

RIAP

immunologia
pediatria
rivista
Allergologia



Organo Ufficiale della Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Pediatrica

Direttore Editoriale e Scientifico
Alberto E. Tozzi

Comitato di Redazione
Fabio Cardinale, Giovanni Cerimoniale,
Silvia Di Michele, Marina Macchiarelli, Daniele Radzik,
Luigi Terracciano

Direttore Responsabile
Patrizia Alma Pacini

Segreteria Scientifica
Manuela Moncada

Segreteria di Redazione
Lisa Andreazzi

Progetto Grafico
Massimo Arcidiacono

Editore
Pacini Editore S.p.A. - Via Gherardesca - 56121 Pisa

Stampa
Industrie Grafiche Pacini - Pisa

Copyright by
Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Pediatrica



Presidente
Francesco Paravati

Consiglio Direttivo
Roberto Bernardini, Fabio Cardinale,
Gian Luigi Marseglia, Stefano Miceli Sopo,
Daniele Radzik, Guglielmo Scala

04

agosto 2009 • anno XXIII

PACINI
EDITORE
MEDICINA

Per la corrispondenza scientifica:

Alberto E. Tozzi, Manuela Moncada
E-mail: redazioneriap@gmail.com

Responsabile pubblicità e iniziative speciali:

Manuela Mori
Pacini Editore S.p.A.
Tel. 050 3130217
E-mail: mmori@pacinieditore.it

Abbonamenti

La Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica è bimestrale.

Viene inviata gratuitamente a tutti i soci della Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Pediatrica (SIAIP) e della Società Italiana di Pediatria (SIP).

I prezzi di abbonamento per l'anno 2009

per i non soci sono i seguenti:

Italia: Euro 73; Estero: Euro 83;

Singolo fascicolo: Euro 26.

Le richieste di abbonamento e ogni altra corrispondenza relativa agli abbonamenti vanno indirizzate a:

Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica
Pacini Editore S.p.A.

Via Gherardesca - 56121 Pisa

Tel. 050 313011 - Fax 050 3130300

E-mail: abbonamenti@pacinieditore.it

<http://www.pacinimedica.it>

I dati relativi agli abbonati sono trattati nel rispetto delle disposizioni contenute nel D.Lgs. del 30 giugno 2003 n. 196 a mezzo di elaboratori elettronici ad opera di soggetti appositamente incaricati. I dati sono utilizzati dall'editore per la spedizione della presente pubblicazione. Ai sensi dell'articolo 7 del D.Lgs. 196/2003, in qualsiasi momento è possibile consultare, modificare o cancellare i dati o opporsi al loro utilizzo scrivendo al Titolare del Trattamento: Pacini Editore S.p.A. - Via A. Gherardesca 1 - 56121 Pisa.

Finito di stampare
presso le Industrie Grafiche
della Pacini Editore S.p.A. - Pisa
Settembre 2009



Le fotocopie per uso personale del lettore possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun fascicolo di periodico dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633.

Le riproduzioni effettuate per finalità di carattere professionale, economico o commerciale o comunque per uso diverso da quello personale possono essere effettuate a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da AIDRO, Corso di Porta Romana n. 108, Milano 20122, E-mail: segreteria@aidro.org e sito web: www.aidro.org.

Aut. Trib. di Pisa n. 14/86 dell'11/11/86

EDITORIALE

Abbasso Power Point

1

NEWS



2



Enterocolite allergica da proteine del latte vaccino o anafilassi gastro-intestinale?

Maria Giovanna Limongelli, Giuseppe Furcolo, Maria Majorana, Iride Dello Iacono

PER VOI GIOVANI

4

RIAP online

www.riap.it

10

PIÙ IN DETTAGLIO

IPEX e APECED: due esempi di come immunodeficienza e autoimmunità possono coesistere

Eleonora Gambineri, Maurizio de Martino



12



La memoria immunitaria: chi fa gli anticorpi?

Rita Carsetti

CLICK

24

NOI FACCIAMO COSÌ...

30

Un canale dedicato alla prevenzione e sorveglianza degli eventi avversi a vaccini

Giovanna Zanoni, Fabiola Micheletti, Ilaria Lucchi, Giovanna Frison, Francesca Russo, Giuseppe Tridente



Revisione delle cause associate all'orticaria cronica in gruppi di bambini

A cura della Commissione "Allergia a farmaci, lattice ed orticaria" della SIAIP
Roberto Bernardini, Carlo Caffarelli, Fabio Maria Agostinis, Salvatore Barberi, Barbara Cuomo, Fabio Cardinale, Fabrizio Franceschini

PIÙ IN DETTAGLIO

37

RIAP Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica

Norme editoriali

La rivista fornisce un aggiornamento periodico su argomenti relativi all'allergologia, all'immunologia pediatrica e alle vaccinazioni, tenendo conto del largo pubblico che comprende anche pediatri generalisti e privilegiando comunque i metodi della medicina basata sulle evidenze.

Le rubriche alle quali gli autori possono contribuire sono le seguenti:

Edizione straordinaria

Si tratta di contributi originali dedicati a lavori scientifici che non sono stati ancora pubblicati oppure di articoli che meritano di essere letti il più presto possibile. A questi contributi viene data la massima priorità per la pubblicazione.

Più in dettaglio

La rubrica contiene revisioni narrative o sistematiche su un argomento specifico. In alternativa la rubrica ospita un approfondimento su un tema tra quelli oggetto della rivista strutturato in domande e risposte.

La casella

La rubrica contiene una discussione su un argomento clinico che può essere sviluppata su una lista di discussione elettronica o ex novo con il contributo di più autori ognuno dei quali esprime il proprio punto di vista o parere.

Click

Si tratta di brevi contributi che formulano un quesito clinico con relativa risposta a partire da un'immagine fotografica relativa a un caso clinico o altri argomenti tra quelli trattati nella rivista.

Per voi giovani

Un contributo relativo agli argomenti della rivista sviluppato da autori con età inferiore o uguale a 40 anni. Possono essere presi in considerazione contributi da tesi di specializzazione o altri contributi originali o di revisione.

La cassetta degli attrezzi

In questa rubrica vengono ospitati contributi circa le caratteristiche di una molecola utilizzata per la terapia o di strumenti diagnostici. Il contributo è sintetico e prevede una mini-review per stabilire parametri di efficacia e di performance (inclusi NNT e NNH per le terapie, e valori predittivi e likelihood ratio per le tecniche diagnostiche). In alternativa la rubrica ospita contributi sintetici sull'uso di strumenti di base dell'EBM, delle risorse disponibili sul web ed altre innovazioni tecnologiche.

Linee guida

Una revisione critica o una presentazione di una o più linee guida o revisioni sistematiche su un argomento clinico, privilegiando la discussione sulle difficoltà di implementazione ed applicabilità delle raccomandazioni.

La parola ai genitori

Uno spazio riservato all'interazione tra pediatri e genitori. Ospita moduli informativi originali o tradotti da altre lingue riguardo i problemi clinici trattati dalla rivista, contributi originali sviluppati direttamente dai genitori come indagini di opinione, oppure discussioni su argomenti clinici e di EBM.

Consegna e revisione dei contributi

I contributi devono essere inviati alla redazione della rivista all'indirizzo email redazione@riap.it indicando la rubrica alla quale si vuole contribuire. Qualora per motivi editoriali (di stile e contenuto) si suggeriscano delle modifiche ai contributi, questi vengono restituiti all'autore e successivamente inviati alla casa editrice. Una volta ricevute dalla casa editrice le bozze impaginate dei contributi, queste verranno inviate via email agli autori, che avranno 4 giorni per poterle approvare ed inviare al direttore. In caso di mancato feedback dagli autori, la casa editrice procederà alla stampa. Il referente per gli autori è sempre il direttore della rivista.

Formato dei contributi

Tutti i contributi devono essere inviati con un file elettronico in formato word (o open office). Per il calcolo della lunghezza dei contributi riassunti nella tabella che segue, si raccomanda di utilizzare lo strumento "strumenti-conteggio parole" e leggere il numero di caratteri spazi inclusi di tutto il testo. A titolo di esempio una pagina ad interlinea singola scritta in carattere a corpo 12 Times New Roman conta circa 4700 caratteri spazi inclusi.

Il numero di caratteri orientativo per ciascuna rubrica è:

Rubrica	Numero di caratteri	Numero tabelle e/o figure
Edizione straordinaria	15.000-18.000	4
Più in dettaglio	15.000-18.000	4
La casella	10.000-12.000	
Click	4.000	3-4
Per voi giovani	10.000-12.000	2
La cassetta degli attrezzi	10.000-12.000	2-3
Linee guida	15.000-20.000	3-4
La parola ai genitori	10.000-12.000	2

Foto, figure e tabelle

Tutte le immagini che accompagnano un contributo devono essere corredate di una didascalia. Le tabelle e le figure devono avere un titolo e devono essere numerate, in modo da facilitare il riferimento nel testo. Le figure devono essere inviate in un file separato da quello di testo in formato JPG, TIFF o PPT.

Bibliografia

La bibliografia deve limitarsi ai riferimenti più rilevanti. Questi sono identificati nel testo con numeri arabi ed elencati alla fine del manoscritto in ordine di citazione. Il titolo dell'articolo deve essere in corsivo. Di seguito un esempio di bibliografia corretta:

Moher D, Schulz KF, Altman G. *The Consort statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomised trials*. Lancet 2001;357:1191-4.

Quando gli autori non sono più di sei devono essere indicati tutti in bibliografia; se invece sono più di sei, si scrivono i nomi degli autori fino al sesto compreso, e si aggiunge et al. Ecco riportato un esempio:

Allen J Wilcox, Rolv Terje Lie, Kari Solvoll, Jack Taylor, D Robert McConaughy, Frank Åbyholm, et al. *Folic acid supplements and risk of facial clefts: national population based case-control study*. BMJ 2007;437:322-9.

Abbasso Power Point

Sulla stampa nazionale e internazionale sono comparse negli ultimi tempi alcune discussioni sull'uso inopportuno di Power Point e sull'effetto (negativo) che il noto software avrebbe nei confronti della qualità delle presentazioni. Power Point ed il suo omologo Keynote per Apple sono ormai diventati standard per qualsiasi incontro di lavoro, sia che l'obiettivo sia la presentazione di un bilancio aziendale, sia che si tratti di una lezione universitaria oppure di una presentazione ad un congresso scientifico. I detrattori dell'uso del software sostengono che l'amore per lo strumento tecnico ha azzerato la capacità di intrattenere le persone, che invece dovrebbe essere l'elemento determinante delle presentazioni. La proposta è il divieto di usare Power Point! Non più infinite serie di diapositive che scorrono senza la possibilità di intercettare il contenuto e che tradiscono un trasandato e rapido assemblaggio della collezione di slides usate per altri scopi. Fine delle diapositive karaoke che vengono attentamente lette e che stendono al tappeto il più volenteroso spettatore. Basta con le diapositive piene di testo scritto tanto piccolo che non si capisce niente. E morte agli effetti speciali, ai disegni e alle animazioni che fanno venire voglia degli occhiali da sole. Come vi sentireste a partecipare ad un congresso nel quale le presentazioni sono senza diapositive, il presentatore e basta? Meglio o peggio?

Forse la critica è eccessiva, ma una riflessione su come raccontare i risultati di uno studio bisogna farla. E, vorrei spingermi ancora oltre, il modo di presentare dovrebbe seguire regole formali, forse andrebbe studiato e non solo da chi deve occuparsi di presentare dati ad un congresso. Ci sono soluzioni di compromesso? Proviamo almeno a intravedere qualche piccolo rimedio. Troppe volte le diapositive che scorrono durante una presentazione dovrebbero piuttosto trovare spazio in un documento che possa essere distribuito al pubblico. È impossibile che chi ascolta ricordi il riferimento bibliografico della diapositiva numero 7 e la percentuale raggiunta dalla barra dei neonati nel secondo diagramma a destra della stessa slide. Un veloce e fitto bombardamento di informazioni potrà produrre una sensazione piacevole o spiacevole, ma difficilmente lascerà una traccia tangibile e la memoria di tutti i numeri e i dati che sono contenuti nelle slides. La soluzione è semplificare. Uno degli esercizi che dovremmo fare consiste nel cancellare tutte le parole inutili che compaiono nella diapositiva fino a lasciare solo quelle essenziali per sottolineare il concetto. Un emblematico aneddoto riportato nei testi che si occupano di presentazioni attraverso le immagini, racconta del gestore di una pescheria che monta una nuova insegna per il suo negozio con la sagoma di un pesce e la scritta "Qui si vende pesce fresco". Il primo amico che vede la nuova insegna gli suggerisce di cancellare la parola "Qui", "Non c'è bisogno di scriverlo", dice. Prima parola cancellata. La moglie gli dice "Inutile scrivere 'si vende', è ovvio che questo è un negozio!". Due parole in meno. Il fratello pensa "Che forse ci sono pescherie che vendono pesce avariato? Cancella pure 'fresco'". Ancora una parola in meno. E infine il figlio dice "Papà, ma se c'è il disegno che lo scrivi a fare 'Pesce'?". E così il nostro pescatore rimane con un'insegna con la sola immagine della sagoma di un pesce. Si dovrebbe fare altrettanto con le diapositive di una presentazione. Le immagini servono per trovare un simbolo a supporto di quello che il presentatore ha da dire, una specie di sottolineatura o di punto esclamativo dei concetti che solo la voce umana è in grado di spiegare. Poche, semplici, che non interferiscano con il racconto di chi deve presentare e che permettano a chi ascolta di concentrarsi sulla storia. Come il pescivendolo.

Lo so, non c'è software che tenga se chi deve presentare non è in grado di catturare l'interesse della platea. Anche se buttiamo a mare Power Point, non ci troveremo automaticamente ad assistere a presentazioni degne di un film di Hitchcock. Ma figuriamoci se uno non sa presentare e usa pure delle slides sgraziate e poco intelleggibili. Io non credo che ci sia bisogno di proscrivere Power Point, ma di dedicare maggiore attenzione alle presentazioni, questo sì. Il software per le presentazioni può diventare un formidabile alleato se usato a dovere. E allora promessa solenne: dedichiamoci alla semplificazione, promuoviamola e proviamo ad applicarla. Non c'è dubbio che gli studenti e i partecipanti ai congressi ringrazieranno calorosamente.

Alberto E. Tozzi
redazioneriap@gmail.com

A(H1N1)V A PIÙ NON POSSO

Più che un articolo una pagina dedicata. Quella dei CDC di Atlanta la conoscono tutti. Meno famosa (per ora) quella di *New England Journal of Medicine*. La maggior parte degli articoli finora pubblicati riguardano l'effetto della vaccinazione. Da tenere presente che la prestigiosa rivista americana ha una "fast track" molto rapida per la pubblicazione degli studi su questo argomento. Completa il quadro una mappa interattiva dei casi, ormai un must per qualunque sito web, e una sezione di news.

Indirizzo web: <http://h1n1.nejm.org/>

IGNORANZA IMMUNOLOGICA

Una review che ospita profonde riflessioni sul meccanismo delle malattie autoimmuni. Dalla predisposizione genetica, ai fattori scatenanti ambientali.

Una serie di riflessioni sui meccanismi della *molecular mimicry* che insistono sul fatto che se un antigene esercita questo meccanismo, deve esistere un modo con il quale nella malattia autoimmune il sistema immunitario deve silenziare la tolleranza o l'ignoranza immunitaria necessaria per proteggere gli antigeni *self*. Nella review vengono esaminati alcuni modelli animali ed in particolare quelli che riguardano il diabete tipo 1 ed il ruolo del citocromo P450 2D6.

Christen U, et al. Viral triggers for autoimmunity: Is the 'glass of molecular mimicry' half full or half empty? *J Autoimmun* 2009, Agosto.

DALLA PARTE DELLE FAMIGLIE

Nel periodo in cui si discute vivacemente della riforma sanitaria negli USA, uno studio che mette in evidenza le difficoltà delle famiglie afro-americane nell'accesso a un'assistenza adeguata per la cura dell'asma in età pediatrica. Si tratta di uno studio qualitativo condotto su 28 genitori di bambini con asma bronchiale nell'area metropolitana di Atlanta. Le barriere principali per un'adeguata cura riguardano per la maggior parte questioni finanziarie. Lo studio mette anche in evidenza un impatto significativo dal punto di vista psicologico sia nei bambini che nei genitori. Gli autori concludono che la gestione dell'asma deve essere adattata opportunamente nelle popolazioni a basso reddito con difficoltà di accesso all'assistenza sanitaria.

Laster N, et al. Barriers to asthma management among urban families: caregiver and child perspectives. *J Asthma* 2009;46:731-9.

LA VITAMINA A FA BENE ALL'ASMA?

Magiche vitamine! Da tempo si discute sul ruolo di bassi livelli di antiossidanti nelle malattie allergiche inclusa l'asma. Uno studio prova a fare il punto sulla vitamina A e sui carotenoidi confrontando i livelli di vitamina A, beta-carotene, del colesterolo e dei trigliceridi in un gruppo di bambini con asma e un gruppo di controllo di età compresa tra 6 e 18 anni. I livelli di vitamina A erano significativamente più bassi nei bambini con asma rispetto ai controlli mentre non è stata riscontrata alcuna differenza negli altri esami effettuati. La vitamina A potrebbe avere un ruolo eziologico nell'asma.

Al Senaidy AM. Serum vitamin A and beta-carotene levels in children with asthma. *J Asthma* 2009;46:699-702.

COME SI FA L'IDRATAZIONE DELLA CUTE

Uno studio americano torna sull'argomento dell'idratazione nei pazienti con dermatite atopica. Nonostante la raccomandazione di idratare la cute di questi pazienti, non ci sono molte notizie sull'efficacia di questo approccio, né sulle corrette modalità di esecuzione di questa procedura. Gli autori di questo studio provano a quantificare lo stato di idratazione con varie combinazioni di bagno e idratazione. I bambini in studio sono pochi: 5 con dermatite atopica e 5 sani. Gli interventi provati sono stati: bagno senza emolliente; bagno e applicazione immediata di emolliente; bagno e applicazione ritardata di emolliente; solo emolliente. I pazienti venivano sottoposti alle differenti combinazioni con un disegno crossover. Nei bambini con dermatite atopica l'emolliente da solo sembra avere il miglior effetto idratante. A seguire il bagno con applicazione immediata dell'emolliente, poi quella ritardata e infine il bagno da solo. I bambini con dermatite atopica avevano, in confronto con quelli sani, un'idratazione peggiore a parità di trattamento.

Chiang C, et al. Quantitative assessment of combination bathing and moisturizing regimens on skin hydration in atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol* 2009;26:273-8.

ANDARE ALL'ASILO FA BENE ALL'ASMA

Uno studio condotto negli USA ha valutato l'effetto dell'esposizione all'ambiente comunitario scolastico sul rischio di sviluppare asma bronchiale. Lo studio include quasi 1000 bambini e esamina l'esposizione all'ambiente scolastico prima dei 15 mesi di vita e fino a 3 anni. La frequenza scolastica da 15 a 36 mesi sembra rappresentare un fattore protettivo nei confronti dell'asma tardivo. L'effetto osservato sembra indipendente dal numero di episodi infettivi delle prime vie aeree. Gli autori suggeriscono di approfondire anche il ruolo del numero di bambini incontrati nell'ambiente scolastico.

Gurka MJ, et al. Risk of childhood asthma in relation to the timing of early child care exposures. *J Pediatr* 2009; Agosto.



Enterocolite allergica da proteine del latte vaccino o anafilassi gastro-intestinale?

CASO CLINICO

S. è un secondogenito con anamnesi familiare e personale negativa per malattie allergiche. A 40 giorni di vita, per una ipogalattia materna, assume integrazione con formula presentando, la prima volta, vomito a getto dopo due ore dall'ingestione di circa 60 ml, senza compromissione dello stato generale e, la seconda volta, vomito profuso ed "abbattimento" dopo circa tre ore dall'introduzione. La Pediatra curante esegue: skin prick test (SPT) con lattalbumina, beta-lattoglobulina e caseina: negativi; prick by prick latte formulato: negativo. Si orienta per una allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) non immunoglobulina (Ig)E-mediata e pone il piccolo a dieta con latte di soia. Dopo sei settimane S. giunge alla nostra osservazione. Si conferma la negatività dei test cutanei e delle IgEs per latte vaccino (LV) e si effettua test di provocazione orale (TPO): 0,3 g di proteine di LV/kg PC in un'ora. Dopo circa 20 minuti dalla dose bolo, S. presenta vomito profuso e ipotensione lieve, risolti rapidamente con infusione di soluzione fisiologica. Nei giorni successivi presenterà diarrea striata di sangue. Confermiamo il sospetto diagnostico di enterocolite allergica da latte vaccino e prescriviamo prosecuzione della dieta di esclusione dell'alimento. S. ritorna alla nostra osservazione dopo 18 mesi per ripetere TPO. SPT con lattalbumina e caseina risultano negativi; SPT con beta-lattoglobulina è positivo: 5 mm diametro medio; prick by prick LV fresco positivo: 7 mm; IgEs LV: 10 KUA/l. Effettua secondo TPO, seguendo lo schema della graduale somministrazione poiché risulta, allo stato attuale, IgE positivo. Nessuna manifestazione clinica fino alla dose bolo di 100 ml che evoca, in successione: vomito profuso, edema della glottide, stato letargico e shock (pressione arteriosa 50/20). Si somministra adrenalina i.m., cortisonico ed idratazione massiva e.v.

Il caso clinico offre lo spunto per una diagnostica differenziale tra manifestazioni IgE e non IgE-mediate, quando coesistenti nello stesso paziente. La risposta clinica al secondo TPO evoca un quadro di anafilassi gastro-intestinale e pone, in questi rari casi, il quesito su quale sia la modalità corretta di esecuzione del TPO e sull'epoca ideale per effettuare tale test, quando volto a valutare l'acquisita tolleranza.

Enterocolite allergica o food protein-induced enterocolitis syndrome: un pò di storia...

