valuta l'efficacia e la sicurezza dell'utilizzo di dosi aggiustate di eparina a basso peso molecolare in un'unica somministrazione giornaliera, associate ad aspirina 100 mg/die in donne in gravidanza con diagnosi di sindrome da antifosfolipidi primitiva (APS), senza storia di tromboembolismo e con assenza di triplice positività degli anticorpi antifosfolipidi (aPL): lupus anticoagulant, anticorpi anticardiolipina IgG e anti-B2glicoproteina I IgG.

Materiali e Metodi: Sono state incluse nello studio 33 donne con età media 34,9 anni \pm 4,1 DS (range 25-41) alle quali era stata diagnosticata in precedenza la APS esclusivamente ostetrica sulla base dei criteri di classificazione internazionali. Sono state escluse le donne con fattori aggiuntivi di rischio trombotico.

La nadroparina veniva iniziata al riscontro del test positivo di gravidanza alla dose di 3800 U/die in tutte le pazienti. In donne con peso <60 kg il dosaggio raggiunto era 4275 e 4750

U/die rispettivamente all'inizio del secondo e terzo trimestre, mentre in quelle con peso >60 kg la dose veniva incrementata a 4750 e 5700 U/die rispettivamente all'inizio del secondo e terzo trimestre.

All'inizio della gravidanza veniva associata aspirina 100 mg/die. L'ultima iniezione di nadroparina veniva somministrata 24 ore prima del parto cesareo o all'inizio del travaglio in caso di parto vaginale. Veniva ripresa dopo 12 ore dal parto e continuata al dosaggio di 3800 U/die per 6 settimane. L'aspirinetta veniva interrotta 10 giorni prima del parto.

Risultati: L'esito della gravidanza è stato favorevole in 32 pazienti (97%), che hanno partorito 32 bambini, nati vivi tra la 29^a e la 41^a settimana di gestazione (media 37,4 \pm 2,1 DS). Tutti i neonati erano sani e sopra il 25° percentile. In una donna (3%) la gravidanza è esitata in aborto all'8^a settimana gestazionale. Complicazioni gravidiche sono state registrate in 3 casi (9%): trombocitopenia nel primo o secondo trimestre in due e ipotiroidismo in uno. Non si sono verificati effetti collaterali maggiori con l'utilizzo di questa terapia.

Conclusioni: Dosi aggiustate di nadroparina in mono somministrazione giornaliera associate ad aspirina 100/die mg sono risultate efficaci e sicure nella gestione delle gravidanze in donne affette da sindrome da antifosfolipidi a basso rischio ostetrico.

Keywords: Anticorpi antifosfolipidi, Sindrome da antifosfolipidi, Gravidanza.

anti-Ro/SSA ed in 1 caso gli anti-Ro/SSA erano associati ad anti-La/SSB. In 41 sierii (79%) non è stata riscontrata alcuna positività mediante IP.

Gli anticorpi anti-Su non appaiono correlati ad alcuna caratteristica clinica nelle PAPS, anche se gli anticorpi anti-beta2GPI di isotipo IgG sono significativamente più frequenti nei pazienti senza anticorpi anti-Su ($p=0.0213$). Nessuno dei pazienti con anticorpi anti-Su ha presentato un'evoluzione in LES durante il follow-up.

Per quanto riguarda il quadro IFI, solo 1 dei 7 sierii anti-Su positivi mostra il tipico pattern citoplasmatico dei GWBs, mentre in 2 sierii la IFI è risultata negativa, e negli altri sierii il pattern è eterogeneo.

Conclusione: Gli anticorpi anti-Su rappresentano la specificità anticorpale più frequente (13.4%) nella nostra coorte di pazienti con PAPS.

Gli anticorpi IgG anti-beta2GPI mostrano una correlazione negativa con gli anticorpi anti-Su.

Nessun'altra caratteristica clinica o di laboratorio si è dimostrata in correlazione con gli anticorpi anti-Su nei pazienti con PAPS.

Keywords: Anticorpi anti-Su, GW bodies, Anticorpi anti-nucleo.