Nel 1940, Rubin descrisse un bambino con severa diarrea ematica responsiva alla dieta priva di LV¹.

Nel 1967 Grybosky descrisse 21 bambini in cui challenges orali dimo-



Maria Giovanna Limongelli
Giuseppe Furcolo
Maria Majorana
Iride Dello Iacono

Unità Operativa di Pediatria,
Ospedale Fatebenefratelli,
Benevento

gianna76@virgilio.it

La dott.ssa Limongelli è la vincitrice del Premio SIAIP-Mead Johnson 2009, conferito ogni anno alla migliore comunicazione o al miglior poster presentato al Congresso Nazionale SIAIP nel campo della ricerca allergologica e immunologica pediatrica. L'articolo qui presentato è un ampliamento del poster vincitore del premio.

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse rispetto all'argomento trattato nell'articolo.

strarono sintomi gastrointestinali associati ad ingestione di LV ².

Nel 1978 Powell ³ caratterizzò meglio i segni clinici di questa affezione, proponendo i seguenti criteri per la diagnosi di enterocolite allergica:

- inizio dei sintomi prima dei due mesi di vita;
- una risposta positiva al challenge eseguito durante i primi nove mesi di vita;
- la cessazione della diarrea con l'eliminazione della proteina sospetta;
- la ricorrenza dei sintomi dopo ingestione della proteina *offending*.

Nel 1998 Sicherer ⁴ puntualizzò le caratteristiche cliniche della enterocolite allergica in una review di 16 pazienti con *food protein-induced enterocolitis syndrome* (FPIES), ampliando i criteri iniziali proposti da Powell e includendo pazienti che avevano un'età superiore ai 2 mesi al momento della diagnosi. Tali pazienti furono considerati "tipicamente" affetti da FPIES poiché mostravano i seguenti segni clinici:

- età inferiore ai 9 mesi alla diagnosi iniziale;
- la ripetuta esposizione all'alimento incriminato suscitava diarrea e/o vomito ripetuto entro 24 ore senza nessuna altra causa dei sintomi;
- non vi erano sintomi, oltre a quelli gastrointestinali, provocati dall'alimento incriminato;
- la rimozione delle proteine offending dalla dieta comportava la risoluzione dei sintomi;
- un challenge orale standardizzato provocava diarrea e/o vomito entro 24 ore dalla somministrazione dell'alimento;
- se monitorato durante un challenge, un aumento della conta assoluta di neutrofili al di sopra di 3550/mm³ a 5 ed 8 ore dal challenge costituiva un segno evidente addizionale di una risposta positiva.

Tipicamente i soggetti descritti da Sicherer erano negativi alla ricerca delle IgE nei confronti degli alimenti offending (principalmente LV e sola). Sei ulteriori soggetti, che soddisfacevano i criteri clinici di FPIES, ma che avevano più di 9 mesi di età alla diagnosi o che presentavano anticorpi IgE verso l'alimento incriminato erano considerati avere una FPIES "atipica". La FPIES non è, certamente, patologia IgE-mediata, come dimostrato dalla negatività degli SPT e della ricerca delle IgE sieriche nella stragrande maggioranza dei

casi. Pur tuttavia, sono stati segnalati reports di FPIES che rispondevano ai criteri clinici, in cui i bambini mostravano IgE nei confronti delle proteine causali, sia alla presentazione che durante il follow-up. Questi bambini avevano un decorso più prolungato dell'allergia, non potendosi escludere la progressione verso reazioni tipiche che riflettono la sensibilità IgE-mediata. Sicherer ritiene pertanto prudente che, nel seguire il decorso della FPIES, si includa lo screening delle IgE per gli alimenti sospetti ⁵.

PATOGENESI

Recenti studi hanno evidenziato il ruolo delle cellule T e l'importanza del *tumor necrosis factor* (TNF)- α nella patogenesi dell'affezione. Heyman et al. ⁶ hanno dimostrato che l' α -interferon, secreto da cellule T proteino-specifiche nei confronti del LV, è in grado di incrementare la permeabilità intestinale, contribuendo, in tal modo, al passaggio di antigeni nella sottomucosa, con successiva attivazione di linfociti antigene-specifici. Inoltre, l' α -interferon fecale, è stato anche riscontrato in concentrazioni aumentate dopo challenge positivo con proteine del LV, in pazienti con reazioni gastrointestinali indotte da tale alimento ⁷. Si è, infine, ipotizzato, un deficit di risposta di β -*transforming growth factor* (TGF), fattore citochino-regolatore, che agisce nella protezione della barriera epiteliale dell'intestino dalla penetrazione di antigeni estranei, accanto ad una eccitata risposta α -TNF, nella patogenesi immunitaria della malattia ⁸.

Diagnosi di *food protein-induced enterocolitis syndrome*

La FPIES infantile è una diagnosi clinica: si manifesta con vomito incoercibile e/o diarrea profusa con possibile progressione, in circa il 20% dei casi, verso la disidratazione e lo shock ipovolemico. I sintomi insorgono tipicamente dopo 2-3 ore dall'assunzione dell'alimento sospetto e regrediscono completamente dopo la sospensione dello stesso (Tab. I). Non sono riportati studi in cui biopsie intestinali siano state eseguite unicamente per questa diagnosi. Tuttavia, in alcuni case reports di soggetti che rispondevano ai criteri clinici di una FPIES, biopsie del colon effettuate in pazienti sintomatici, hanno rivelato ascessi criptici ed un diffuso infiltrato cellulare infiammatorio con predominanti plasmacellule; biopsie intestinali del piccolo intestino hanno mostrato edema,

TAB. I.
Segni clinici di FPIES (LV o soia) (da Sicherer, 2005²⁰, mod.).

Segni generali	Sintomi e segni di laboratorio durante la continua ingestione dell'alimento causale	Sintomi e segni di laboratorio che seguono all'ingestione dopo un periodo di evitamento
Esordio prima infanzia	Vomito	Vomito dopo circa 2 h dall'ingestione
Percentuale di allergia sia al LV che a soia: 50%	Diarrea (sangue e sostanza riducenti pos.)	Diarrea dopo circa 5 h dall'ingestione
IgEs negative verso le proteine causali	Letargia/stato settico	Letargia
Decorso: usualmente guarisce in 2-3 anni	Disidratazione	Possibile progressione verso acidosi, metaemoglobinemia, ipotensione e shock (20%)
Sesso: 60 % maschi	Ipotensione	Elevata conta di polimorfonucleati (PMN)
Storia familiare di atopia: 75%	Metaemoglobinemia	
Storia familiare di allergie: 20%	Ipoalbuminemia	
D.A.: 25%		
Asma/rinite: 20%	Perdita di peso	
Tolleranza verso latte materno (LM) e idrolisato spinto di caseina		

infiammazione acuta e lieve insulto sui villi. In alcuni casi, sono state descritte una gastrite erosiva focale ed una esofagite con una predominante eosinofilia⁹. Murray e Christie hanno riportato sei bambini che si sono presentati con acidosi e metaemoglobinemia, con cianosi evidente clinicamente su circa 17 FPIES. La metaemoglobinemia si ipotizzava fosse il risultato dell'incremento della eme-ossidazione, causata da una elevazione di nitriti nell'intestino per la ridotta attività catalasica durante l'infiammazione¹⁰.

Numerose affezioni gastrointestinali entrano in diagnosi differenziale (DD) con la FPIES (Tab. II)¹¹; vanno considerate anche: infezioni

(sepsi); disordini metabolici, affezioni chirurgiche (invaginazione intestinale); enterocolite necrotizzante, soprattutto nei neonati e nei pretermine.

Il "gold standard" per la diagnosi di enterocolite allergica, come per altre forme di allergie alimentari, è costituito dal TPO con l'alimento sospetto. Sicherer⁵, tuttavia, sostiene che un challenge confermatario non dovrebbe essere necessario quando manifestazioni tipiche della sindrome ricorrono dopo ingestione dell'alimento sospetto (particolarmente più di una volta) e non ci sono spiegazioni diverse dei sintomi. Ne deriva che la necessità di

TAB. II.
Diagnosi differenziale (numerosi affezioni gastrointestinali entrano in diagnosi differenziale con la FPIES) (da Sampson et al., 2000¹¹, mod.).

Malattia	Sintomi fondamentali	Segni differenziali da FPIES
Proctite da proteine dietetiche	Feci striate di sangue	Non vomito, usualmente allattati al seno, assenza di sintomi costituzionali
Enteropatia da proteine dietetiche	Diarrea, vomito, edema, perdita di peso	Nessuna reazione acuta con la riesposizione, vomito meno evidente, diarrea non ematica
Reflusso latte-indotto	Vomito	Non sintomi del basso intestino
Gastroenteropatia eosinofila	Dipende dai siti di infiammazione; può includere vomito, ostruzione, sanguinamento gastrico o colico	Più comunemente riguarda alimenti plurimi. Test + per IgE. Nessun inizio acuto dei sintomi gastrointestinali e sistemici

un challenge orale alimentare per confermare la diagnosi dovrebbe essere determinata sulla base di motivazioni cliniche. Al contrario, questa modalità è più tipicamente usata per monitorare lo sviluppo della tolleranza.

Powell suggerisce di monitorare ed interpretare i sintomi evocati al challenge, secondo alcuni criteri che dovrebbero richiedere la colorazione per gli eosinofili fecali (Tab. III) ⁵. Tali criteri, tuttavia, non sono sistematicamente validati; certamente dovrebbero essere inclusi sintomi clinici addizionali, quali l'ipotensione e lo shock. In considerazione del dato che tali complicanze possano presentarsi nel 20% circa dei pazienti con FPIES, è sempre opportuno incannulare una vena periferica prima di eseguire il TPO.

Fogg et al. ¹² hanno studiato il ruolo dell'*atopy patch test* (APT) nella diagnosi del FPIES in uno studio prospettico non controllato versus TPO. Gli autori concludono che l'APT nella FPIES ha un valore predittivo positivo del 75%, valore predittivo negativo del 100%, sensibilità del 100% e specificità del 71%. Qualora in studi ulteriori, standardizzando l'esecuzione del test, tali risultati dovessero essere riconfermati, l'APT sembrerebbe essere un esame diagnostico promettente per la diagnosi di FPIES.

Quando si acquisisce la tolleranza nella food protein-induced enterocolitis syndrome da LV o da soia?

Hwang et al. ¹³ hanno reclutato 23 bambini, alimentati con LV o soia o con alimentazione mista (LV o soia in allattati al seno) e ricoverati per sintomi sospetti di FPIES. Tali pazienti venivano sottoposti a due o più TPO e venivano seguiti fino all'età di due anni. La percentuale di tolleranza al LV ed alla soia

era rispettivamente: 27,3% e 75% all'età di sei mesi; 41,7% e 90,9% ad 8 mesi; 63,6% e 91,7% all'età di 10 mesi. I pazienti perdevano l'intolleranza al LV all'età di 20 mesi ed alla soia all'età di 14 mesi. Gli autori concludevano che, nella FPIES, il primo challenge dovrebbe essere eseguito, con la soia a 6-8 mesi di età e, con il LV, a più di 12 mesi di età. In conclusione, i bambini con FPIES da LV o da soia, mostrano di perdere la sensibilità nei primi due anni di vita.

La food protein-induced enterocolitis syndrome è indotta solo da LV e da soia?

Nel 2003 Levy et al. ¹⁴ hanno posto l'accento sulla possibilità che l'enterocolite allergica potesse essere indotta da proteine alimentari diverse da LV e da soia, descrivendo 6 pazienti con FPIES causata, in 4 di essi, da pollo, in 2 da tacchino, in 1 da piselli ed in 1 da lenticchie. Sempre nel 2003 Nowak-Wegzyn et al. ¹⁵, hanno descritto le caratteristiche cliniche e la storia naturale di 14 pazienti con FPIES provocata da cibi solidi, inclusi avena, orzo, zucca, patata dolce, mai riportati prima come causa di questa affezione, comparandoli con 30 pazienti con FPIES causata dagli alimenti più tipicamente responsabili della malattia, quali LV e soia. La loro analisi portò alla conclusione che cereali, vegetali e vari tipi di carni, tipicamente considerati come alimenti scarsamente allergizzanti, possono essere responsabili di FPIES, particolarmente in bambini che hanno già in precedenza avuto diagnosi di enterocolite allergica da LV o da soia, oppure come alimenti responsabili di una FPIES all'esordio in pazienti fino a quel momento esclusivamente allattati al seno. È interessante notare che, nella loro

TAB. III.

Test di provocazione orale con alimento (da Sicherer, 2005 ²⁰, mod.).

Test di provocazione orale per FPIES in accordo ai criteri di Powell	
Fasi preparatorie	Segni clinici e/o di laboratorio osservati*
Terapia d'emergenza ; considerare accesso venoso	Vomito, diarrea
Verificare il normale accrescimento ponderale e la scomparsa dei sintomi durante la dieta di eliminazione	Sangue fecale (franco o occulto)
Verificare l'assenza di sangue nei campioni fecali al tempo 0 ed al follow-up	Leucociti fecali
Conta dei PMN su sangue periferico al tempo 0	Eosinofili fecali
Ripetere la conta dei PMN su sangue periferico 6 ore dopo l'ingestione	Aumento della conta dei PMN (> 3500 cell/mm ³)

*Il Challenge è considerato positivo se sono presenti 3 o + criteri; equivoco se 2, negativo se 0-1

revisione, l'avena rappresentava l'allergene predominante (64%), mai prima di allora segnalato come causa di FPIES. La conclusione degli autori era che tali pazienti sono ad alto rischio di ipersensibilità alimentari multiple e che l'allattamento al seno può espletare un ruolo nella protezione o ritardare la comparsa di manifestazioni in bambini, comunque, predisposti durante un periodo di apparente suscettibilità immunologica.

Zapatero Remon et al.¹⁶ hanno analizzato 14 casi di FPIES da pesce. Quattro pazienti acquisirono la tolleranza completa verso ogni tipo di pesce; tre tollerarono solo un tipo (pesce spada). Gli autori concludono che, dopo un periodo di allontanamento del pesce dalla dieta di bambini con FPIES, la tolleranza può essere raggiunta.

Mehr et al. nel 2008¹⁷ hanno riportato il ruolo del riso, un alimento generalmente considerato essere a "bassa allergenicità", come causa di FPIES. Nel loro studio, retrospettivo, si proponevano di esaminare le caratteristiche di 14 bambini con FPIES da riso e compararle con 30 bambini affetti da FPIES da LV e/o soia. Essi riscontrarono che bambini con FPIES da riso avevano maggiore probabilità di sviluppare FPIES anche verso altri alimenti e che gli episodi di FPIES nei confronti del riso erano più severi rispetto a quelli da LV e/o soia. Nella recente review di Nowak-Wegrzyn e Muraro si conferma il ruolo del riso quale maggiore responsabile della FPIES da cibi solidi¹⁸.

Mehr et al.¹⁹ nel 2009, in uno studio retrospettivo riguardante 35 bambini con FPIES, hanno riscontrato che i vari alimenti possibili causa della sindrome erano, in ordine decrescente: riso, soia, LV, vegetali e frutta, carni, avena, pesce. Il vomito era il segno clinico costante (100%), seguito da letargia (85%), pallore (67%), diarrea (24%). Una conta piastrine $> 500 \times 10^9$ cellule/l era riferita nel 63% degli episodi con i risultati dell'emocromo. Solo 2 dei 19 bambini che si presentarono al dipartimento di emergenza con la loro iniziale reazione furono dimessi con la diagnosi esatta.

CONCLUSIONI

Dalla revisione sistematica della letteratura risulta che:

- la FPIES rappresenta una sindrome non ancora perfettamente conosciuta e ciò spiega il numero elevato di indagini che vengono eseguite in PS e di diagnosi er-

rate prima che sia posta la diagnosi corretta;

- la diagnosi è prevalentemente clinica. I criteri di Sicherer, se soddisfatti, sono in grado di farla formulare correttamente;
- un TPO diagnostico è superfluo nei casi "tipici". Il TPO, allorché se ne valuti l'opportunità di esecuzione, va effettuato in ambiente attrezzato e con personale esperto a fronteggiare eventuali gravi reazioni;
- l'acquisizione della tolleranza totale verso l'alimento responsabile si verifica nella stragrande maggioranza dei casi.

Ritornando al nostro caso clinico, S. ha attualmente 3 anni e non ha ancora acquisito la tolleranza.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Rubin M. *Allergic intestinal bleeding in the newborn*. Am J Med Sci 1940;200:385-7.
- 2 Gryboski J. *Gastrointestinal milk allergy in infancy*. Pediatrics 1967;40:354-62.
- 3 Powell GK. *Milk-and soy-induced enterocolitis in infancy*. J Pediatr 1978;93:553-60.
- 4 Sicherer SH, Eigenmann PA, Sampson HA. *Clinical features of food protein-induced enterocolitis syndrome*. J Pediatr 1998;133:214-9.
- 5 Scott H, Sicherer. *Food protein-induced enterocolitis syndrome: case presentations and management lessons*. J Allergy Clin Immunol 2005;115:149-56.
- 6 Heyman M, Darmon N, Dupont C, Dugas B, Hirribaren A, Bleton MA, et al. *Mononuclear cells from infants allergic to cow's milk secrete tumor necrosis factor alpha, altering intestinal function*. Gastroenterology 1994;106:1514-23.
- 7 Benlounes N, Candalf C, Matarazzo P, Dupont C, Heyman M. *The time-course of milk antigen-induced tnfr secretion differs according to the clinical symptoms in children with cow's milk allergy*. J Allergy Clin Immunol 1999;104:863-9.
- 8 Chung HL, Hwang JB, Park JJ, Kim SG. *Expression of transforming growth factor beta1, transforming growth factor type i and ii receptors, and tnfr-alfa in the mucosa of the small intestine in infants with foodprotein-induced enterocolitis syndrome*. J Allergy Clin Immunol 2002;109:150-4.
- 9 Goldman H, Provjansky R. *Allergic proctitis and gastroenteritis in children*. Am J Surg Pathol 1986;10:75-86.
- 10 Murray K, Christie D. *Dietary protein intolerance in infants with transient methemoglobinemia and diarrhea*. J Pediatr 1993;122:90-2.
- 11 Sampson HA, Anderson JA. *Summary and recommendations: classification of gastrointestinal manifestations due to immunologic reactions to*

- foods in infants and young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30(Suppl):S87-94.
- ¹² Fogg MI, Brown-Whitehorn TA, Pawlowski NA, Spergel JM. *Atopy patch test for the diagnosis of food protein-induced enterocolitis syndrome*. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:351-5.
 - ¹³ Hwang JB, Sohn SM, Kimarch AS. *Prospective follow up-oral food challenge in food protein-induced enterocolitis*. *Arch Dis Child* 2009;94:425-8.
 - ¹⁴ Levy Y, Danon YL. *Food protein-induced enterocolitis syndrome-not only due to cow's milk and soy*. *Pediatr Allergy Immunol* 2003; 4:325-9.
 - ¹⁵ Novak-Wegrzyn A, Sampson HA, Wood RA, Sicherer SH. *Food protein-induced enterocolitis syndrome caused by solid food proteins*. *Pediatrics* 2003;111:829-35.
 - ¹⁶ Zapatero Remon L, Alonso Lebrero E, Martin Fernandez E, Martinez Molero MI. *Food protein-induced enterocolitis syndrome caused by fish*. *Allergol Et Immunopathol* 2005;33:312-6.
 - ¹⁷ Mehr SS, Kakakios AM, Kemp AS. *Rice: A common and severe cause of food protein induced enterocolitis syndrome*. *Arch Dis Child* 2009;94:220-3.
 - ¹⁸ Nowak-Wegrzyn A, Muraro A. *Food protein-induced enterocolitis syndrome*. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:371-7.
 - ¹⁹ Mehr SS, Kakakios L, Frith K, Kemp AS. *Food protein-induced enterocolitis syndrome: 16-year experience*. *Pediatrics* 2009;123:459-64.
 - ²⁰ Sicherer SH. *Food protein-induced enterocolitis syndrome: case presentations and management lessons*. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:149-56.





Continuiamo con le veloci spiegazioni degli strumenti che trovate sul sito www.riap.it in modo da rendere più facile la navigazione e l'uso delle risorse di cui il sito è corredato.

Dopo aver illustrato, nello scorso numero, le funzioni di Connotea (a proposito, avete capito di che si tratta? L'avete provato? Come vi siete trovati?), passiamo a parlare del forum della RIAP. Il forum è l'ultimo strumento di cui si è arricchito il sito RIAP, ma speriamo che diventi uno dei più importanti al servizio degli utenti.

Per accedere al forum, dal menu principale dovete andare alla pagina Crea e condividi, la stessa in cui trovate Connotea, Facebook, e gli altri strumenti web a disposizione di voi utenti per trovare risorse di letteratura aggiuntive e fare gruppo attorno a argomenti comuni di interesse clinico.

Cliccate sulla scritta RIAP in corrispondenza di "Entra nel forum della RIAP!" ed accedete alla pagina del forum. Qui la cosa più importante che dovete fare è registrarvi, indicando un nome utente e una password con le quali identificarvi. In questo modo potrete scrivere e pubblicare un post, cioè una domanda o un commento di risposta alla domanda di qualche altro utente. L'iscrizione al forum permette anche di usare un sistema di invio di messaggi privati tra utenti. Una volta effettuato il login, nel tabellone centrale della pagina vedete un menu con alcune voci, e, al di sotto, l'elenco dei forum esistenti, dedicati a 4 argomenti diversi: Immunologia, Allergologia, Asma e Per le mamme e i papà.

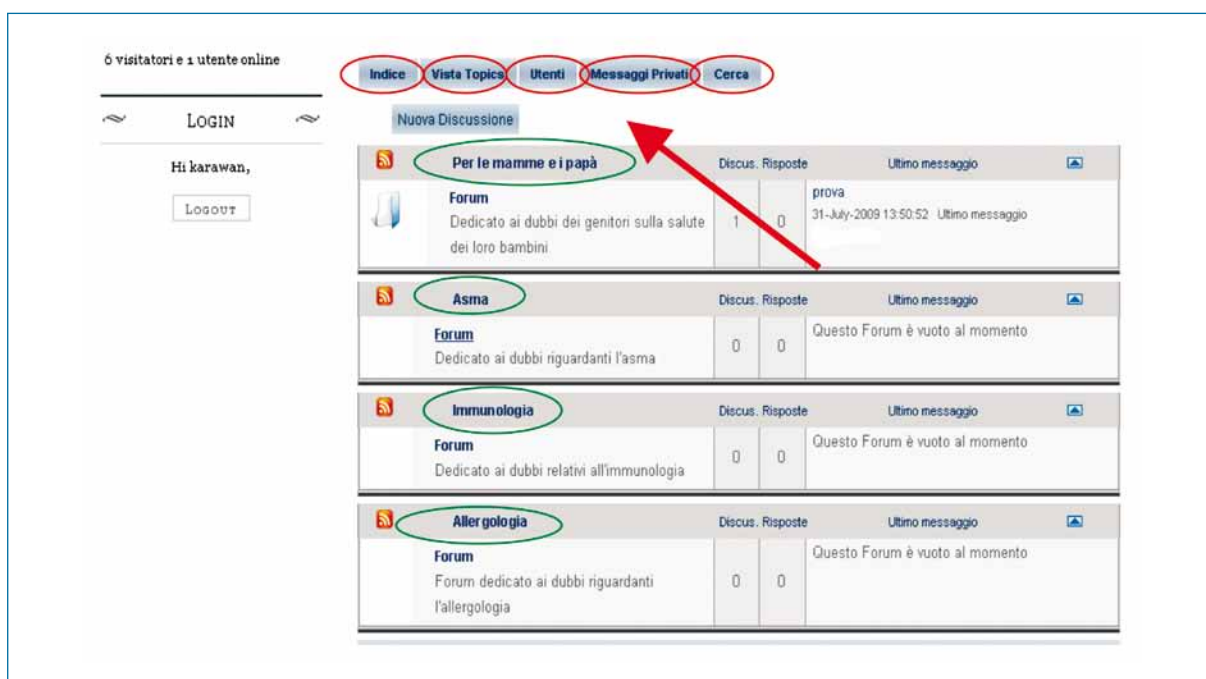


FIG. 1.

Nella barra dei menu del tabellone, il menu "Vista topics" consente di vedere non la lista dei diversi forum ma direttamente, in ordine cronologico dal più recente al più vecchio, tutti i post pubblicati; è un modo per tenersi aggiornati sugli ultimi post scritti. Andando sul menu Utenti potete cliccare su Lista utenti o su Profilo. Il primo vi fa vedere la lista degli altri utenti registrati, mentre cliccando sul secondo vi appare una schermata in cui potete inserire i dettagli del vostro profilo che volete lasciar conoscere agli altri. Attraverso il menu messaggi privati potete

scrivere oppure visualizzare i messaggi ricevuti.

Il menu Indice vi restituisce sempre la schermata iniziale con la lista dei forum.

Quindi per scrivere un nuovo post, cliccate su Indice e poi su Nuova discussione. A questo punto vi viene chiesto di selezionare uno dei forum esistenti dal menu a tendina (Fig. 2), e poi cliccate su Invia. Il sito vi mostra finalmente lo spazio in cui scrivere il vostro post e vi dà la possibilità di dare al testo le caratteristiche di stile che preferite. A fine pagina cliccate su invia e a breve troverete il vostro post pubblicato.



FIG. 2.

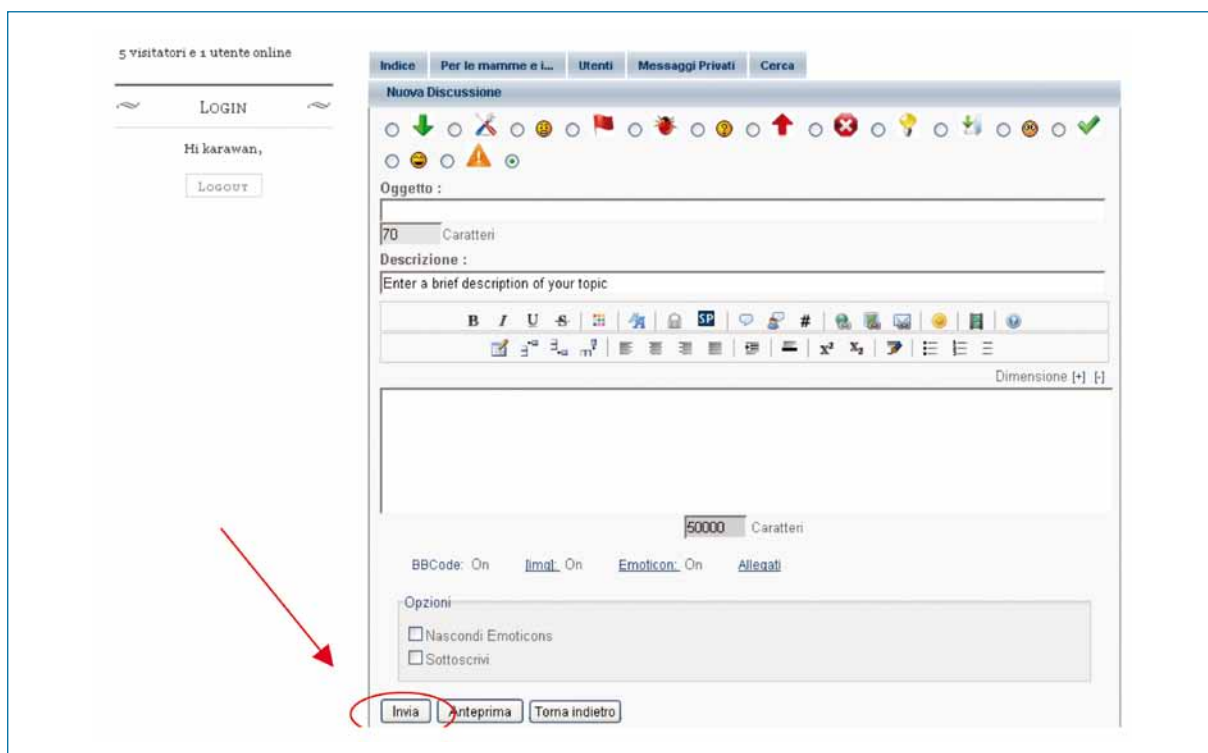


FIG. 3.



RIAP ONLINE

RIAP

IPEX e APECED: due esempi di come immunodeficienza e autoimmunità possono coesistere

Il ruolo principale del sistema immunitario è di mantenere l'omeostasi. Questo significa l'abilità a riconoscere agenti patogeni esterni o tumorali e ad instaurare una risposta immune appropriata per difendere l'organismo. Allo stesso tempo il sistema immunitario riconosce anche antigeni *self* verso i quali le cellule non reagiscono, ma instaurano uno stato di tolleranza. Un'alterazione di queste due funzioni fondamentali provoca rispettivamente uno stato di immunodeficienza o di autoimmunità, sempre considerati due condizioni opposte. D'altronde, un'analisi recente più attenta delle caratteristiche cliniche associate alle malattie da immunodeficienza primitiva (IDP) e dei meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nelle immunodeficienze e nell'autoimmunità ha mostrato che in realtà queste condizioni sono tra di loro correlate. In particolare, lo studio delle manifestazioni autoimmuni associate alle IDP ha chiarito la fisiopatologia molecolare delle reazioni autoimmuni e delle risposte infiammatorie evidenziando come il mantenimento della tolleranza immunologica sia una funzione importante quanto la difesa da microorganismi patogeni ¹. Inoltre, nonostante la maggior parte dei disordini autoimmuni sia di origine multifattoriale, lo studio di disordini monogenici della tolleranza centrale e periferica come IPEX (immunodisregolazione, poliendocrinopatia, enteropatia, X-linked) e APECED (poliendocrinopatia autoimmune con candidosi e displasia ectodermica), dove immunodeficit e autoimmunità coesistono, ha mostrato la rilevanza clinica dello sviluppo e della funzione di quelle cellule del sistema immune che sono coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria ².

IPEX

La sindrome IPEX, inizialmente conosciuta come XLAAD (*X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome*) o XPID (*X-linked syndrome of poliendocrinopathy, immune dysfunction and diarrhea*), è un disordine del sistema immunitario associato al cromosoma X, caratterizzato da fenomeni autoimmuni multisistemici ³⁻⁸. In base al numero limitato di conoscenze la malattia appare molto rara, ma studi retrospettivi su casistiche di soggetti con caratteristiche cliniche analoghe fanno pensare che sia una patologia più frequente, ma ad oggi sotto-diagnosticata ⁹.

Le caratteristiche cliniche di IPEX sono state riportate per la prima volta



Eleonora Gambineri
Maurizio de Martino

Università di Firenze,
Dipartimento di Pediatria,
Azienda Ospedaliero-
Universitaria "Anna
Meyer", Firenze

eleonora.gambineri@unifi.it

Gli Autori dichiarano di non
avere alcun conflitto di
interesse rispetto all'argomento
trattato nell'articolo.

da Powell nel 1982 che descrisse questa sindrome con eredità associata al cromosoma X in 19 individui maschi appartenenti a cinque generazioni della stessa famiglia ¹⁰. Essi presentavano una patologia simile fra loro, con esordio e gravità diversi, caratterizzata da diarrea intrattabile, eczema, anomalie endocrine associate ad un quadro variabile con anemia, epatite autoimmune, trombocitopenia, patologie vascolari, infezioni e decessi in età infantile.

Già nel 1959 nell'*Oakridge National Laboratory* era stato identificato un ceppo murino andato incontro ad una mutazione spontanea e definito *scurfy*, in cui i maschi affetti presentavano caratteristiche fenotipiche simili ad IPEX, quali ereditarietà associata al cromosoma X, poliendocrinopatia, enteropatia, difetto di accrescimento e dermatite. La morte in tali animali sopraggiungeva durante la terza-quarta settimana di vita ¹¹.

Sebbene in vari anni siano stati documentati casi isolati con caratteristiche fenotipiche della sindrome IPEX, inizialmente essi non furono ritenuti associati tra loro, né con la sindrome murina *scurfy*. La prima evidenza di una correlazione tra le due sindromi è stata mostrata dall'analisi di *linkage* che ha permesso di identificare il locus responsabile di esse nella regione pericentromerica del cromosoma X (Xp11.23-Xq21.1) ¹²⁻¹³. Successivamente, attraverso clonaggio posizionale, è stato identificato in FOXP3 il gene responsabile della sindrome *scurfy* nel topo, un fattore trascrizionale appartenente alla famiglia *forkhead/winged helix* ¹⁴. Il gene omologo umano, FOXP3, è stato conseguentemente riconosciuto come il gene causativo della sindrome IPEX ¹⁵⁻¹⁷.

FOXP3 E CELLULE T REGOLATORIE

Il gene FOXP3 (*Forkhead BOX protein 3*) è localizzato sul cromosoma X e più precisamente in posizione p11.23. Si tratta di un gene composto da 11 esoni che codificano per la proteina FOXP3 di 431 aminoacidi. Tale proteina appartiene alla famiglia P di regolatori trascrizionali FOX caratterizzati dalla presenza del dominio FKH (*Forkhead-winged/helix*) che deve il suo nome alla propria struttura costituita da tre α -eliche e due grandi loop.

La famiglia a cui appartiene FOXP3 comprende una serie di regolatori trascrizionali che possono agire da repressori o da attivatori e che risultano coinvolti in processi importanti come lo sviluppo del timo, il differenziamento cellulare e la regolazione della funzione linfocitaria. In particolare, è stato osservato che FOXP3 è fondamentale per lo sviluppo ed il mantenimento dei linfociti T regolatori CD4+CD25+ (Treg), un sottotipo di linfociti regolatori di derivazione timica ¹⁸⁻²⁰. FOXP3 si localizza nel nucleo dove controlla l'espressione di diversi geni al fine di mantenere l'omeostasi immunologica. È stato recentemente dimostrato che FOXP3 esercita la sua azione immunosoppressiva interagendo a livello nucleare direttamente o indirettamente con NFAT (*nuclear factor of activated T-cells*) e impedendo l'attivazione di geni coinvolti nella risposta immunitaria (es. interleuchina - IL-2) ²¹⁻²⁴. Inoltre nell'uomo FOXP3 può essere temporaneamente espresso anche dalle cellule T effettrici suggerendone un ruolo nel mantenimento dell'omeostasi immunitaria, oltre alla ontogenesi delle Treg ²⁵⁻²⁶. La proteina è composta da quattro domini funzionali importanti: il dominio FKH, una regione N-terminale ricca di prolina ed una regione centrale in cui sono presenti un dominio C2H2 *Zink finger* ed un *Leucine zipper* (Fig. 1). In particolare il dominio FKH è localizzato a livello della regione C-terminale e la sua funzione è quella di legare il DNA attraverso un sito di legame specifico e di permettere la localizzazione nucleare della proteina all'interno della cellula. FOXP3 e le cellule Treg rivestono quindi un ruolo cruciale nel mantenimento della tolleranza periferica.

Manifestazioni cliniche

La sindrome IPEX si manifesta fin dalla nascita o nella prima infanzia in individui maschi; raramente sono stati descritti casi ad esordio tardivo.

Le principali caratteristiche cliniche identificate sono:

- *enteropatia*: è la manifestazione più comune e può mostrarsi come diarrea acquosa o accompagnata da perdite ematiche e mucose. Si presenta spesso fin dalla nascita e comporta mal assorbimento e ritardo

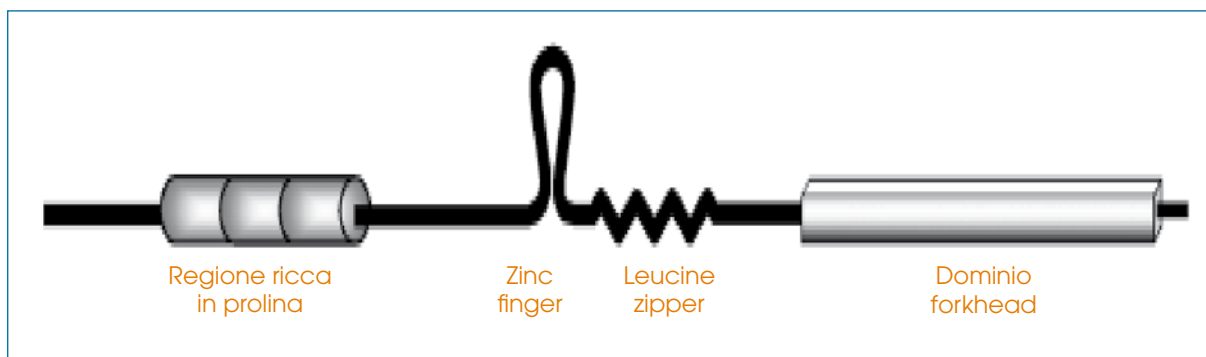


FIG. 1.
Struttura della proteina FOXP3 con i suoi domini funzionali.

della crescita. All'analisi della biopsia intestinale si osserva, nella maggior parte dei casi, una severa atrofia dei villi con infiltrato linfocitario nella sottomucosa e/o nella lamina propria;

- *endocrinopatie*: il diabete di tipo I ad esordio precoce, spesso neonatale, è la forma più comune, ma possono essere osservate anche anomalie della tiroide di origine autoimmune, da ipotiroidismo clinico ad alterazioni dei livelli ormonali senza manifestazioni cliniche evidenti;
- *malattie cutanee*: principalmente eczema, ma in letteratura sono state riportate anche altre manifestazioni come eritrodermia, dermatite psoriasiforme, orticaria, pemfigoide nodulare e alopecia.

A questa triade di sintomi si possono associare anche altre manifestazioni autoimmuni, come citopenie autoimmuni (anemia emolitica, piastrinopenia, neutropenia), nefropatia, epatite colestatica, vasculite, artrite, linfadenopatia e epatosplenomegalia. Sono riportate anche anomalie neurologiche come ritardo di sviluppo psico-motorio e crisi epilettiche. Tali sintomi clinici tuttavia si manifestano con minor frequenza e difficilmente sono presenti all'esordio, ma tendono a comparire nel tempo. È stato osservato anche un aumento del rischio di infezioni ricorrenti probabilmente correlato alla disregolazione del sistema immunitario o conseguenza dei trattamenti terapeutici con immunosoppressori. La gravità delle infezioni è variabile e si possono riscontrare infezioni moderate del sistema respiratorio o del tratto gastrointestinale o anche infezioni gravi come sepsi, peritonite, polmonite e

meningite i cui agenti patogeni più comuni sono le specie *Enterococco* e *Stafilococco*, *Citomegalovirus* e *Candida spp.*

Se non trattata la malattia è rapidamente fatale e le cause principali di morte sono emorragie, diarrea intrattabile, sepsi e complicanze del diabete.

Le femmine portatrici eterozigoti risultano in salute, sebbene il processo di inattivazione del cromosoma X avvenga casualmente. Dalle analisi di inattivazione del cromosoma X effettuate in una femmina portatrice è stato dimostrato che gli alleli normale e mutato di FOXP3 sono espressi ugualmente nei linfociti T circolanti, mascherando forse la patologia tramite un meccanismo di compensazione ²⁷.

Diagnosi

I pazienti con IPEX non mostrano caratteristiche laboratoristiche tipiche. In particolare, non sono riportate né grossolane alterazioni quantitative, né alterazioni funzionali. In genere si osserva un aumento variabile di IgE sieriche e di eosinofili, mentre i livelli delle altre classi di immunoglobuline sono nella norma. La maggior parte dei pazienti produce autoanticorpi verso vari organi, quali tiroide, isole pancreatiche, piastrine, eritrociti, muscolo liscio ed intestino. In alcuni casi è stata descritta la presenza di autoanticorpi contro un antigene di 75 kDa specifico del rene e dell'intestino (AIE-75).

I linfociti totali e dei loro sottotipi non mostrano grossolane anomalie, ma talvolta è riportato un aumento di indici di attivazione linfocitaria (espressione dei marcatori HLA-DR e CD25). La proliferazione linfocitaria in vitro in risposta

a mitogeni e ad antigeni specifici è generalmente nella norma. D'altronde è stato dimostrato che i pazienti con mutazione di FOXP3 presentano un'alterata funzione delle cellule Treg e nella capacità delle cellule T effettrici a produrre IL-2 e interferone (IFN)- γ ²⁸.

La diagnosi di IPEX dovrebbe essere considerata in base alle caratteristiche cliniche del paziente, in particolare in presenza di diarrea intrattabile, atrofia dei villi intestinali e ritardo della crescita, ed ulteriormente indicata in presenza di manifestazioni cutanee, diabete insulino-dipendente ad esordio precoce e/o anomalie tiroidee.

In ogni caso la diagnosi di IPEX deve essere confermata dall'analisi genetica di mutazione in FOXP3 o dall'assenza di linfociti T regolatori CD4⁺ CD25⁺.

Trattamento

Una terapia aggressiva precoce è di estrema importanza. La scelta primaria ad oggi per il trattamento è solitamente l'uso di agenti immunosoppressivi, come ciclosporina A o tacrolimus (FK 506), spesso in combinazione con farmaci steroidei che agiscono sulle cellule T attivate. Inizialmente la maggior parte dei pazienti così trattati risponde positivamente e in alcuni casi la remissione dei sintomi può durare a lungo, ma l'immunosoppressione cronica a lungo termine può portare tossicità farmacologica ed aumento del rischio di infezioni^{8 29}. Recentemente sembra molto promettente l'impiego della rapamicina, un farmaco immunosoppressore che agisce con meccanismo diverso rispetto agli inibitori della calcineurina e sembra avere un vantaggio selettivo sulle Treg favorendone l'espansione e la sopravvivenza^{30 31}.

Attualmente il trapianto con cellule staminali ematopoietiche è l'unica cura effettiva, soprattutto se effettuato precocemente³²⁻³⁶. Nel 2001 è stato riportato il primo caso di trattamento con trapianto di midollo osseo in cui è stata osservata una completa remissione della patologia, benché 29 mesi dopo il paziente sia deceduto per sindrome emofagocitica³⁶. Inizialmente i dati riportati su tentativi di trapianto di pazienti IPEX con cellule staminali non sembravano molto favorevoli, ma recentemente sono stati descritti pazienti che

hanno ottenuto una completa remissione dei sintomi dopo trapianto e con regime di condizionamento pre-trapianto a bassa intensità. Inoltre, dagli studi post-trapianto è stato osservato che sembra sufficiente uno stato di chimerismo parziale per ottenere la completa guarigione da IPEX.

Il basso livello di cellule necessarie per la ripresa dalla malattia suggerisce che IPEX possa essere un bersaglio per la terapia genica con cellule T autologhe trasdotte con vettori esprimenti FOXP3, nonostante gli studi sul modello animale *scurfy* siano ancora in corso e non esistano attualmente *trials* pre-clinici.

In genere IPEX è conosciuta come una malattia grave a decorso clinico rapidamente fatale se non trattata. Tuttavia in letteratura sono descritti casi clinici affetti da forme incomplete o atipiche di malattia senza la completa espressione della triade di sintomi^{5 30 31 37}. Inoltre sono stati osservati pazienti che mostravano un fenotipo caratteristico di IPEX senza però alcuna aberrazione genica di FOXP3 (IPEX-like).