SINDROME DA ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI E LESIONI PUNIFORMI DELLA SOSTANZA BIANCA ALLA RISONANZA MAGNETICA. QUAL È IL LORO SIGNIFICATO? VALUTAZIONE DI 169 PAZIENTI CON MANIFESTAZIONI NEUROLOGICHE

C. Casu¹, L. Andreoli¹, M. Codella², R. Cattaneo¹, A. Tincani¹

¹U.O. di Reumatologia e Immunologia Clinica, Spedali Civili di Brescia; ²U.O. di Neurologia, Spedali Civili di Brescia

OBIETTIVO: Valutazione delle manifestazioni neurologiche in 169 pazienti (pz) con diagnosi di Sindrome da Antifosfolipidi Primaria (PAPS) e confronto con le risonanze magnetiche encefaliche (RMN).

Metodi: lo studio comprende 169 pz. (150F e 19M) classificati come PAPS secondo i criteri revisionati (Miyakis et al., 2006). L'età media di esordio era 37,6 anni (range 18-76). Il lupus anticoagulant era positivo in 86 casi (51%), anticorpi anticardiolipina in 151 (84%; IgG 60%, IgM 29%), anticorpi anti-2Glicoproteina I in 166 (98%; IgG 51%, IgM 47%). ANA e anticorpi anti-DNA nativo (a basso titolo) erano positivi nel 50% e 17% dei pz. rispettivamente e anticorpi anti-ENA in 10 (0,6%). I dati clinici e laboratoristici sono stati desunti dalle cartelle cliniche.

Risultati: Il periodo medio di follow-up (FU) è stato di 5,2 anni, mediana 3; (range 0-23 anni). Il 34,3% dei pz aveva esordito con un evento vascolare arterioso e/o venoso, il 45% con un evento ostetrico e il 20,7% con eventi vascolari e ostetrici. Le manifestazioni neurologiche, riscontrate all'esordio oppure durante il periodo di FU, si sono verificate almeno una volta nel 71,6% dei pz. I quadri clinici rilevati sono stati confrontati con l'esito della RMN per valutare una possibile correlazione con il reperto di lesioni puntiformi della sostanza bianca (SHWML). Abbiamo analizzato 71 RMN in 66 pz: 21 erano state eseguite per FU in pazienti asintomatici, mentre 50 erano state eseguite per l'insorgenza di nuovi sintomi (osservati o depositi). È stata quindi esaminata la diversa distribuzione dei sintomi neurologici tra pz con e senza lesioni puntiformi. L'ipertensione arteriosa era presente nel 37% dei pz con SHWML, e nel 17% dei pz senza alcuna alterazione alla RMN. Tra i pazienti con

Tabella I

	Tutti i pazienti (169)%	Pazienti sintomatici con SHWML (14)%	Pazienti asintomatici con SHWML (5)%
Ipertesi	27.2%	28.6%	40%
Borderline	2.4%	0%	0%
Normotesi	70.4%	71.4%	60%

SHWML era iperteso il 40% dei pz asintomatici e solo il 28,6% dei pz sintomatici. I dati sono riassunti nella tabella I.

Conclusione: A testimoniare che la PAPS è una malattia anche neurologica, il nostro studio individua problemi correlati nel 71,6% dei pazienti. La nostra casistica mostra che le lesioni puntiformi non sono sempre presenti e quando si repertano non sembrano avere caratteri di specificità infatti la loro distribuzione tra i pz sintomatici e asintomatici non è statisticamente significativa. L'ipertensione potrebbe essere considerata un fattore confondente, responsabile di alcune delle SHWML che si ritrovano nei pz asintomatici. Il dibattito sul significato delle SHWML rimane ancora aperto. Il nostro studio sottolinea come le lesioni puntiformi della sostanza bianca individuate in pz con PAPS siano di difficile interpretazione considerato che possono essere associate o non associate alle manifestazioni neurologiche.

Keywords: Antifosfolipidi, Lesioni puntiformi, RMN.