Alla luce di queste osservazioni recentemente è stato condotto uno studio che analizza le caratteristiche molecolari, immunologiche e cliniche in 14 pazienti affetti da IPEX³⁸ per cercare di fornire indicazioni più precise sulla diagnosi e la conseguente condotta terapeutica. Da questo studio è emerso che l'enteropatia autoimmune caratterizzata da diarrea intrattabile e solitamente associata ad aumentati livelli serici di IgE ed eosinofilia è la caratteristica preminente di IPEX. Tali sintomi sono presenti nella totalità dei pazienti e quindi devono far porre fortemente il sospetto di malattia. L'esordio di malattia è in genere precoce entro il 1° mese di vita e comunque sotto l'anno di età e i sintomi più comunemente osservati all'esordio sono iperglicemia o chetoacidosi e/o diarrea intrattabile. È stato inoltre notato che pazienti con mutazioni a livello del dominio *FKH* di FOXP3, responsabile del legame di questa molecola al DNA di geni target, o mutazioni che abrogano completamente l'espressione della proteina tendono a presentare una forma classica di malattia con la triade di sintomi tipici rispetto a pazienti con mutazioni in altre parti del

gene. D'altronde è anche emerso che la severità del decorso clinico è indipendente dal tipo di mutazione dal momento che è stato visto che pazienti affetti da mutazioni nel dominio funzionale, nonostante un esordio classico di malattia, hanno risposto alla terapia immunosoppressiva convenzionale e hanno controllato i sintomi per lunghi periodi. A conferma di queste osservazioni è stato dimostrato, diversamente da come osservato in precedenza, che l'espressione della proteina FOXP3 da parte delle cellule T regolatorie non è necessariamente alterata e non rispecchia la gravità della malattia, dal momento che tale espressione può essere preservata in pazienti severamente affetti. Questo suggerisce che probabilmente altri fattori (ambientali e genetici), correlati al meccanismo di azione delle Treg, possono rivestire un ruolo importante nell'influenzare l'andamento clinico di IPEX e la sua prognosi.

APECED

La candidosi muco-cutanea cronica (CMC) è una sindrome clinica caratterizzata da una risposta immune alterata nei confronti della *Candida albicans*. Pazienti affetti da questa condizione soffrono di infezioni ricorrenti da parte di questo microrganismo, prevalentemente a carico della cute, delle mucose e delle unghie. La CMC può essere sporadica o familiare. Nell'ambito della CMC familiare si distinguono forme isolate che possono essere autosomiche recessive (OMIM 212050) o dominanti (OMIM 114580) dove l'infezione ricorrente da candida è l'unico sintomo cardine, e forme associate a coinvolgimento di altri organi o apparati come APECED.

APECED è un raro disordine genetico della regolazione immunitaria ereditato in modo autosomico recessivo (OMIM 240300) causato da mutazione del gene AIRE (*autoimmune regulator*) coinvolto nella tolleranza immune. APECED è caratterizzata dalla variabile combinazione di CMC, poliendocrinopatia e/o epatite e distrofia dello smalto dentario e delle unghie³⁹⁻⁴¹. In realtà la triade di CMC, ipoparatiroidismo e insufficienza surrenalica costituisce la presentazione più tipica della sindrome e la diagnosi clinica si basa sulla presenza di almeno due dei sin-

tomi riportati. La frequenza di questa sindrome nella popolazione generale non sembra molto elevata, è stata tuttavia notata un'alta incidenza in popolazioni selezionate come i finlandesi (1:25000), i sardi (1:14400) e gli ebrei iraniani (1:9000)^{42 43}.

La prima descrizione di CMC associata a ipoparatiroidismo è stata riportata da Thorpe and Handley nel 1929. Nel 1938 Soderlund ha descritto un paziente con diabete insulino-dipendente e candidosi. In seguito altre descrizioni di casi clinici hanno confermato l'esistenza di una sindrome genetica caratterizzata dall'associazione di candidasi con disordini endocrini. In seguito la descrizione di altre manifestazioni cliniche di tipo autoimmune contro organi endocrini e non (ghiandole paratiroidi, corteccia surrenalica, gonadi, cellule β pancreatiche e cellule gastriche parietali) ha contribuito ad espandere il fenotipo clinico di questa malattia 4.

AIRE E IL SUO RUOLO NELL'AUTOIMMUNITÀ

Il gene AIRE è localizzato sul cromosoma 21q22.3, si estende per circa 13 kb ed è composto da 14 esoni. Codifica per una proteina di 545 aminoacidi composta da domini funzionali tipici dei regolatori della trascrizione: due *plant-homeodomain/zinc-fingers* localizzati nel dominio C terminale, quattro *LXXLL nuclear receptor binding motifs*, una *prolin-rich region* e nel dominio N terminale un *nuclear localization signal* (NLS) seguito da *SAND domain* (Fig. 2)^{45 46}. L'espressione di AIRE è ristretta alle cellule epiteliali della zona midollare del timo (mTECs) e alle cellule dendritiche timiche che svolgono un ruolo cruciale per lo sviluppo della tolleranza immunologica centrale eliminando le cellule T reattive contro antigeni *self* e favorendo l'ontogenesi delle cellule Treg (CD4+25+FOXP3+)⁴⁷. Le mTECs esprimono sulla loro superficie il complesso maggiore di istocompatibilità di II classe (MHC II) e sono in grado di presentare ai linfociti T intratimici diversi tipi di antigeni proteici tissutali presenti in altri organi o apparati⁴⁸. Il processo di riarrangiamento casuale del recettore dei linfociti T (*T-cell receptor* o TCR) garantisce la diversa reattività di tale recettore contro diversi stimoli antigenici. Se il

TCR dei linfociti intratimici reagisce contro gli antigeni self presentati dalle mTECs, si attiva il processo di "selezione negativa" di tali linfociti che quindi vengono eliminati e vanno incontro ad apoptosi cellulare (Fig. 3)^{49 50}. È stato dimostrato che AIRE regola l'espressione timica di diversi tipi di proteine specifiche di tessuti periferici in maniera dose-dipendente. Di conseguenza una diminuita espressione di AIRE provoca una bassa espressione di tali antigeni self a livello timico che facilita il passaggio di linfociti autoreattivi in periferia e quindi l'insorgenza delle manifestazioni autoimmuni tipiche di APECED. È stato inoltre ipotizzato che questo processo di educazione timica contro il self possa, oltre che portare a delezione clonale di timociti autoreattivi, anche influenzare la loro deviazione verso un fenotipo di tipo regolatorio in base all'affinità dell'interazione fra antigeni self/MCH/TCR. Sono state identificate più di 60 mutazioni in *AIRE*, distribuite per tutta la lunghezza del gene⁵¹. Esistono particolari mutazioni che tendono a segregare nelle diverse popolazioni dove APECED è più frequente. Ad esempio gli ebrei iraniani presentano più frequentemente una mutazione missenso a livello dell'esone 2 (Y85C)^{52 53}, l'83% dei finlandesi è prevalentemente affetto da una mutazione nonsense (R257X) nel dominio SAND, mentre i sardi da una mutazione nonsense diversa (R139X). Una delezione di 13 paia di basi a livello dell'esone 8 (1085_1097del) che crea

un codone di stop in posizione 371 con la perdita di 73 aminoacidi è stata prevalentemente riscontrata nel 70% degli inglesi e nel 53% degli americani⁵⁴. Alcune di queste mutazioni sembrano interferire con una corretta localizzazione nucleare della proteina⁵⁵.

Manifestazioni cliniche

La presentazione clinica di questa malattia è molto eterogenea e può essere caratterizzata dalla presenza di un solo sintomo (in genere CMC) oppure dalla combinazione di diversi tipi di manifestazioni endocrine e disordini del sistema ectodermico⁵⁶. Nella maggior parte dei pazienti il sintomo all'esordio è la CMC che solitamente è resistente alla terapia antifunginea tradizionale e tende a ricorrere frequentemente soprattutto nell'infanzia, anche se poi l'incidenza di ricadute diminuisce nel tempo. L'ipoparatiroidismo è il secondo sintomo più frequente che compare in genere nel secondo anno di vita, mentre l'insufficienza surrenalica si manifesta dopo il quarto anno. L'ipoparatiroidismo colpisce circa l'85% degli affetti ed in particolare le femmine^{44 56 57}. Anche l'ipogonadismo, che si manifesta dopo i 13 anni, colpisce prevalentemente il sesso femminile (60%) rispetto ai maschi (14%) mentre le altre endocrinopatie come l'insufficienza adrenocorticale, presente nel 70% dei pazienti, il diabete insulino-dipendente e l'ipotiroidismo non sembrano avere una prevalenza di sesso.

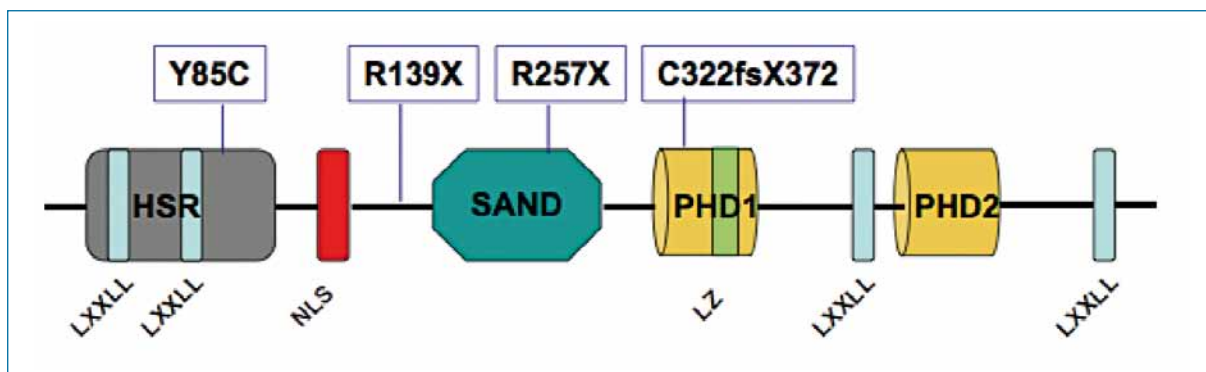


FIG. 2.

Rappresentazione schematica della proteina AIRE con i domini funzionali. In alto sono riportate le mutazioni identificate più frequentemente nei pazienti APECED.

MEC Aire Cromatina Stomaco Timocita MHC Delezione clonale Deviazione clonale Occhio Prevenzione di autoimmunità in periferia

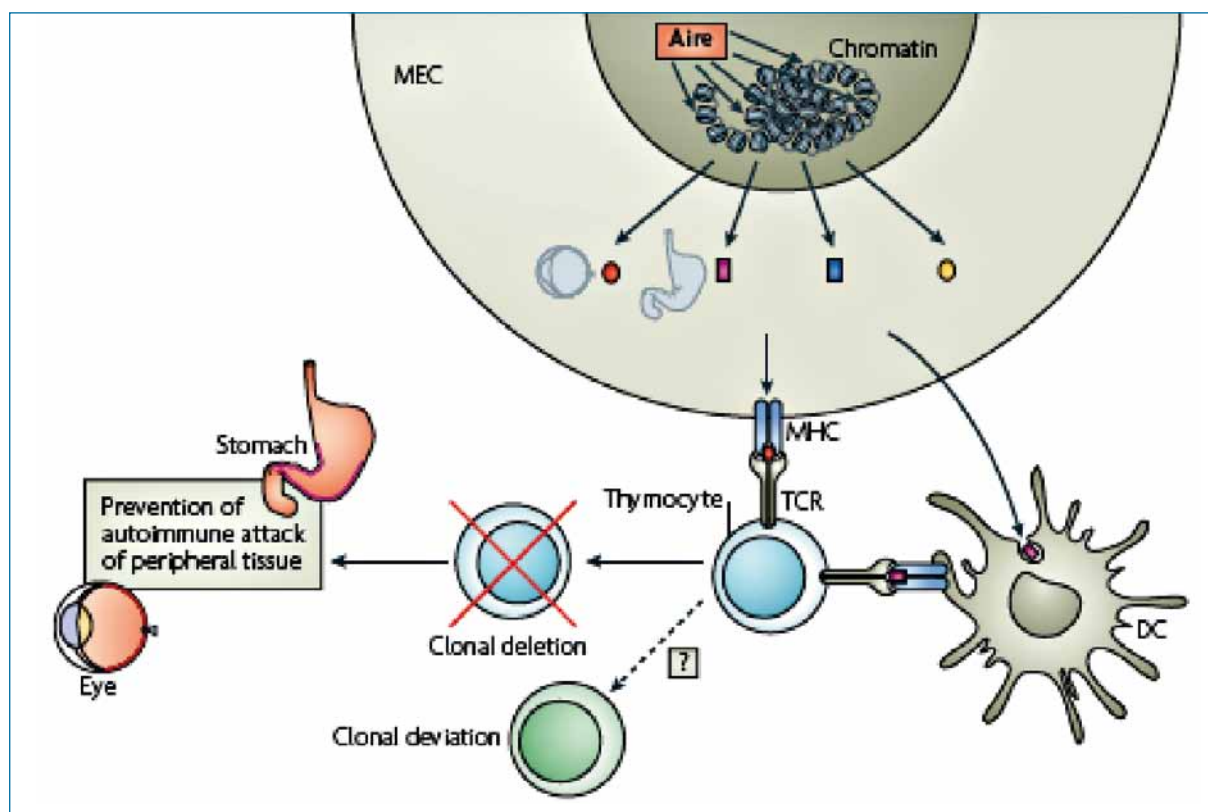


FIG. 3.

AIRE: dalla regolazione della trascrizione all'induzione della tolleranza. AIRE aumenta l'espressione nelle mTECs di geni codificanti antigeni proteici periferici che normalmente verrebbero espressi solo in tessuti specifici. Questi vengono presentati ai timociti immaturi direttamente dalle mTECs o dalle cellule dendritiche vicine. Le cellule T che riconoscono questi antigeni vanno incontro a delezione clonale. D'altronde alcune cellule possono sopravvivere adottando un fenotipo probabilmente regolatorio. Questo meccanismo è essenziale per prevenire l'attacco autoimmune contro gli organi periferici (da Mathis et al., 2007⁴⁷, mod.).

Inoltre i pazienti APECED possono manifestare una serie di altri sintomi autoimmuni a carico del tratto gastrointestinale come l'anemia perniciosa per deficit di vitamina B12 o malassorbimento intestinale con esordio variabile nell'arco della vita. È importante sottolineare che il malassorbimento e la steatorrea sono sintomi abbastanza frequenti e possono anche caratterizzare l'esordio di malattia. Anche la cute e altri tessuti di derivazione ectodermica possono essere coinvolti: l'alopecia interessa il 29-36% dei pazienti e spesso esordisce precocemente, mentre la vitiligine è descritta nel 13-26% dei casi. Le alterazioni ungueali sono solitamente da riferirsi alla displasia ectodermica anche se a volte l'esame colturale di campioni prelevati dalle unghie ha mostrato la presenza di candida che quindi potrebbe essere in parte responsabile del quadro.

Da una valutazione dell'espressività clinica e del decorso della malattia si è notato che esistono molte differenze fra un paziente e l'altro anche nell'ambito di pazienti di una stessa famiglia, è pertanto difficile stabilire una precisa correlazione fra genotipo e fenotipo. Al contrario, sembra che sia presente una diversa predisposizione genetica a seconda della popolazione a sviluppare i vari sintomi caratteristici di APECED, per esempio difficilmente pazienti ebrei iraniani sviluppano CMC che notoriamente è il sintomo cardine della malattia. L'immunodeficienza di cui questi pazienti sono affetti tende a manifestarsi localmente a carico di cute e mucose dove solitamente si localizza la candidosi, anche se talvolta i pazienti possono sviluppare forme di infezione polmonare. Le caratteristiche cliniche di APECED sono state confrontate con quelle di IPEX e riportate nella Tabella I.

TAB. I.

Aspetti clinici, molecolari e laboratoristici di IPEX e APECED (da Moraes-Vasconcelos et al., 2008², mod.).

	IPEX	APECED
OMIM	304930	240300
Gene	<i>FOXP3</i>	AIRE
Età all'esordio	Prima infanzia	Seconda infanzia
Infezioni	<i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus species</i> , <i>CMV</i> , <i>Candida</i> (rara)	<i>Candida</i> (100%)
Enteropatia autoimmune	Frequente	10%
Manifestazioni cutanee	Frequente	Frequente
Alopecia	Rara	30%
Vitiligine	Rara	15%
Distrofia delle unghie	Rara	50%
Ipoplasia smalto dentale	Assente	75%
Diabete insulino-dipendente	Frequente	20%
Tiroidite autoimmune	Frequente	6%
Ipoparatiroidismo	Assente	85%
Insufficienza surrenalica	Rara	70%
Insufficienza gonadica	Assente	60%
Epatite autoimmune	Comune	15%
Nefropatia	Comune	Assente
Citopenie autoimmuni	Frequenti	Rare
IgG, IgA, IgM	Normali	Normali
IgE	Elevate	Normali
Eosinofili	Aumentato	Normali
CD3, CD4, CD8, CD19	Normali	Normali
Autoanticorpi	Frequenti	100%
Produzione anticorpale	Normale	Normale
Trattamento	Terapia immunosoppressiva trapianto di midollo	Terapia antifungina e sostitutiva ormonale
Mortalità precoce	Alta	Bassa

Diagnosi

Una caratteristica rilevante delle endocrinopatie presenti in APECED è la presenza di anticorpi organo-specifici a titoli elevati^{58 59}. La maggioranza dei pazienti presenta da 1 a 8 tipi differenti di autoanticorpi, mentre solo coloro che soffrono prevalentemente di CMC possono risultare negativi (Tab. II). Ad esempio, pazienti affetti da insufficienza surrenalica o da ipogonadismo hanno nel siero anticorpi contro enzimi coinvolti nella steroidogenesi (21-idrossilasi, 17 alfa-idrossilasi o enzimi di clivaggio della catena laterale), mentre pazienti affetti da diabete insulino-dipendente presentano anticorpi contro antigeni speci-

fici delle cellule pancreatiche come GAD65, insulina, IA2 ecc. Autoanticorpi contro un'altra proteina delle cellule pancreatiche, la decarbossilasi dell'acido L-amino aromatico (L-AADC) sono stati riscontrati in pazienti con epatite cronica attiva, vitiligine e diabete. Nell'epatite autoimmune i *markers* più sensibili di malattia sono gli anticorpi anti-triptofano idrossilasi (TPH), ma possono essere presenti anche anticorpi anti-citocromo P450 1A2 (CYP1A2) e 2A6 (CYP2A6). Inoltre il malassorbimento intestinale sembra sia correlato alla distruzione delle cellule endocrine del sistema gastroenterico come le cellule serotoninergiche dell'antro dello stomaco e le

cellule producenti istamina a livello del fondo gastrico con conseguente presenza di anticorpi contro la triptofano-idrossilasi e la istidina decarbossilasi rispettivamente. Le manifestazioni cutanee autoimmuni di APECED si associano invece ad anticorpi contro un fattore di trascrizione SOX10 o contro l'enzima tirosina idrossilasi. Infine sembra controversa la presenza di anticorpi rivolti contro antigeni tissutali delle ghiandole paratiroidi ed in particolare contro il dominio extracellulare di un recettore del calcio.

È stato ipotizzato che la patogenesi delle manifestazioni autoimmuni caratteristiche di APECED sia mediata dai linfociti T e che la presenza di autoanticorpi sia semplicemente una conseguenza della distruzione tissutale, anche se il meccanismo preciso non è ben chiaro. Non sembra infatti che la presenza di autoanticorpi correli necessariamente con l'attività di malattia (anticorpi anti-GAD65 possono essere riscontrati in pazienti che non sono ancora affetti da diabete). Anche se non sembrano essere coinvolti nella fisiopatologia di APECED, gli autoanticorpi organo-specifici presenti nella malattia sono strumenti importanti per la diagnosi e la prognosi ². In ogni caso la diagnosi di APECED deve essere confermata dall'analisi genetica di mutazione del gene *AIRE*, causativo della malattia.

Trattamento

I pazienti affetti da APECED solitamente richiedono terapia di sostituzione ormonale, supplementi di calcio e vitamina D e terapia antifungina per il trattamento della candidosi ⁴⁴. La terapia immunosoppressiva è utilizzata per il controllo dell'epatite autoimmune. Con un'attenta gestione del trattamento di solito i pazienti riescono a mantenere una discreta qualità di vita e raggiungono una buona sopravvivenza con prognosi discrete a lungo termine. D'altronde, in una minoranza di casi, l'insufficienza surrenalica o epatica acuta ha portato rapidamente a morte.

La gestione di pazienti con manifestazioni autoimmunitarie multiple è sicuramente più impegnativa rispetto a pazienti con solo 1 o 2 disordini e spesso le terapie utilizzate possono interferire fra di loro. È importante seguire i pazienti con regolari follow-up, in particolare dei livelli serici degli enzimi epatici, per monitorizzare la funzione epatica. Pazienti con diarrea cronica o ricorrente dovrebbero essere testati per escludere ipocalcemia, che se non corretta può essere la causa stessa della diarrea. In caso contrario, è opportuno procedere con i presidi diagnostici adeguati (gastroduodenoscopia e biopsia mucosale, dosaggio enzimi pancreatici esocrini, ecc.).

TAB. II.

Autoantigeni presenti in APECED (da Moraes-Vasconcelos et al., 2008 ², mod.).

Manifestazioni cliniche di APECED	Tessuto	Autoantigeni
Malattia di Addison	Corteccia surrenalica	P450c21, P450c17a, P450scc
Ipoparatiroidismo	Ghiandole paratiroidi	Recettore sensibile al Ca ⁺⁺ *
Ipotiroidismo	Ghiandola tiroide	Perossidasi tiroidea e tireoglobulina
Diabete tipo I	Pancreas esocrino	GAD65, GAD67, ICA, IA-2, L-amino acid decarboxylase (L-AADC)
Epatite autoimmune	Fegato	P450 CYP1A2, P450 CYP2A6, L-AADC
Vitiligine	Cute	SOX10, L-AADC
Alopecia	Scalpo	Tiroxina idrossilasi
Malassorbimento	Tratto gastrointestinale	Triptofano idrossilasi e Istidina decarbossilasi
Gastrite autoimmune	Stomaco	H ⁺ K ⁺ ATPase
Anemia perniciosa	Mucosa gastrica e globuli rossi	Fattore intrinseco

* non trovato in tutti i pazienti affetti da ipoparatiroidismo

CONCLUSIONI

IPEX e APECED sono due esempi di rare malattie ad ereditarietà monogenica il cui fenotipo è caratterizzato dalla perdita della tolleranza immunologica periferica e centrale rispettivamente. Invece che costituire gli estremi completamente opposti della immunopatologia, immunodeficienza ed autoimmunità possono essere considerate forme diverse di espressione dello stesso meccanismo immunopatologico: la disregolazione immunitaria. Lo studio di due esempi unici di immunodeficienza associata ad autoimmunità (IPEX e APECED) ha rivelato il ruolo cruciale rivestito dai due fattori di trascrizione (FOXP3 e AIRE) nel mantenimento della tolleranza centrale e periferica. Queste scoperte hanno contribuito non solo a chiarire i meccanismi molecolari e cellulari alla base di queste due malattie, ma hanno messo anche le basi per comprendere meglio la fisiopatologia dei disordini autoimmunitari nelle IDP. Ad esempio, la scoperta del ruolo fondamentale di AIRE nel controllare l'espressione di antigeni self periferici durante l'educazione timica dei linfociti suggerisce che l'autoimmunità presente ad esempio nella sindrome di Omenn, una immunodeficienza combinata da alterazione dei meccanismi di riarrangiamento intratimico del TCR, potrebbe dipendere da un'alterata funzione timica di questa proteina. È probabile che un deficit funzionale di AIRE sia responsabile anche della disregolazione immunitaria presente in altre IDP con difetto di sviluppo dei T associato ad autoimmunità, come la sindrome di diGeorge completa ad esempio. Inoltre, il ruolo rivestito da FOXP3 nello sviluppo delle Treg permette di ampliare ulteriormente la conoscenza dei meccanismi della tolleranza immunologica sottolineando l'importanza dell'esistenza di cellule regolatorie periferiche al mantenimento dell'omeostasi.

Infine la caratterizzazione molecolare di IPEX e APECED fornisce implicazioni interessanti per comprendere meglio le basi fisiopatologiche di altre malattie autoimmuni più comuni dal momento che l'alterazione di due punti cruciali della regolazione immunitaria (tolleranza centrale e periferica) è probabilmente alla base di tutte le forme cliniche di disregolazione immunitaria ad eziopatogenesi multifattoriale.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Notarangelo LD, Gambineri E, Badolato R. *Immunodeficiencies with autoimmune consequences*. Adv Immunol 2006;89:321-70.
- ² Moraes-Vasconcelos D, Costa-Carvalho BT, Torgerson TR, Ochs HD. *Primary immune deficiency disorders presenting as autoimmune diseases: IPEX and APECED*. J Clin Immunol 2008;28 (Suppl. 1):S11-9.
- ³ Gambineri E, Torgerson TR, Ochs HD. *Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis*. Curr Opin Rheumatol 2003;15:430-5.
- ⁴ Torgerson TR, Ochs HD. *Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked: forkhead box protein 3 mutations and lack of regulatory T cells*. J Allergy Clin Immunol 2007;120:744-50; quiz 751-2.
- ⁵ Ochs HD, Ziegler SF, Torgerson TR. *FOXP3 acts as a rheostat of the immune response*. Immunol Rev 2005;203:156-64.
- ⁶ Ochs HD, Torgerson TR. *Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked inheritance: model for autoaggression*. Adv Exp Med Biol 2007;601:27-36.
- ⁷ Ochs HD, Gambineri E, Torgerson TR. *IPEX, FOXP3 and regulatory T-cells: a model for autoimmunity*. Immunol Res 2007;38:112-21.
- ⁸ Wildin RS, Smyk-Pearson S, Filipovich AH. *Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome*. J Med Genet 2002;39:537-45.
- ⁹ Owen CJ, Jennings CE, Imrie H, Lachaux A, Bridges NA, Cheetham TD, et al. *Mutational analysis of the FOXP3 gene and evidence for genetic heterogeneity in the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy syndrome*. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:6034-9.
- ¹⁰ Powell BR, Buist NR, Stenzel P. *An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy*. J Pediatr 1982;100:731-7.
- ¹¹ Russell WL, Russell LB, Gower JS. *Exceptional inheritance of a sex-linked gene in the mouse explained on the basis that the X/O sex-chromosome constitution is female*. Proc Natl Acad Sci U S A 1959;45:554-60.
- ¹² Ferguson PJ, Blanton SH, Saulsbury FT, McDuffie MJ, Lemahieu V, Gastier JM, et al. *Manifestations and linkage analysis in X-linked autoimmunity-immunodeficiency syndrome*. Am J Med Genet 2000;90:390-7.
- ¹³ Bennett CL, Yoshioka R, Kiyosawa H, Barker DF, Fain PR, Shigeoka AO, et al. *X-Linked syndrome of polyendocrinopathy, immune dysfunction, and diarrhea maps to Xp11.23-Xq13.3*. Am J Hum Genet 2000;66:461-8.
- ¹⁴ Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerild KA, Paeppe B,

- Clark LB, Yasayko SA, et al. *Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse.* Nat Genet. 2001;27:68-73.
- 15 Bennett CL, Ochs HD. *IPEX is a unique X-linked syndrome characterized by immune dysfunction, polyendocrinopathy, enteropathy, and a variety of autoimmune phenomena.* Curr Opin Pediatr 2001;13:533-8.
 - 16 Chatila TA, Blaeser F, Ho N, Lederman HM, Voulgaropoulos C, Helms C, et al. *JM2, encoding a fork head-related protein, is mutated in X-linked autoimmunity-allergic dysregulation syndrome.* J Clin Invest 2000;106:R75-81.
 - 17 Wildin RS, Ramsdell F, Peake J, Faravelli F, Casanova JL, Buist N, et al. *X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy.* Nat Genet. 2001;27:18-20.
 - 18 Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. *Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells.* Nat Immunol 2003;4:330-6.
 - 19 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. *Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3.* Science. 2003;299:1057-61.
 - 20 Khattry R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. *An essential role for Scurfy in CD4+CD25+ T regulatory cells.* Nat Immunol 2003;4:337-42.
 - 21 Ziegler SF. *FOXP3: of mice and men.* Annu Rev Immunol 2006;24:209-26.
 - 22 Gavin MA, Rasmussen JP, Fontenot JD, Vasta V, Manganiello VC, Beavo JA, et al. *Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation.* Nature 2007;445:771-5.
 - 23 Wan YY, Flavell RA. *Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression.* Nature 2007;445:766-70.
 - 24 Williams LM, Rudensky AY. *Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3.* Nat Immunol 2007;8:277-84.
 - 25 Walker MR, Kasprowitz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, et al. *Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells.* J Clin Invest 2003;112:1437-43.
 - 26 Morgan ME, van Bilsen JH, Bakker AM, Green D, Yamasaki H, Center D, et al. *Expression of FOXP3 mRNA is not confined to CD4+CD25+ T regulatory cells in humans.* Hum Immunol 2005;66:13-20.
 - 27 Tommasini A, Ferrari S, Moratto D, Badolato R, Boniotto M, Pirulli D, et al. *X-chromosome inactivation analysis in a female carrier of FOXP3 mutation.* Clin Exp Immunol 2002;130:127-30.
 - 28 Bacchetta R, Passerini L, Gambineri E, Dai M, Allan SE, Perroni L, et al. *Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations.* J Clin Invest 2006;116:1713-22.
 - 29 Taddio A, Faleschini E, Valencic E, Granzotto M, Tommasini A, Lepore L, et al. *Medium-term survival without haematopoietic stem cell transplantation in a case of IPEX: insights into nutritional and immunosuppressive therapy.* Eur J Pediatr 2007;166:1195-7.
 - 30 Yong PL, Russo P, Sullivan KE. *Use of sirolimus in IPEX and IPEX-like children.* J Clin Immunol 2008;28:581-7.
 - 31 Bindl L, Torgerson T, Perroni L, Youssef N, Ochs HD, Goulet O, et al. *Successful use of the new immune-suppressor sirolimus in IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome).* J Pediatr 2005;147:256-9.
 - 32 Zhan H, Sinclair J, Adams S, Cale CM, Murch S, Perroni L, et al. *Immune reconstitution and recovery of FOXP3 (forkhead box P3)-expressing T cells after transplantation for IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked) syndrome.* Pediatrics 2008;121:e998-1002.
 - 33 Rao A, Kamani N, Filipovich A, Lee SM, Davies SM, Dalal J, et al. *Successful bone marrow transplantation for IPEX syndrome after reduced-intensity conditioning.* Blood 2007;109:383-5.
 - 34 Mazzolari E, Forino C, Fontana M, D'Ippolito C, Lanfranchi A, Gambineri E, et al. *A new case of IPEX receiving bone marrow transplantation.* Bone Marrow Transplant 2005;35:1033-4.
 - 35 Lucas KG, Ungar D, Comito M, Bayerl M, Groh B. *Submyeloablative cord blood transplantation corrects clinical defects seen in IPEX syndrome.* Bone Marrow Transplant 2007;39:55-6.
 - 36 Baud O, Goulet O, Canioni D, Le Deist F, Radford I, Rieu D, et al. *Treatment of the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation.* N Engl J Med 2001;344:1758-62.
 - 37 De Benedetti F, Insalaco A, Diamanti A, Cortis E, Muratori F, Lamioni A, et al. *Mechanistic associations of a mild phenotype of immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, x-linked syndrome.* Clin Gastroenterol Hepatol 2006;4:653-9.
 - 38 Gambineri E, Perroni L, Passerini L, Bianchi L, Doglioni C, Meschi F, et al. *Clinical and molecular profile of a new series of patients with immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome: inconsistent correlation between forkhead box protein 3 expression and disease severity.* J Allergy Clin Immunol 2008;122:1105-12.
 - 39 Finnish-German APECED Consortium. *An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains.* Nat Genet 1997;17:399-403.
 - 40 Aaltonen J, Bjorses P, Sandkuijl L, Perheentupa J, Peltonen L. *An autosomal locus causing autoimmune disease: autoimmune polyglandular disease type I assigned to chromosome 21.* Nat Genet 1994;8:83-7.

- ⁴¹ Nagamine K, Peterson P, Scott HS, Kudoh J, Minoshima S, Heino M, et al. *Positional cloning of the APECED gene*. Nat Genet 1997;17:393-8.
- ⁴² Rosatelli MC, Meloni A, Meloni A, Devoto M, Cao A, Scott HS, et al. *A common mutation in Sardinian autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy patients*. Hum Genet 1998;103:428-34.
- ⁴³ Vogel A, Strassburg CP, Obermayer-Straub P, Brabant G, Manns MP, et al. *The genetic background of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy and its autoimmune disease components*. J Mol Med 2002;80:201-11.
- ⁴⁴ Ahonen P, Myllarniemi S, Sipila I, Perheentupa J. *Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients*. N Engl J Med 1990;322:1829-36.
- ⁴⁵ Gibson TJ, Ramu C, Gemund C, Aasland R. *The APECED polyglandular autoimmune syndrome protein, AIRE-1, contains the SAND domain and is probably a transcription factor*. Trends Biochem Sci 1998;23:242-4.
- ⁴⁶ Halonen M, Kangas H, Ruppel T, Ilmarinen T, Ollila J, Kolmer M, et al. *APECED-causing mutations in AIRE reveal the functional domains of the protein*. Hum Mutat 2004;23:245-57.
- ⁴⁷ Mathis D, Benoist C. *A decade of AIRE*. Nat Rev Immunol 2007;7:645-50.
- ⁴⁸ Anderson MS, Venzani ES, Klein L, Chen Z, Berzins SP, Turley SJ, et al. *Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein*. Science 2002;298:1395-401.
- ⁴⁹ Liston A, Gray DH, Lesage S, Fletcher AL, Wilson J, Webster KE, et al. *Gene dosage-limiting role of Aire in thymic expression, clonal deletion, and organ-specific autoimmunity*. J Exp Med 2004;200:1015-26.
- ⁵⁰ Liston A, Lesage S, Wilson J, Peltonen L, Goodnow CC. *Aire regulates negative selection of organ-specific T cells*. Nat Immunol 2003;4:350-4.
- ⁵¹ Villaseñor J, Benoist C, Mathis D. *AIRE and APECED: molecular insights into an autoimmune disease*. Immunol Rev 2005;204:156-64.
- ⁵² Björnses P, Aaltonen J, Vikman A, Perheentupa J, Ben-Zion G, Chiumello G, et al. *Genetic homogeneity of autoimmune polyglandular disease type I*. Am J Hum Genet 1996;59:879-86.
- ⁵³ Zlotogora J, Shapiro MS. *Polyglandular autoimmune syndrome type I among Iranian Jews*. J Med Genet 1992;29:824-6.
- ⁵⁴ Wang CY, Davoodi-Semiromi A, Huang W, Connor E, Shi JD, She JX. *Characterization of mutations in patients with autoimmune polyglandular syndrome type I (APS1)*. Hum Genet 1998;103:681-5.
- ⁵⁵ Björnses P, Halonen M, Palvimo JJ, Kolmer M, Aaltonen J, Ellonen P, et al. *Mutations in the AIRE gene: effects on subcellular location and transactivation function of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy protein*. Am J Hum Genet 2000;66:378-92.
- ⁵⁶ Halonen M, Eskelin P, Myhre AG, Perheentupa J, Husebye ES, Kämpe O, et al. *AIRE mutations and human leukocyte antigen genotypes as determinants of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy phenotype*. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:2568-74.
- ⁵⁷ Gylling M, Kaariainen E, Vaisanen R, Solin ML, Halme L, Saari S, et al. *The hypoparathyroidism of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy protective effect of male sex*. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:4602-8.
- ⁵⁸ Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. *Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction*. Endocr Rev 2002;23:327-64.
- ⁵⁹ Soderbergh A, Myhre AG, Ekwall O, Gebre-Medhin G, Hedstrand H, Landgren E, et al. *Prevalence and clinical associations of 10 defined autoantibodies in autoimmune polyendocrine syndrome type I*. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:557-62.



La memoria immunitaria: chi fa gli anticorpi?



Rita Carsetti

*Laboratorio di Sviluppo
e Funzione dei Linfociti,
Ospedale Pediatrico
Bambino Gesù, Roma*

carsetti@opbg.net

Si suole dire che le immunoglobuline presenti nel siero rappresentano la nostra memoria immunologica, ovvero l'insieme degli anticorpi diretti verso tutti gli antigeni che il nostro organismo ha incontrato. L'affermazione è sicuramente corretta se ci riferiamo agli anticorpi che derivano dalla risposta immunitaria adattativa. Essi sono il prodotto finale della complessa risposta all'antigene che avviene, per esempio dopo un'infezione o una vaccinazione, nel centro germinativo ed hanno un'alta affinità per l'antigene che li ha indotti. Gli anticorpi adattativi riconoscono il loro antigene in maniera specifica ed esclusiva ed hanno la funzione di terminare l'infezione, eliminando tutti i patogeni dall'organismo e di prevenire la malattia nel caso di un nuovo incontro con lo stesso agente infettivo.

Oltre agli anticorpi adattativi, esistono nel siero anche gli anticorpi naturali. Questi sono prevalentemente di isotipo IgM e sono presenti indipendentemente da una precedente immunizzazione. Essi legano gli antigeni in maniera promiscua, cioè, al contrario degli anticorpi adattativi, non sono molto specifici e possono reagire con molti antigeni diversi per i quali hanno una bassa affinità. Tuttavia, poiché le IgM sono immunoglobuline pentameriche ed hanno dieci siti di legame per l'antigene, la loro avidità ne compensa la bassa affinità. Le IgM inoltre legano e attivano il complemento e perciò rappresentano un'efficiente prima linea di difesa contro i microbi che non abbiamo mai incontrato prima.

Quindi la funzione principale degli anticorpi naturali è quella di limitare la crescita e la diffusione dei patogeni lasciando il tempo alla reazione adattativa di produrre gli anticorpi ad alta affinità. L'importanza degli anticorpi è chiaramente dimostrata dallo studio di pazienti affetti da immunodeficienze primarie o secondarie dei linfociti B. I sintomi più frequenti sono infezioni ricorrenti e croniche delle basse vie aeree causate più frequentemente da batteri capsulati. Talvolta il quadro si complica con episodi di meningite e sepsi ripetute. Frequenti sono anche le infezioni gastrointestinali con diarrea e, in questi casi, le infezioni da enterovirus sono particolarmente aggressive e possono evolvere in meningoencefalite.

Nel sospetto di una immunodeficienza umorale è necessario studiare accuratamente i linfociti B.

La loro frequenza totale nel sangue periferico viene normalmente calcolata identificandoli con un anticorpo contro il marker CD19, che è presente sulle cellule della linea B dagli stadi precoci di sviluppo nel midollo (pro- e pre-B) fino a quelli più maturi in periferia ed è poi perso nelle plasmacellule. Non è sufficiente però sapere che un paziente ha una frequenza normale di linfociti B per escludere il sospetto di immu-

*Gli Autori dichiarano di non
avere alcun conflitto di
interesse rispetto all'argomento
trattato nell'articolo.*

nodeficienza. Infatti, la presenza di linfociti B nel sangue ci dice solo che le fasi precoci di sviluppo nel midollo funzionano, ma le cellule effettrici, che fanno anticorpi, derivano da un processo di maturazione che avviene in periferia e che passa attraverso stadi definiti. Nel sangue periferico ci sono tre popolazioni distinte di linfociti B, che possono essere riconosciute usando i marker CD24 e CD38 (Fig. 1). Le cellule transizionali (CD24++ CD38++) sono cellule relativamente immature che stanno migrando dal midollo agli organi linfatici periferici e qui si svilupperanno in cellule B mature-naive (CD24+CD38+). Queste ultime sono le cellule che popolano i follicoli linfatici e che, se incontreranno l'antigene per cui sono specifiche, inizieranno la risposta immunitaria e formeranno i centri germinativi. La terza popolazione di linfociti B è quella delle cellule B della memoria, CD24+++CD38-. Sia gli anticorpi adattativi che quelli naturali vengono prodotti dalle cellule B della memoria. Le cellule B della memoria sono caratterizzate dalla presenza di ipermutazioni somatiche nei geni che codificano per la regione variabile delle immunoglobuline, quella che lega l'antigene. La presenza di mutazioni somatiche dimostra che queste cellule hanno

già avuto una esperienza immunologica e sono state selezionate per la loro maggiore affinità all'antigene.

Le cellule B della memoria (Fig. 2) sono assenti alla nascita ed aumentano progressivamente negli anni con l'esperienza antigenica, data da infezioni e vaccinazioni. Nell'adulto esse sono il 30-50% dei linfociti B e rappresentano un pool molto stabile e longevo.

Una caratteristica fenotipica che identifica precisamente le cellule B della memoria è l'espressione del marker CD27 contemporaneamente ad un marker della linea cellulare B, come il CD19, il CD20 o il CD22 (Fig. 3). Le B della memoria sono di due tipi, riconoscibili studiando l'espressione delle immunoglobuline di superficie IgD ed IgM. Mentre cellule B mature-naive esprimono alti livelli di IgD e medi di IgM, le cellule B della memoria comprendono le IgM memory, che hanno sulla superficie molte immunoglobuline di tipo IgM e poche IgD e le switched memory che esprimono gli altri isotipi, IgG ed IgA.

Negli ultimi anni l'importanza delle cellule B della memoria è stata sottolineata da diverse osservazioni. È stato dimostrato che esse, soprattutto quelle di tipo IgM, diminuiscono drammaticamente nel sangue periferico dei

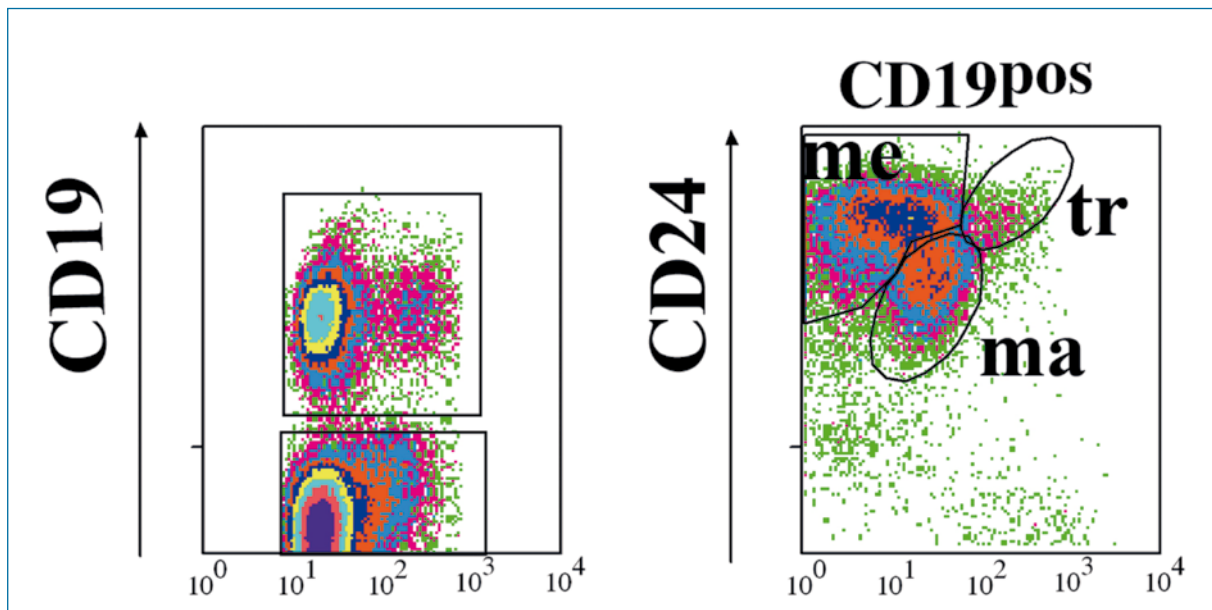


FIG. 1.