ANTICORPI ANTIFOSFOLIPIDI: È POSSIBILE DISTINGUERE GLI ANTICORPI “INNOCENTI” DA QUELLI “TROMBOFILICI”? ANALISI DELLA FINE SPECIFICITÀ DIRETTA VERSO I DOMINI DELLA BETA2GLICOPROTEINA I

L. Andreoli¹, C. Nalli¹, M. Motta², G.L. Norman³, Z. Shums³, W.L. Binder³, M. Nuzzo¹, M. Frassi¹, A. Lojcono⁴, T. Avcin⁵, P.L. Meroni⁶, A. Tincani¹

¹Reumatologia e Immunologia Clinica, Spedali Civili, Brescia; ²Neonatalogia e Terapia Intensiva Neonatale, Spedali Civili, Brescia; ³INOVA Diagnostics, Inc., San Diego, CA, USA; ⁴Ginecologia e Ostetricia; Spedali Civili, Brescia; ⁵Allergologia, Reumatologia e Immunologia Clinica, Ospedale Pediatrico, Lubiana, Slovenia; ⁶Allergologia, Immunologia Clinica e Reumatologia, Istituto Auxologico Italiano, Milano

Scopo del Lavoro: Gli anticorpi anti- β 2glicoproteina I (anti- β 2GPI) sono associati alla Sindrome da Anticorpi Antifosfolipidi (APS); tuttavia, è possibile riscontrarli in soggetti asintomatici, affetti o meno da concomitanti malattie autoimmuni sistemiche (MAS). Sono stati inoltre descritti in bambini in età prescolare, verosimilmente in risposta a fatti infettivi o all'esposizione alla β 2GPI tramite gli alimenti, senza peraltro alcuna associazione con trombosi e/o MAS. In effetti, è stato suggerito che diverse sottopopolazioni di anti- β 2GPI posseggano un diverso potenziale patogenetico. Gli anticorpi diretti verso il dominio 1 (D1) della β 2GPI sembrano essere maggiormente patogenetici e, quindi, specifici per APS. Anticorpi che riconoscono invece il dominio 4/5 (D4/5) sono stati descritti in bimbi con dermatite atopica (DA) e soggetti con patologia cardiovascolare non trombotica. Scopo dello studio è l'analisi della fine specificità degli anti- β 2GPI in diverse coorti di soggetti adulti e in età prescolare.

Materiali e Metodi: Sono stati inclusi 39 bambini all'età di un anno, nati da madri con MAS (11 PAPS, 9 LES, 9 UCTD, 6 Sjögren, 3 MCTD, 1 AR; 13 delle quali (33%) con anti- β 2GPI positivi), e 33 bambini affetti da DA. Come confronto, 54 pazienti adulti con APS (47 PAPS, 7 associata a LES) e 5 bambini con APS pediatrica. Tutti i soggetti inclusi nello studio sono risultati positivi per IgG anti- β 2GPI alla metodica ELISA home-made utilizzata routinariamente presso il nostro laboratorio. I campioni sono stati testati per IgG anti- β 2GPI D1 e D4/5 su piastre ELISA contenenti peptidi ricombinanti di D1 e D4/5 rispettivamente (prodotti ad uso di ricerca: QUANTA Lite ELISA, INOVA Diagnostics, USA). Il cut-off θ stato individuato come 95° percentile su un gruppo di 50 controlli sani adulti.

Risultati: I bimbi ad un anno di età e quelli affetti da DA han-

Tabella I

	D1+D4/5-	D1-D4/5+	D1+D4/5+
Bimbi 1 anno (n=39)	2.5%	33%	8%
DA (n=33)	15%	30%	3%
APS adulta (n=54)	61%	7.4%	3.7%
APS pediatrica (n=5)	50%	17%	0%

no mostrato una reattività prevalente per D4/5, mentre i soggetti con APS, sia adulta che pediatrica, sono risultati positivi soprattutto per D1. Le percentuali dei diversi pattern di positività sono riportate in tabella.

È stata riscontrata una buona correlazione tra i titoli di anti- β 2GPI e anti-D4/5 nei bimbi a 1 anno e con DA ($r=0.85$, $r=0.88$) e anti-D1 nei pazienti adulti con APS ($r=0.66$). Questo suggerisce che la reattività verso un particolare dominio rifletta la specificità prevalente dell'intera popolazione autoantidropale.

Nessun evento trombotico è stato registrato nei bambini ad un anno di età né in quelli con DA.

Conclusioni: La prevalente specificità per D4/5 che caratterizza gli anti- β 2GPI in età infantile, in contrasto con quella per D1 riscontrata in soggetti con APS, potrebbe spiegare il profilo “innocente” di questi anticorpi. Il nostro studio supporta l'ipotesi che diverse sottopopolazioni di anti- β 2GPI posseggano diverso potenziale patogenetico.

Keywords: Anti-beta2glicoproteina I, Domini beta2glicoproteina I, Immunità naturale.