Analisi citofluorimetrica dei linfociti B nel sangue periferico. Le cellule sono state colorate con anticorpi diretti contro CD19, CD24 e CD38. Nel pannello di sinistra viene indicata la regione rettangolare che contiene tutte le cellule CD19pos e che è stata usata per identificare i linfociti B. Il pannello di destra mostra l'espressione di CD24 e CD38 sui linfociti B. Le regioni indicate contengono rispettivamente le cellule B transizionali (tr), le mature-naive (ma) e le memory (me).

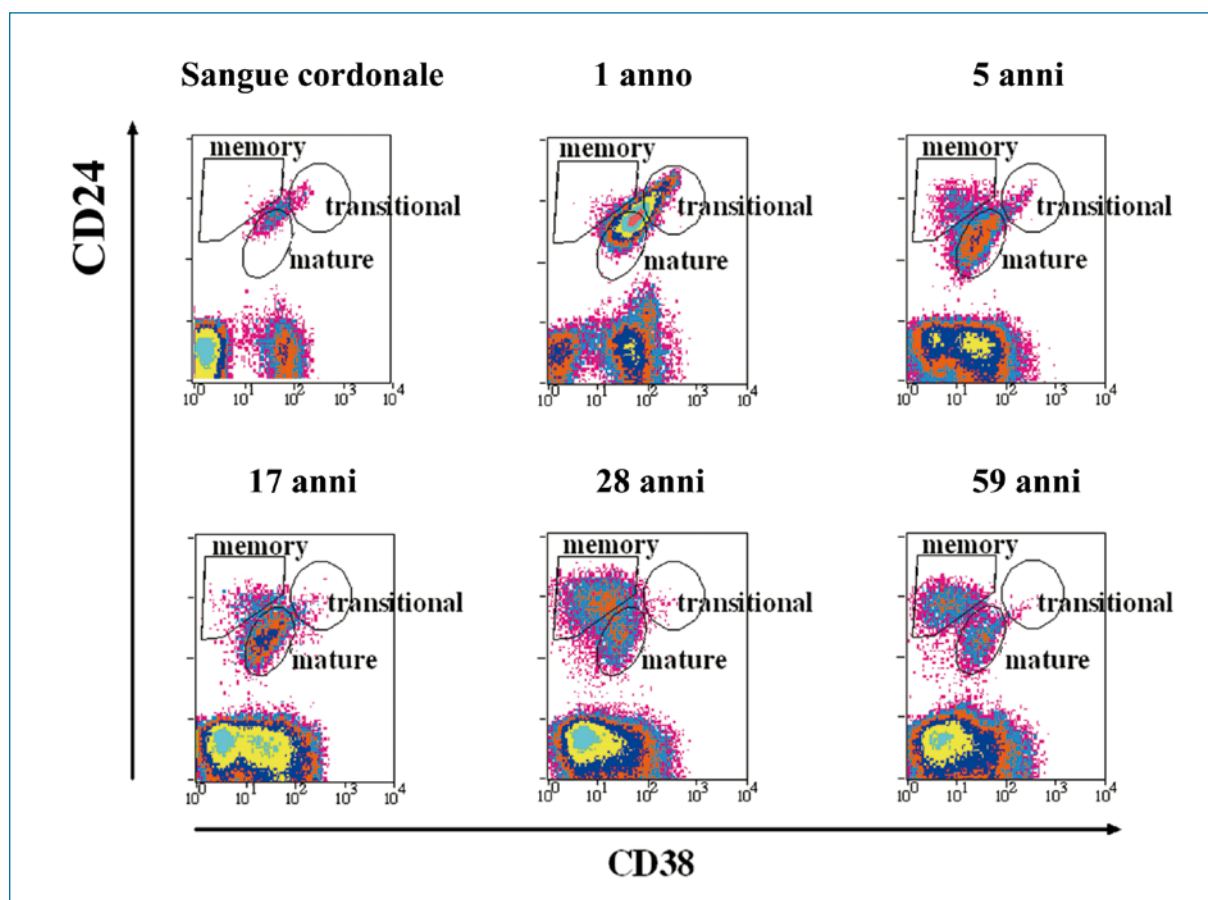


FIG. 2.

Analisi citofluorimetrica del sangue periferico di diversi individui alle età indicate. Il CD24 e il CD38 identificano le diverse popolazioni di linfociti B. Le cellule B della memoria sono assenti alla nascita ed aumentano lentamente con l'età.

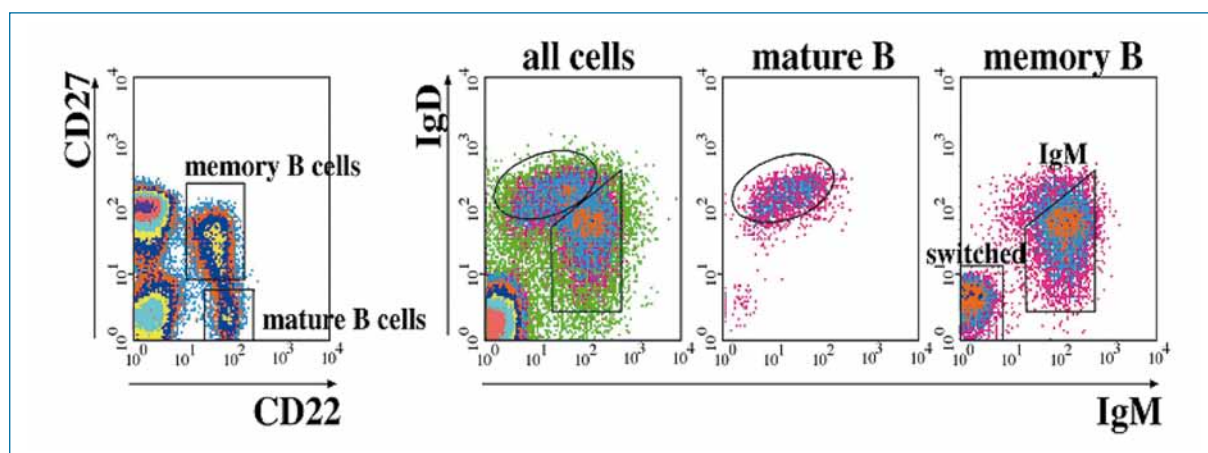


FIG. 3.

Analisi citofluorimetrica delle cellule B della memoria nel sangue dell'adulto. La colorazione è stata fatta usando contemporaneamente quattro anticorpi, anti-CD22, -CD27, -IgM e -IgD. Le cellule B della memoria sono incluse nella regione CD27^{pos} CD22^{pos}. Le cellule che esprimono il CD22, ma non hanno il CD27 sono B mature naive e transizionali (pannello di sinistra). Il pannello centrale mostra la distribuzione di IgM ed IgD sulle cellule CD27^{neg}. Le due popolazioni di cellule B della memoria, IgM memory e switched memory, sono evidenziate nel pannello di destra.

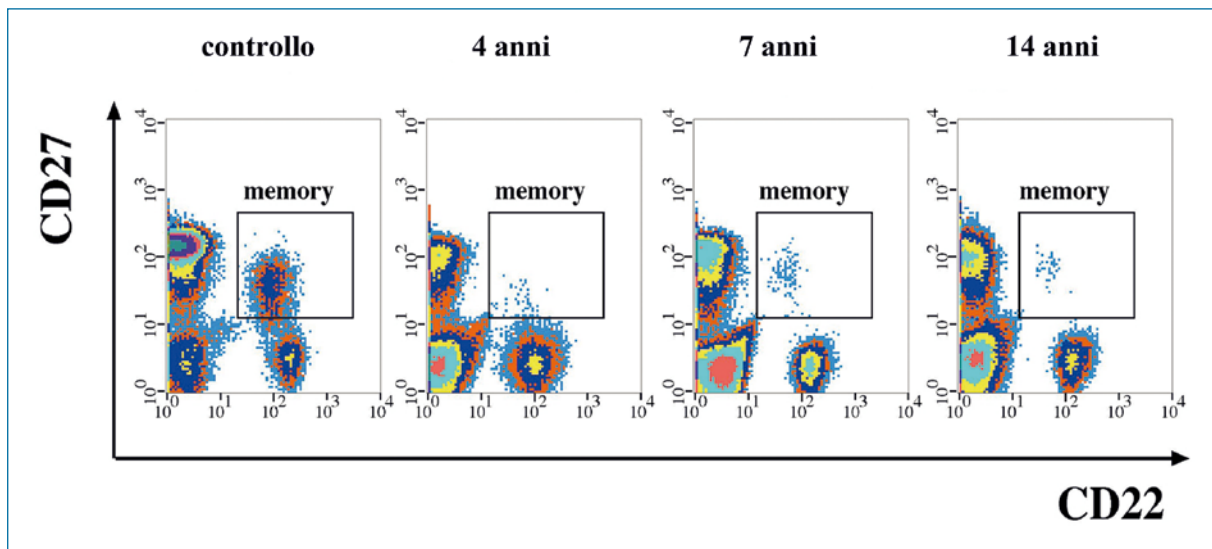


FIG. 4.

Analisi citofluorimetrica dei linfociti B nel sangue periferico di un controllo normale e di tre pazienti splenectomizzati eseguita ai tempi indicati dopo l'intervento. I marker usati sono CD22 e CD27. È evidente la riduzione delle cellule B della memoria.

pazienti splenectomizzati e asplenic (Fig. 4). Poiché l'assenza della milza predispone alle infezioni da pneumococco, le cellule B della memoria sono state studiate in altri gruppi di pazienti che soffrono dello stesso tipo di infezioni. Particolarmente interessante è lo studio dei pazienti affetti da Immunodeficienza Comune Variabile (ICV). Tutti i pazienti con questa sindrome, nonostante la frequenza delle cellule B CD19+ nel sangue periferico possa essere anche normale, non hanno anticorpi nel siero. Per questo il trattamento prevede in tutti i casi la somministrazione di immunoglobuline per via endovenosa o sottocutanea. Le preparazioni contengono anticorpi di tipo IgG ottenuti da individui normali e che quindi rappresentano la memoria immunologica dei donatori stessi. Il trattamento è molto efficace contro la maggioranza delle infezioni, ma non previene le patologie acute e croniche causate dallo pneumococco. Dei pazienti con ICV, solo una parte non soffre da infezioni ricorrenti da pneumococco, mentre nella maggioranza bronchiti e polmoniti ricorrenti portano a bronchiectasie e malattia polmonare cronica. Il confronto (Fig. 5) tra i linfociti B nel sangue periferico dei pazienti con e senza infezioni, dimostra che le cellule B della memoria di tipo switched sono diminuite in tutti i casi, spiegando l'agammaglobulinemia. Le cellule IgM memory invece sono presenti solo nel sangue dei pazienti che non soffrono

da infezioni da *Streptococcus pneumoniae*. Queste osservazioni dimostrano che le IgM memory svolgono un ruolo specifico e indispensabile nella difesa dai batteri capsulati e che la loro funzione non può essere sostituita dalle immunoglobuline di tipo IgG somministrate come terapia sostitutiva. In questa luce è possibile comprendere la predisposizione alle infezioni da pneumococco del neonato. Il bambino non ha cellule della memoria, né di tipo IgM né switched. La funzione di queste ultime è sostituita dagli anticorpi materni, che passano la placenta e che sono di tipo IgG. Non c'è sostituzione per le IgM memory e il bambino sarà predisposto alle infezioni da pneumococco fino a quando non si sarà costruito il suo pool, cosa che avviene normalmente nel secondo anno di vita. Perciò le IgM memory sono un tipo speciale di cellule B, che è specializzato per la difesa contro i batteri capsulati e che ha origine esclusivamente nella milza.

In conclusione (Fig. 6) quando un patogeno cerca di invadere il nostro organismo le cellule B che contribuiscono alla nostra difesa immediata sono quelle della memoria, che mantengono un livello basale di immunoglobuline nel siero e nei tessuti e migrano nei siti di infezione, dove producono anticorpi rapidamente, differenziandosi in plasmacellule. La risposta adattativa, che avviene nel centro germinativo, porta alla produzione di nuove

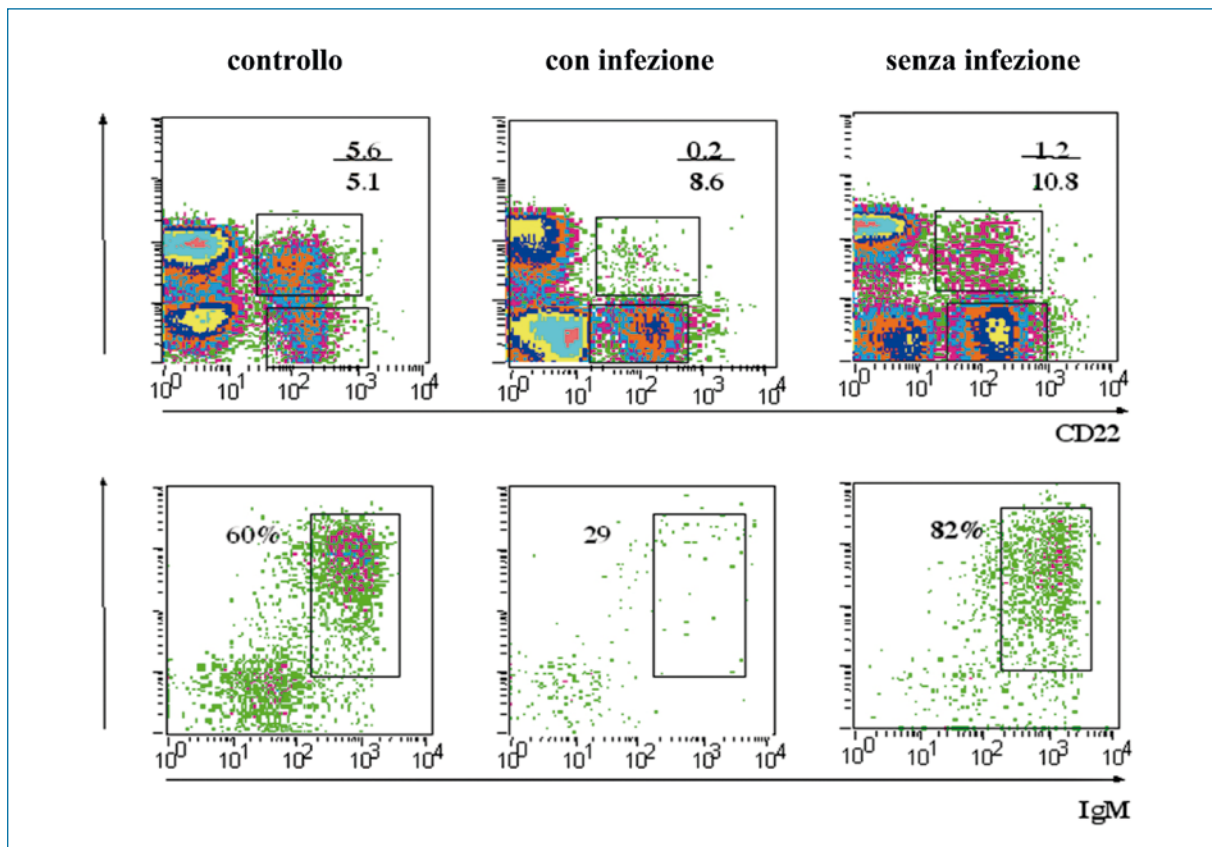


FIG. 5.

Analisi citofluorimetrica del sangue di un controllo normale e due pazienti affetti da ICDV, uno con infezioni ricorrenti e bronchiectasie ed uno senza sintomi polmonari. Le cellule del sangue periferico sono state marcate con anticorpi anti-CD22, -CD27, -IgM e -IgD. I pannelli superiori mostrano l'identificazione delle cellule B della memoria. Nei pannelli inferiori vengono mostrate le due popolazioni di cellule B della memoria.

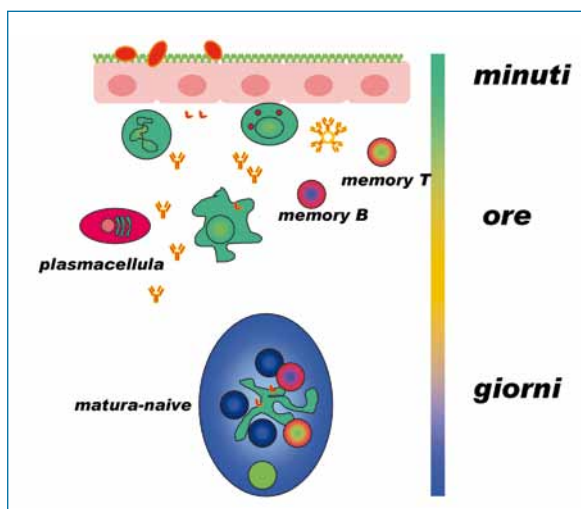


FIG. 6.

Rappresentazione schematica della risposta immunitaria con l'indicazione dei ruoli delle diverse popolazioni di linfociti B e dei tempi richiesti per il loro intervento.

cellule della memoria e plasmacellule, ma richiede una-due settimane di tempo. Questo tempo è necessario perché le cellule mature-naive nel follicolo proliferino, acquistino mutazioni somatiche, vengano selezionate e si differenzino.

BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

Ochsenbein AF, Zinkernagel RM. *Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity*. Immunol Today 2000;21:624-30.

Zinkernagel RM. *On natural and artificial vaccinations*. Annu Rev Immunol 2003;21:515-46.

Carsetti R, Rosado MM, Wardmann H. *Peripheral development of B cells in mouse and man*. Immunological Review 2004;197:179-91.

Carsetti R. *Characterisation of B cell maturation in the peripheral immune system*. Methods in Molecular Biology 2004;271:25-35.

Kruetzmann S, Rosado MM, Weber H, Germing U, Tournilhac O, Peter HH, et al. *Human IgM memory B cells controlling Streptococcus pneumoniae infections are generated in the spleen.* J Exp Med 2003;197:939-45.

Carsetti R, Rosado MM, Donnanno S, Guazzi V, Soresina A, Meini A, et al. *The loss of IgM memory B cells correlates with clinical disease in Common Variable Immunodeficiency.* J Allergy Clin Immunol 2005;115:412-7.

Carsetti R, Pantosti A, Quinti I. *Impairment of the antipolysaccharide response in splenectomized patients is due to the lack of immunoglobulin m memory B cells.* J Infect Dis 2006;193:1189-90.

Weller S, Braun MC, Tan BK, Rosenwald A, Cordier C, Conley ME, et al. *Human blood IgM «memory» B cells are circulating splenic marginal zone B cells harboring a prediversified immunoglobulin repertoire.* Blood 2004;104:3647-54.

Conley ME, Notarangelo LD, Etzioni A. *Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies).* Clin Immunol 1999;93:190-7.

Weller S, Faili A, Garcia C, Braun MC, Le Deist FF, de Saint Basile GG, et al. *CD40-CD40L independent Ig gene hypermutation suggests a second B cell diversification pathway in humans.* Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:1166-70.

Moschese V, Carsetti R, Graziani S, Chini L, Soresina AR, La Rocca M, et al. *Memory B-cell subsets as a predictive marker of outcome in hypogammaglobulinemia during infancy.* J Allergy Clin Immunol 2007;120:474-6.

Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. *Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency.* J Clin Immunol 2007;27:308-16.



Un canale dedicato alla prevenzione e sorveglianza degli eventi avversi a vaccini



I vaccini attualmente disponibili per la prevenzione delle malattie infettive hanno un elevato grado di sicurezza ed efficacia; essi possono tuttavia dar luogo a reazioni avverse che sono generalmente di modesta entità ma che, raramente, possono produrre manifestazioni cliniche più gravi. Molti di questi eventi sono prevenibili attraverso un'accurata anamnesi familiare e personale, altri invece sono imprevedibili. Risulta così necessaria un'attenta sorveglianza delle reazioni avverse a vaccini, attività che richiede una tempestiva notifica dell'evento osservato e competenze specialistiche per la valutazione.

La Regione Veneto, per rispondere all'aumentata domanda di sicurezza dei vaccini, nel 1993 ha istituito un servizio per la prevenzione, la valutazione e la sorveglianza delle reazioni avverse a vaccini, denominato Canale Verde, presso la Sezione di Immunologia del Dipartimento di Patologia dell'Università di Verona. Inizialmente attivato come Progetto a cadenza triennale, nel 2005 il Canale Verde è stato strutturato come Centro Regionale di Riferimento di Consulenza Prevaccinale e Sorveglianza degli eventi avversi a vaccinazione presso il Servizio di Immunologia Clinica del Policlinico dell'Azienda Ospedaliera di Verona. Il Centro, oltre a compiti di consulenza specialistica prevaccinale (a) e sorveglianza degli eventi avversi a vaccinazione (b), svolge anche attività scientifica e formativa, collaborando con la Direzione Regionale per la Prevenzione all'aggiornamento del personale in tema di sicurezza delle vaccinazioni^{1,2}. Recentemente infine, il Canale Verde è stato incluso nel coordinamento del pacchetto di lavoro sullo sviluppo di modelli per il monitoraggio, la prevenzione e la gestione degli eventi avversi a vaccini del progetto europeo VENICE (*Vaccine European New Integrated Collaborative Effort*), ideato per creare una rete europea per le vaccinazioni³.

Verranno di seguito descritte in dettaglio le due principali attività e il riepilogo dei dati ottenuti nel periodo 1992-2008.

a) Attività di consulenza specialistica pre- e post-vaccinale del "Canale Verde"

La consulenza viene effettuata per l'ammissibilità alla vaccinazione di persone con particolari problemi di salute o in caso di sospette reazioni avverse a vaccini. Si tratta di bambini e adulti, che alla raccolta dell'anamnesi prevaccinale standardizzata effettuata prima di ogni vac-

Giovanna Zanoni¹
 Fabiola Micheletti²
 Ilaria Lucchi¹
 Giovanna Frison³
 Francesca Russo^{3,4}
 Giuseppe Tridente¹

¹Servizio di Immunologia Clinica, Policlinico G.B. Rossi, Azienda Ospedaliera di Verona;
²Centro per la Ricerca e Valutazione dei Prodotti Immunobiologici, Istituto Superiore di Sanità, Roma; ³Direzione per la Prevenzione della Regione Veneto; ⁴Servizio Sanità Pubblica e Screening della Regione Veneto, Venezia

giovanna.zanoni@univr.it

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse rispetto all'argomento trattato nell'articolo.

cinazione, hanno mostrato potenziali rischi di eventi avversi o sospette controindicazioni alla vaccinazione da approfondire a livello specialistico presso il Centro. I pazienti vengono selezionati dagli operatori dei Distretti e segnalati al Medico Referente della relativa ULSS, incaricato dell'interazione diretta con il Centro e della formulazione della richiesta al Canale Verde per la valutazione della presunta controindicazione e/o reazione avversa a vaccino.

Il personale del Canale Verde seleziona quindi i casi da convocare presso il Centro per la visita ambulatoriale; per alcuni pazienti, il parere specialistico viene erogato sulla base della documentazione clinica inviata, in particolare per coloro che risiedono in zone distanti dal Centro. Per tutti i casi viene stilata una relazione conclusiva con le specifiche indicazioni sulle vaccinazioni. La visita di consulenza pre/post vaccinale e le eventuali prestazioni correlate (esami diagnostici, visite specialistiche) si effettuano in regime di esenzione dalla partecipazione alla spesa sanitaria con impegnativa del servizio sanitario nazionale, come stabilito dalla Regione Veneto.

Il servizio di consulenza è volto sia a chiarire situazioni clinicamente importanti, per mezzo di un adeguato approfondimento dell'entità reale delle controindicazioni, sia a assicurare fasce di utenza particolarmente sensibili a rischi, reali o presunti, legati alle vaccinazioni. La consulenza è svolta da un medico strutturato specialista in Allergologia e Immunologia e in Igiene e Medicina Preventiva, coadiuvato da un medico borsista e si basa su un'anamnesi approfondita e su eventuali accertamenti, compresi test allergologici e immunologici mirati, in vivo o in vitro, e/o visite o indagini specialistiche di altre discipline, quando ne sussistano le indicazioni. A iter completato, in una relazione conclusiva vengono riportate le indicazioni per la vaccinazione secondo routine o in sicurezza (day hospital, premedicazione), oppure la sospensione temporanea o l'esonero.

Nel caso si renda necessaria la vaccinazione in ambiente protetto, il personale del Canale Verde effettua direttamente la vaccinazione dei residenti a Verona presso la Clinica Pedia-

trica o la Rianimazione del Policlinico, mentre i pazienti di altre province vengono gestiti localmente negli ospedali territoriali di competenza secondo le indicazioni del Centro. Raramente, per casi particolarmente complessi o insoliti, il Centro si avvale del parere dei collaboratori internazionali esperti nella sicurezza dei vaccini, con i quali vengono discussi i dati clinici e il nesso causale tra vaccinazione e insorgenza di patologia.

Nel periodo 1992-2008 sono state effettuate 1280 consulenze prevaccinali per la valutazione di idoneità al proseguimento della vaccinazione dopo un evento avverso locale o sistemico (658 casi - 51,4%), o per l'accertamento di controindicazioni generali o specifiche a uno o più vaccini (622 casi - 48,6%). Di questi, 983 (77%) hanno riguardato la fascia d'età fino a 13 anni.

Una consulenza allergologica è stata effettuata in 415 casi (32%), limitando l'esecuzione dei test cutanei a lettura immediata o ritardata e/o del dosaggio delle IgE specifiche a 203, come prescritto dalle linee guida vigenti⁴⁵. Nel Box 1 viene riportato l'esempio di un caso gestito presso il Centro.

Complessivamente, un giudizio di idoneità alla vaccinazione è stato espresso in 998/1280 (78%) casi, specificando l'indicazione alla vaccinazione di routine o in ambiente protetto, con premedicazione o con preparato alternativo. L'esonero dalla somministrazione di uno o più vaccini è stato consigliato in 74 casi (5,8%) e la sospensione temporanea in 80 (6,3%).

Dei 699 vaccinati, 52 (7,4%) soggetti hanno riportato lievi reazioni locali o sistemiche alla rivaccinazione, regredite completamente entro qualche giorno con o senza terapia sintomatica. I rimanenti casi di idoneità che non risultano ancora vaccinati includono 121 rifiuti, 67 in attesa di vaccinazione, 30 sospensioni nonostante il parere favorevole del Centro, 81 mancanti del riscontro.

Il Centro offre anche un'attività di consulenza rapida, per quesiti generali o specifici riguardanti eventi avversi a vaccini e controindicazioni. L'attività viene attualmente erogata a mezzo telefax o e-mail per gli operatori sanitari e gli utenti. Dal 1992 sono stati complessivamente forniti 3010 pareri, alcuni a carattere

BOX 1. ALLERGIA AL VACCINO DIFTOTETANICO.

- GS: 17 anni, maschio, nato in Italia, adottato
- Buona salute, anamnesi personale negativa per allergie
- Vaccinato con ciclo completo di differite-tetano, polio, MPR senza presentare reazioni avverse
- Dose di richiamo DT a 5 anni: dopo 30 minuti comparsa di orticaria generalizzata e angioedema al volto, regrediti spontaneamente in 1,5 ore senza alcuna terapia
- A 12 anni vaccinazione anti epatite B sotto osservazione per un'ora: nessuna reazione avversa
- A 18 anni IgE totali: 428kU/L; IgE specifiche per tossoide tetanico: 0,7kU/L
- Poiché il ragazzo intendeva iniziare il lavoro di meccanico, categoria a rischio di infezione tetanica, dopo ottenimento del consenso informato scritto, è stato ospedalizzato per l'esecuzione dei test cutanei e della vaccinazione
- Con accesso venoso aperto, è stato sottoposto a prick test con vaccino DT, risultato negativo, e test intradermico con il vaccino diluito 1:100, risultato positivo
- Data la positività del test, si è resa necessaria la desensibilizzazione con vaccino DT, somministrando progressivamente intramuscolo ogni 15 minuti:

0,01 ml del vaccino diluito 1:100
0,01 ml della diluizione 1:10 e in seguito
0,01 ml, 0,1 ml, 0,15, ml 0,20 ml del vaccino indiluito
- Tutte le somministrazioni sono state tollerate e non si sono manifestate reazioni avverse.

di urgenza, di cui 2614 su singoli casi clinici e 396 su argomenti generali.

b) Sorveglianza degli eventi avversi a vaccini

Questa attività svolta, per tutto l'ambito regionale dal 1993, consiste in:

- gestione della banca dati di tutti gli eventi avversi a vaccinazione segnalati in Veneto;
- raccolta e analisi delle segnalazioni;
- monitoraggio degli esiti delle reazioni avverse alle vaccinazioni che non risultino risolte;
- sorveglianza attiva di particolari eventi avversi a vaccinazione, sulla base di segnali di allarme emersi dai medici segnalatori o dall'analisi della banca dati;
- redazione di rapporti annuali sulla suddetta attività.

Le schede di segnalazione di sospetta reazione avversa che, secondo il flusso regolato dal Decreto Legislativo 95/2003 ⁶, dal D.M. 12 dicembre 2003 ⁷ e dal Decreto Legislativo 219/2006 ⁸, sono trasmesse al Responsabile di Farmacovigilanza della struttura sanitaria di appartenenza e inserite in rete nella Banca dati Nazionale dell'Agenzia Italiana del Farmaco, vengono inviate in copia cartacea al Centro di Riferimento Regionale sul Farmaco dell'Unità di Farmacovigilanza dell'Università di Verona, e attraverso quest'ultimo al Canale Verde. Qui le schede vengono esaminate e classificate singolarmente con l'approfondimento dei casi gravi, dubbi o di particolare interesse. L'analisi ha lo scopo di verificare l'entità delle reazioni stesse in termini numerici e di gravità, effettuare un controllo sull'effettiva correlazione tra immunizzazione e rea-

zioni, classificare gli eventi segnalati, valutare l'opportunità di procedere ad un'eventuale sospensione della vaccinazione ed effettuare un monitoraggio nel tempo delle manifestazioni gravi, contattando periodicamente il medico che ha effettuato la segnalazione per verificare la guarigione.

Utilizzando un archivio predisposto nel database di ACCESS, annualmente viene effettuato un calcolo delle frequenze, delle notifiche per ULSS di appartenenza, tipo di vaccino somministrato, età dei soggetti, numero di dose, intervallo temporale tra somministrazione e insorgenza della reazione, tipo e localizzazione della manifestazione. La relazione causale tra vaccinazione e evento avverso viene classificata secondo quattro categorie con grado di causalità decrescente: attribuibile, probabile, possibile, non attribuibile, applicando criteri maggiori (temporale, biologico, statistico-epidemiologico, accertamento di altre cause non correlate) e criteri minori (clinico, bibliografico, individuazione di altre condizioni scatenanti). In caso di dati carenti l'evento è assegnato alla categoria "non classificabile". L'attività si basa sulle indicazioni riportate nelle linee guida emanate dall'OMS⁹ e sul modello di altri sistemi di sorveglianza degli eventi avversi, come quelli americano e canadese. Annualmente vengono pubblicate le relazioni sull'attività complessiva di consulenza e sorveglianza, al fine di fornire agli operatori informazioni di ritorno utili per la pratica vaccinale.

Il sistema di sorveglianza regionale, ad integrazione di quello nazionale, rappresenta un'importante fonte di dati per il monitoraggio della sicurezza dei vaccini, in particolare quelli di nuova introduzione. In caso di segnali di allarme su particolari vaccini o sindromi da approfondire, il Centro effettua analisi mirate dei dati, suggerendo alla Direzione Regionale le azioni necessarie.

Nell'ambito della sorveglianza regionale degli eventi avversi, nel periodo 1993-2008 sono state valutate e classificate 5006 schede di notifica. Il tasso di segnalazione medio è stato pari a 7 notifiche per 100.000 abitanti, anche se è presente una certa disparità nel numero delle notifiche pervenute dalle diverse ULSS, dato verosimilmente legato non a diversità di fre-

TAB. I.

Frequenza delle notifiche per classe di età dei soggetti.

Classi d'età	N.	%
< 1 anno	1119	22,3%
1-5 anni	1397	27,9%
6-13 anni	814	16,3%
> 13 anni	1602	32%
Non riportata	74	1,5%
Totale	5006	100%

quenza degli eventi avversi, bensì ad una variabile attenzione alla segnalazione da parte del personale vaccinatore. Complessivamente nell'intero periodo la frequenza maggiore di schede riguarda la fascia d'età superiore a 13 anni con il 32% di notifiche, seguita dalla fascia d'età tra 1 e 5 anni con il 27,9% (Tab. I). La Tabella II mostra la distribuzione complessiva delle dosi di vaccino riportate nelle notifiche, indipendentemente dalle co-somministrazioni. Dei 5907 vaccini, somministrati singolarmente o in associazione, la maggioranza delle segnalazioni riguarda nell'ordine l'esavalente, seguito dai tossoidi tetanico e difto-tetanico, dal vaccino anti epatite B e dal morbillo-parotite-rosolia (MPR). La frequenza complessiva delle segnalazioni ha risentito tuttavia delle modifiche del calendario vaccinale e delle modalità di vaccinazione nel corso degli anni. La tipologia degli eventi più frequentemente segnalati, singoli o associati, nelle 5006 schede di notifica è elencata nella Tabella III. Nell'intero periodo sono stati segnalati 9596 eventi, anche se non tutti correlabili causalmente ai vaccini somministrati. Le segnalazioni più numerose riguardano le reazioni locali nella sede di iniezione (26%), seguite dalla febbre, prevalentemente < 39,5°C, cefalea, orticaria, pianto persistente, irritabilità, esantema e artralgia.

Le manifestazioni segnalate nelle schede ritenute causalmente correlabili (4719 - 94,3%) sono state classificate in base al grado di severità in lievi (3006), rilevanti (1446) e gravi (267). Queste ultime, includevano 71 reazioni locali (ascessi o cellulite) e 196 eventi sistemici, nella maggior parte neurologici (Tab. IV). Di tutte le reazioni gravi, 253 (94,7%) si sono

TAB. II.

Vaccini somministrati singolarmente o in associazione.

Vaccino	N. %	
Esavalente	775	13,12
Tetano	687	11,63
DT	669	11,33
HB	574	9,72
MPR	566	9,58
DTaP	466	7,89
DTP	327	5,54
INF	233	3,94
Men C	199	3,37
PCV	194	3,28
DTaPHB	176	2,98
OPV	163	2,76
Hib	147	2,49
PV 23valente	118	2
IPV	115	1,95
Varicella	110	1,86
MPRV	74	1,25
Febbre gialla	43	0,73
Tifo orale	35	0,59
HPV	31	0,52
HA	30	0,51
aP	25	0,42
BCG	23	0,39
Morbillo	22	0,37
Tifo iniettabile	21	0,36
DTaPHibIPV	18	0,30
HA-HB	14	0,24
Rosolia	14	0,24
Altri	38	0,6
Totale	5907	100

Note: aP: antipertosse acellulare; BCG: vaccino antitubercolare; DT: vaccino antidiftetico; DTP: vaccino antidiftetico-antipertosse; DTaP: vaccino antidiftetico-antipertosse acellulare; DTaPHB: vaccino antidiftetico - antipertosse acellulare - antiepatite B; DTaPHibIPV: vaccino antidiftetico - antipertosse acellulare - anti-haemophilus influenzae tipo b - antipolio inattivato; Esavalente: vaccino antidiftetico - antipertosse acellulare - antiepatite B - antipolio inattivato - antihaemophilus influenzae tipo b; HA: vaccino antiepatite A; HB: vaccino antiepatite B; Hib: vaccino antihaemophilus influenzae tipo b; HPV: vaccino anti-papillomavirus; INF: influenza; IPV: vaccino antipolio inattivato; MEN C: vaccino antimeningococcico coniugato; MPR: vaccino antimorbillo-parotite-rosolia; MPRV: vaccino antimorbillo-parotite-rosolia-varicella; OPV: vaccino antipolio orale; PCV: vaccino antipneumococcico coniugato; PV 23valente: vaccino antipneumococcico 23valente; Tetano: vaccino antitetanico.

TAB. III.

Frequenza degli eventi riportati nelle schede di notifica.

Evento	N. %	
Reazione nella sede di iniezione	2498	26,03
Febbre < 39,5°C	1139	11,87
Febbre > 39,5°C	498	5,19
Cefalea	322	3,36
Orticaria	310	3,23
Pianto persistente	281	2,93
Irritabilità	276	2,88
Esantema	259	2,70
Artralgia	227	2,37
Prurito	184	1,92
Vomito	183	1,91
Eritema	156	1,63
Episodio ipotonico-iporesponsivo	138	1,44
Pallore	123	1,28
Astenia	118	1,23
Linfadenopatia	105	1,09
Diarrea	100	1,04
Nausea	91	0,95
Debolezza muscolare	87	0,91
Febbre non specificata	82	0,85
Sonnolenza	78	0,81
Anoressia	76	0,79
Ipotonia	73	0,76
Convulsioni febbrili	65	0,68
Vertigini	62	0,65
Malesse	61	0,64
Megalia della protide	61	0,64
Dolore addominale	58	0,60
Eruzione cutanea	57	0,59
Mialgia	49	0,51
Cianosi	48	0,50
Iperemia	45	0,47
Pre-sincope	44	0,46
Pianto acuto	42	0,44
Tosse	41	0,43
Altri (<40)	1559	16,25
Totale	9596	100

risolte con completa restituito ad integrum; sei soggetti con sintomatologia neurologica presentano sequele a distanza, 4 ulteriori casi risultano tuttora in terapia. Il Centro non ha ancora ricevuto le informazioni aggiornate su 4 casi, di cui perciò non si conosce l'esito. In base ai dati inviati, 287 segnalazioni (5,7%) sono state ritenute non correlabili causalmente alle vaccinazioni.

Sulla base del numero di dosi totali di vaccini somministrate nella Regione Veneto, l'incidenza media complessiva di eventi avversi segnalati nel periodo 1995-2008 è stata pari a 2,3/10.000 dosi somministrate.

TAB. IV.

Frequenza degli eventi avversi gravi riportati nelle schede correlabili.

Evento	N.	%
Reazioni locali:		
Ascesso	58	21,7
Cellulite	13	4,9
Reazioni Sistemiche:		
Convulsioni febbrili	62	23,2
Convulsioni afebrili	26	9,7
Disturbi atassici	19	7,1
Piastrinopenia	18	6,7
Shock anafilattico	11	4,1
Encefalopatia	7	2,6
Paralisi del VII nervo cranico	7	2,6
Vasculite	5	1,9
Sindrome di Guillain Barrè	4	1,1
ADEM	2	0,7
Artrite	2	0,7
Herpes zoster	2	0,7
Ipertono	2	0,7
Malattia da siero	2	0,7
Meningite/ Meningoencefalite a liquor limpido	2	0,7
Miopatia	2	0,7
Neurite brachiale/periferica	2	0,7
Porpora di Schoenlein-Henoch	2	0,7
Strabismo	2	0,7
Uveite	2	0,7
Altri (1 solo evento per tipo)	15	5,6
Totale	267	100

Note: ADEM: encefalomielite acuta disseminata

CONCLUSIONI

La valutazione specialistica del Canale Verde di soggetti a presunto rischio di reazioni avverse ha consentito di selezionare i casi per i quali la vaccinazione è stata ritenuta prioritaria, a fronte del rischio potenziale di presentare ulteriori reazioni. La quota di soggetti per i quali la prosecuzione del ciclo vaccinale poteva costituire un rischio superiore al beneficio derivante dalla completa protezione o risultava temporaneamente non indispensabile, è stata esonerata o sospesa dalla vaccinazione.

La sorveglianza delle sospette reazioni avverse a vaccino, attraverso una tempestiva e oggettiva valutazione delle schede di notifica, ha fornito un quadro dettagliato della reale entità e distribuzione degli eventi avversi nella regione Veneto. Tale attività ha consentito di ricavare dati obiettivi, che hanno costituito un elemento di razionalizzazione e di trasparenza nei confronti della popolazione assistita, non di rado preoccupata degli effetti indesiderati delle procedure vaccinali spesso paventate sulla base di singole segnalazioni. Ha inoltre fornito dati utili per la consulenza sui singoli casi e per il monitoraggio della sicurezza dei vaccini, in particolare di nuova introduzione o di ampliato utilizzo in virtù delle campagne vaccinali.

Il Canale Verde è unico in Italia su base regionale e tra i pochi in Europa ad agire in senso preventivo mediante un Servizio di consulenza pre-vaccinale per soggetti a rischio di reazione avversa a vaccino, oltre che ad espletare controlli post-vaccinali in caso di comparsa di reazioni avverse, operando un approfondimento sulle stesse e provvedendo alla loro corretta classificazione e alla diffusione periodica dei dati raccolti al personale vaccinatore.

L'esperienza pluriennale del Centro Regionale Veneto e i risultati conseguiti a costo contenuto, hanno portato l'autorità sanitaria regionale a proporre l'istituzione di analoghi centri nelle altre regioni, con la prospettiva di costituire una rete di strutture e di esperti in grado di condividere analisi e iniziative, al fine di potenziare l'attività di prevenzione e di sorveglianza degli eventi correlati alle procedure vaccinali.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Zanon G, Nguyen TMD, Valsecchi M, Gallo G, Tridente G. *Prevention and Monitoring of adverse events following immunization: the "Green Channel" of the Veneto Region in Italy*. *Vaccine* 2003;22:194-201.
- ² Zanon G, Ferro A, Valsecchi M, Tridente G. *The "Green Channel" of the Veneto Region as a model for vaccine safety monitoring in Italy*. *Vaccine* 2005;23:2354-8.
- ³ VENICE. *Vaccine European New Integrated Collaboration Effort* (available from: <http://venice.cineca.org/>).
- ⁴ Network Italiano dei Servizi di Vaccinazione. *Guida alle controindicazioni alle vaccinazioni*, 4ª edizione, 2008. http://www.epicentro.iss.it/focus/piano_prevenzione/niv.asp
- ⁵ Wood RA, Berger M, Dreskin SC, Setse R, Engler RJM, Dekker CL, et al. *An algorithm for treatment of patients with hypersensitivity reactions after vaccines*. *Pediatrics* 2008;122:e771-7.
- ⁶ Decreto Legislativo 8 aprile 2003, n.95. *Attuazione della direttiva 2000/38/CE relativa alle specialità medicinali*. *Gazzetta Ufficiale* n. 101 del 3 maggio 2003.
- ⁷ Decreto Ministero della Salute 12 dicembre 2003. *Nuovo modello di segnalazione di reazione avversa a farmaci e vaccini*. *Gazzetta Ufficiale* n. 36 del 13 febbraio 2004.
- ⁸ Decreto Legislativo 24 aprile 2006, n. 219. *Attuazione della direttiva 2001//83CE (e successive direttive di modifica) relativa ad un codice comunitario concernente i medicinali per uso umano, nonché della direttiva 2003/94/CE*. *Gazzetta Ufficiale* n. 142 del 21 giugno 2006.
- ⁹ *Immunization Safety Surveillance: guidelines for managers of immunization programmes on reporting and investigating adverse events following immunization*. WPRO/EPI/99.01. Manila: WHO Regional Office for the Western Pacific; 1999.





Revisione delle cause associate all'orticaria cronica in gruppi di bambini

**A cura della
Commissione "Allergia
a farmaci, lattice ed
orticaria" della SIAIP**

Roberto Bernardini¹
(coordinatore)

Carlo Caffarelli²
Fabio Maria Agostinis³
Salvatore Barberi⁴
Barbara Cuomo⁵
Fabio Cardinale⁶
Fabrizio Franceschini⁷

**E con il contributo di
Carlotta Povesi Dascola,
Clinica Pediatrica,
Dipartimento dell'Età
Evolutiva, Università di
Parma**

¹ UOC Pediatria, Nuovo
Ospedale S. Giuseppe,
Empoli (FI);

² Clinica Pediatrica,
Dipartimento dell'Età
Evolutiva, Università di
Parma;

³ USC Pediatria, Bergamo;

⁴ UOC Pediatria, Ospedale
Sant'Andrea, II Facoltà
Università "La Sapienza",
Roma;

⁵ UOC Pediatria, Viterbo;

⁶ Clinica Pediatrica,
Università di Bari;

⁷ UOC Pediatria, Ospedale
G Salesi, Ancona

r.bernardini@usl11.tos.it

*Gli Autori dichiarano di non
avere alcun conflitto di
interesse rispetto all'argomento
trattato nell'articolo.*

INTRODUZIONE

L'orticaria cronica viene definita come presenza giornaliera o nella maggior parte dei giorni di ponfi o angioedema per un periodo superiore alle 6 settimane ^{1,2}.

È considerata più frequente negli adulti che nei bambini, ma la sua incidenza non è conosciuta. È una malattia spesso sottovalutata perché non pericolosa, tuttavia i pazienti provano una grande sofferenza sia per l'incessante prurito sia per lo stress psicologico derivato dalle "deformazioni" dell'aspetto fisico.

L'orticaria cronica viene tradizionalmente associata a numerosi fattori eziologici anche se una parte consistente deve essere considerata idiopatica ³.

Obiettivo di questa review è cercare di chiarire quali siano le cause associate con l'orticaria cronica in gruppi di bambini allo scopo di arrivare a definire un set di indagini che possano essere utili al pediatra nella gestione del proprio paziente.

LA RICERCA BIBLIOGRAFICA

Una ricerca sistematica di articoli riguardanti l'orticaria cronica nei bambini, pubblicati dal 1966 ad oggi, è stata eseguita nel maggio 2008 sui database EMBASE, PUBMED e COCHRANE LIBRARY in modo indipendente da due revisori per ciascun database. Furono utilizzate le seguenti parole chiave: "chronic urticaria", "risk", "cohort studies".

I criteri per includere i lavori nello studio erano i seguenti: popolazione di età pediatrica (età 0-18 anni) con orticaria di durata superiore alle 6 settimane, in lingua inglese, almeno tre cause di orticaria indagate nella popolazione studiata. Sono stati esclusi case report e abstract.

GLI ARTICOLI

I 135 lavori considerati pertinenti alla ricerca sono stati esaminati al fine di individuare quelli adeguati per il nostro studio ed eventuali voci bibliografiche utili per questa revisione. 10 esaminavano le cause di orticaria cronica in gruppi di bambini. Abbiamo reperito il testo di 6 di questi lavori che erano in grado di soddisfare tutti i criteri di inclusione nello studio. Gli articoli furono revisionati separatamente ed in cieco secondo una scheda di valutazione che comprendeva: qualità dell'evidenza secondo il metodo GRADE ^{4,5}, disegno dello studio, partecipanti (numero, ambiente di reclutamento, criteri diagnostici, età, paese), test diagnostici, obiettivo, risultati, conclusioni degli Autori, commenti degli

Autori e corrispondenze, riferimenti bibliografici significativi. Le loro caratteristiche sono riassunte in Tabella I.

Harris et al.⁶ hanno eseguito uno studio retrospettivo di bambini visitati presso l'*Allergy Clinic of Children's Hospital Medical Center* per orticaria cronica della durata superiore alle sei settimane, tra il 1977 e il 1981. Senza chiarire sempre la motivazione in alcuni bambini sono stati eseguiti: conta dei globuli bianchi ed eosinofili, VES, IgG, IgA, IgE, anti-tripsina, ANA, C3, C4, C1 inibitore, funzionalità tiroidea, coltura di cellule Raji, ice cube test, tampone faringeo, Rx torace, ricerca dei parassiti nelle feci. L'eziologia venne riconosciuta in 15/94 (15,95%) bambini (Tab. II). L'orticaria da freddo confermata dal

test con cubetto di ghiaccio era la più frequente (8,51%), seguita dalle infezioni (2,12%): 1 sinusite e 1 epatite. Altre cause erano in 2 casi assunzione di cibo legato alla comparsa di orticaria con SPT concordanti e positivi e risposta favorevole alla dieta di eliminazione, 1 caso di artrite reumatoide giovanile, 1 di artralgia con ANA positivi e 1 di deficit di CH50.

Al follow-up furono seguiti 52 bambini (in media per 24,3 mesi), di questi in 19 (37%) vi fu risoluzione completa dell'orticaria, in 11 (21%) fu considerata inattiva e 22 (42%) continuarono a presentare orticaria. Nei 15 bambini in cui fu associata una causa, 11 continuavano ad avere sintomi, in 2 la risoluzione delle sinusite dopo antibiotico e dell'epatite si ac-

TAB. I.
Caratteristiche degli studi considerati.

Autori	Disegno dello studio	Popolazione	Ambiente di reclutamento	Criteri diagnostici	Scopo e durata dello studio	Qualità dell'evidenza GRADE
Harris et al. ⁶	Retrospettivo	N: 94 Età: < 16 aa	Ambulatoriali c/o Allergy Clinic of Children's Hospital Medical Center, Harvard Medical School, Boston, USA	Orticaria > 6 settimane	Fattori eziologici orticaria 4 anni	Bassa
Kauppinen et al. ⁷	Retrospettivo	N: 55 Età: 6mm -16 aa	Ricoverati c/o Hospital for Allergic Diseases, University Central Hospital, Helsinki, Finlandia	Orticaria > 2 mesi	Fattori eziologici orticaria 4 anni	Bassa
Volonakis et al. ⁸	Osservazionale prospettico	N: 226 M 122, F 104 Età < 14 anni	Ricoverati e ambulatoriali c/o St. Sophia Children's Hospital, Atene, Grecia	Orticaria > 6 settimane	Fattori eziologici orticaria 4 anni	Bassa
Brunetti et al. ⁹	Osservazionale prospettico	N: 93 M 52, F 41 Età: 9 mm-16 aa	Non specificato se ricoverati c/o Clinica Immuno - Allergologica Pediatrica, Università di Bari	Orticaria > 2 volte/settimana e per più di 2 mesi	Fattori eziologici orticaria 2 anni	Bassa
Sackesen et al. ¹⁰	Osservazionale prospettico	N: 17 M 12, F 5 Età: 1-19 aa	Pediatric Allergy and Asthma Unit, Children's Hospital, Ankara, Turchia	Orticaria > 6 settimane	Fattori eziologici orticaria 10 mesi	Bassa
Du Toit et al. ¹¹	Osservazionale Caso - controllo aperto	N: 80 M 43, F 37 Età: 1,25-19 aa Gruppo controllo N: 88	Allergy and Dermatology Clinic of the Red Cross Children's Hospital, Cape Town, South Africa	Orticaria > 6 settimane	Valutare frequenza di FcεR1, IgE specifiche A. Lumbricoides 5 anni	Bassa

compagnava a scomparsa dell'orticaria, gli ultimi 2 furono seguiti per meno di 1 anno. Kauppinen et al.⁷ hanno effettuato uno studio retrospettivo di bambini ricoverati presso un ospedale pediatrico (Hospital for Allergic Disease di Helsinki) per orticaria cronica della durata superiore ai 2 mesi, tra il 1976 e il 1980. Furono eseguiti emocromo, esame urine ed esame parassitologico delle feci. In un numero non chiaro di soggetti: skin prick test (SPT), Radio-Allergo-Sorbent test (RAST) per inalanti, prick by prick per frutta e vegetali, challenge orale per additivi. In caso di angioedema fu studiata la complementemia sierica, in caso di sospetta infezione coltura per batteri, e Rx; test per dermatografismo, freddo, caldo, pressione e da sforzo per l'orticaria fisica. Nel 65% dei casi venne riconosciuta l'eziologia (Tab. II). L'orticaria fisica (29%) era la più frequente, seguita da un'elevata frequenza di orticaria da additivi (21%), da allergie alimentari (9%) e da infezioni (7%). Al follow up, in media dopo 3,8 anni, il 50% dei bambini con orticaria cronica era asintomatico. L'assenza di sintomi ha simile frequenza nelle forme idiopatiche ed in quelle con un fattore eziologici associato. Gli Autori reputano che l'elevata percentuale

di casi in cui fu possibile determinare l'eziologia dell'orticaria sia dovuto al fatto che l'ambiente di reclutamento fosse una clinica altamente specializzata.

Tra le varie cause associate, la risoluzione delle parassitosi si accompagnava a risoluzione dell'orticaria nell'unico caso trovato, lo stesso accadeva in caso di infezione, per le altre cause i dati riportati non sono chiari.

Volonakis et al.⁸ osservarono 226 bambini di età inferiore ai 14 anni ricoverati o ambulatoriali presso il St. Sophia Children's Hospital di Atene, tra il 1985 e il 1989. A tutti i bambini venne eseguito uno screening iniziale con anamnesi, esame obiettivo, VES, emocromo, esame citochimico delle urine. Successivamente, a discrezione del medico, principalmente in base al sospetto clinico, si sottoposero i bambini a test in vivo (SPT, dermatografismo, ice-cube test, test dell'acqua calda, prova da sforzo), esami specifici di laboratorio (IgE totali e specifiche, complemento, PCR, ANA, T3, T4, TSH, agglutinine fredde, esame parassitologico delle feci, tampone faringeo, Rx seni paranasali e torace, HbsAg, transaminasi), dieta di eliminazione, test di provocazione orale in doppio cieco per alimenti ed additivi. Nessun partecipante

TAB. II.

Cause associate all'orticaria negli studi selezionati.

Cause	Harris '83 ⁶	Kauppinen '84 ⁷	Volonakis '92 ⁸	Brunetti '04 ⁹	Sackesen '04 ¹⁰	Du Toit '06 ¹¹
Idiopatica	79/94	19/55	171/226	27/93	8/17	-
Fisiche	8/10	16/55	14/226	25/93	9/17	-
Agglutinine a frigore	0/8	-	3/22	-	-	-
Infezioni	2/87	4/55	3/226	20/93	6/17	-
Parassiti	0/2	1/55	7/189	-	0/17	1/39
Allergie alimentari	2/48	5/55	9/21	5/93	2/17	0/80
Allergie inalanti	0/34	0/55	5/196		0/17	-
Additivi	-	12/55	6/23	-	0/17	-
Farmaci	-	0/55	4/226	-	3/17	-
Auto abtiroidei	0/5	-	-	0/93	0/17	-
T3, T4, TSH	0/5	-	0/16	0/93	-	-
Autoimmune						
Asst	-	-	-	22/49	-	18/44
Altri	-	-	-	21/52 (HR-test)	-	37/78 (FcεR1α)
RA	-	-	0/56	-	-	-
ANA	1/20	-	0/56	0/93	0/17	-
Ab anti-DNA	-	-	-	0/93	0/17	-
Complementemia	1/68	0/55	0/112	-	-	-

venne perso. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella II. Volonakis⁸ concluse che l'orticaria fisica, infettiva e da additivi alimentari/farmaci rappresentano le eziologie più comuni nei bambini, che nella maggior parte dei casi (76%) rimane sconosciuta.

La terapia causale portò a risoluzione dell'orticaria nelle forme da streptococco e parassitarie, così come l'allontanamento dalla stagione pollinica.

Brunetti et al.⁹ reclutarono 93 bambini, affetti per orticaria cronica nella Clinica Immuno-Allergologica Pediatrica di Bari tra il 2000 e il 2002. I test eseguiti furono anamnesi, esame obiettivo, emocromo con formula, IgG, IgE totali, IgA, IgM, VES, funzionalità epatica, Ab antistreptolisina, complementemia, TSH, Ab antinucleo, Ab antiDNA, Ab anti cellule parietali, autoanticorpi tiroidei, titoli anticorpali per HBV, HCV, EBV, TORCH, urea test per H. pylori, urine e urocultura, parassiti nelle feci, tampone faringeo e vulvare per SBEA e S. Aureus, Rx seni paranasali e torace, SPT per inalanti ed alimenti, ice cube test, dermatografismo. In un secondo momento ad una parte di bambini fu eseguito l'autologous serum skin test (ASST) e a 52 il serum induced basophil histamine release (HR test) per individuare un'eventuale eziologia autoimmune. Questi test permisero di diminuire il numero dei bambini con orticaria idiopatica. I risultati ottenuti sono indicati nel dettaglio in Tabella II. L'esecuzione dei test ASST e HR riduce la percentuale di diagnosi di orticaria idiopatica a circa il 25%. L'ASST ha una sensibilità ed una specificità rispettivamente del 78% e dell'85%, un valore predittivo positivo del 74% e negativo dell'88%, vi è una concordanza tra ASST e HR test nell'83%. Pertanto l'ASST, test economico e di facile esecuzione, può essere utilizzato perché predittivo di orticaria autoimmune anche in assenza dell'HR test. Gli Autori sottolineano come gli autoanticorpi siano riscontrabili anche in bambini con cause note di orticaria cronica (fisica, infettiva, allergica) e ciò giustifica il sospetto che essi contribuiscano a determinare e mantenere l'orticaria.

Sackesen et al.¹⁰ hanno eseguito uno studio osservazionale di bambini di età inferiore ai 19 anni presso la *Pediatric Allergy and Asthma Unit* del *Children Hospital* di Ankara, al fine di determinare l'eziologia dell'orticaria cronica. A tutti i bambini furono eseguiti anamnesi, esame obiettivo, esami ematici

(VES, PCR, IgA, IgG, IgM, IgE, emocromo, SGOT, SGPT), sierologie per EBV, CMV, H. simplex, M. pneumoniae, C. pneumoniae, H. pylori, HAV, HBV, HCV, complementemia, TAS, Clamidia, esame parassitologico delle feci, tampone faringeo, esame urina ed urino coltura. Inoltre, in bambini con sospetta allergia furono eseguiti SPT per alimenti ed inalanti e challenge per l'alimento; test per orticaria fisica in caso di sospetto clinico; colture batteriche e sierologia per vari virus in caso di probabile eziologia infettiva; ANA, antiDNA, autoanticorpi tiroidei. L'eziologia più frequente era idiopatica (47%), seguita da cause fisiche (Tab. II), in accordo con gli studi di Volonakis⁸ e Kaupinen⁷. Al terzo posto sono le infezioni (35%). Tre pazienti avevano infezione da H. pylori, 1 IVU, 1 C. pneumoniae, 1 EBV. La diagnosi era confermata solo in un soggetto tra i 4 con sierologia positiva per H. pylori, dove viene eseguita la biopsia e gli Autori riportano che l'orticaria scompare in seguito a terapia specifica. Nel caso dell'infezione delle vie urinarie specificano che con la terapia antibiotica scompare l'orticaria. È da notare che non vi era differenza nella positività dei test culturali e sierologici per agenti infettivi, tra coloro che avevano sintomi infettivi e quelli che non ne presentavano.

Du Toit et al.¹¹ eseguirono uno studio prospettico caso/controllo di bambini di età compresa tra 1,25-19 anni, visitati presso l'*Allergy and Dermatology Clinic of The Red Cross Children's Hospital* di Cape Town in un periodo complessivo di 2 anni. Un gruppo controllo includeva bimbi con eczema l'altro soggetti sani. Viene indicata la metodologia di esecuzione dei test. Furono eseguiti a tutti i bambini anamnesi ed esame obiettivo, ad una parte di bambini emocromo con formula, VES, ice cube test e dermatografismo. Sono stati esaminati tutti i bambini per ipersensibilità agli alimenti mediante il dosaggio delle IgE specifiche per albume, merluzzo, soia, grano, latte vaccino e arachidi, e la risposta alla dieta di eliminazione. È stata eseguita la ricerca di A. Lumbricoides nelle feci e con IgE, e la frequenza di autoanticorpi tramite l'ASST test e il *Functional Anti-Fcε Receptor Assays* (FcεR1α). Tuttavia sono stati persi più del 20% dei partecipanti nell'esecuzione del dosaggio delle IgE specifiche per A. Lumbricoides e nell'esecuzione dell'ASST test, fattore che ne limita il valore.

I risultati ottenuti non mostrano alcuna differenza statisticamente significativa nella conta dei basofili, degli eosinofili e della VES in confronto ai controlli sani. Furono trovati CAP-RAST positivi in 20/77 bambini con orticaria cronica rispetto a 31/38 con dermatite atopica ($p < 0.001$). In nessun bambino con orticaria cronica i valori di IgE specifiche hanno ecceduto il 95% del valore predittivo positivo precedentemente stabilito, al contrario di quanto avvenuto nei bambini con dermatite atopica. La dieta di eliminazione nei bambini sospettati di allergia alimentare non ha dato alcun miglioramento della sintomatologia né una riduzione della terapia con antistaminici. L'esame microscopico delle feci è risultato positivo per *A. Lumbricoides* in 1/39 (3%) dei bambini con orticaria cronica e in nessun bambino con dermatite atopica ($p < 0.005$) (Tab. II). IgE specifiche per *A. Lumbricoides* $>$ di 0,35 kU/L in 21/72 (29%) bambini con orticaria cronica ed in 25/38 (6%) con dermatite atopica, eosinofilia simile nei due gruppi. Molti bambini avevano eseguito un trattamento antelmintico prima di essere valutati. FcεR1α test risultarono positivi in 37/78 (47%) bambini con orticaria cronica, in nessuno con dermatite atopica. ASST test fu positivo in 18/44 (41%) dei bambini con orticaria cronica, senza alcuna correlazione tra ASST positivo e remissione clinica o con FcεR1α positivo. Non venne trovata alcuna correlazione tra FcεR1α positivo e sensibilizzazione agli alimenti o IgE specifiche positive per *A. Lumbricoides*. Nessuna differenza tra maschi e femmine nella positività di FcεR1α e ASST. L'FcεR1α non correlava positivamente con ASST positivo a differenza di quanto riportato da Brunetti et al.⁹. Gli Autori giustificano la mancata correlazione tra FcεR1α e ASST dal fatto che questi ultimi sono stati eseguiti solo in 44 bambini. Sottolineano come l'uguale distribuzione nei due sessi di FcεR1α positivo dimostri la presenza di bias per i maschi negli studi pediatrici precedentemente condotti e per le femmine negli studi con adulti. A differenza di quanto dimostrato negli studi con adulti non è stato riscontrato un minor numero di basofili circolanti in bambini con orticaria cronica. Non sono stati individuati fattori predittivi per la remissione dei sintomi.

QUALITÀ DEGLI STUDI

Dal punto di vista metodologico gli studi

sono stati valutati secondo il metodo GRADE ed unanimemente giudicati di scarsa qualità. Sono tutti studi in aperto e, ad eccezione di uno¹¹, non controllati. I bambini reclutati rappresentano una popolazione di pazienti selezionata perché arruolati in cliniche specializzate.

Riguardo ai test diagnostici utilizzati, i limiti di riferimento per i valori normali non vengono riportati e, ad eccezione di Du Toit¹¹ e di Brunetti⁹ per l'ASST e per l'HR test, non vengono descritte le modalità di esecuzione dei test diagnostici; i test non sono quindi riproducibili.

Nella maggior parte degli studi, gli esami diagnostici vengono eseguiti non all'intera coorte ma ad una parte della popolazione iniziale perché scelta sulla base dell'anamnesi e dell'esame obiettivo o semplicemente a causa di perdite al follow up. In molti casi le perdite dei pazienti arruolati sono elevate: Harris⁶ perde il 44% dei bambini al follow-up, ed un numero elevato di bambini nell'esecuzione dei vari test diagnostici (Tab. II), Kauppinen⁷ il 19% dei bambini arruolati al follow up, Brunetti⁹ il 44% nell'esecuzione dell'HR-urticaria test, Du Toit¹¹ il 51% nell'esecuzione delle IgE specifiche ed il 45% nell'esecuzione dell'ASST, Sackesen⁹ il 51% nell'esecuzione dei prick test e dei test per la diagnosi di orticaria fisica.

Un altro limite è rappresentato dal fatto che in molti casi, gli studi non riportano se la diagnosi eziologica era confermata dalla scomparsa dei sintomi nel momento in cui si interveniva con l'allontanamento della causa, ad eccezione di Harris⁶ per 1 caso di sinusite, di Kauppinen⁷ e Volonakis⁸ per i parassiti e le infezioni, e ancora di Volonakis⁸ per i pollini. Infine occorre sottolineare che alcuni test, come ad esempio la ricerca dell'autoimmunità per celiachia, non sono presi in considerazione negli studi selezionati. Questo rende meno chiara l'interpretazione degli studi stessi.

CAUSE DI ORTICARIA

La scarsa qualità degli studi individuati insieme alla mancata verifica delle diagnosi, escludono la possibilità di stabilire con certezza quali siano le principali cause di orticaria cronica in età pediatrica. Tuttavia, gli studi inclusi in questa revisione permettono di indicare che la forma idiopatica è la più frequente e si presenta dal 29%⁹ al 84%⁶. Inoltre l'orticaria cronica si associa con quattro cause principali nei bambini.

Fisica

La forma fisica è la seconda causa più frequente. I test diagnostici (ice cube test, dermatografismo, ecc...), laddove eseguiti, rappresentano i test di riferimento e la diagnosi non necessita di altre conferme. Ad eccezione di Harris ⁶ e Volonakis ⁸ che riscontrano cause fisiche nel 8,51% e nel 6,2% dei soggetti studiati rispettivamente, gli altri studi ⁷⁻⁹⁻¹⁰ riportano percentuali superiori al 25%.

Infezioni

La presenza di infezioni associate all'orticaria cronica è variamente frequente, dal 35% ¹⁰, 21% ⁹ al 2,8% ¹¹, al 2,1% ⁶. La scomparsa dell'orticaria in seguito al trattamento dell'infezione è invece riportata aneddoticamente da Sackesen ¹⁰ in un paziente con infezione da *H. pylori*, ed in 1 con infezioni delle vie urinarie. Inoltre Volonakis ⁸ riscontra 3 casi di infezione streptococcica e 7 parassitosi e Kauppinen ⁷ 4 infezioni imprecisate e 1 parassitosi e nella discussione accennano al fatto che in quei pazienti, in cui l'infezione è stata trattata in modo appropriato si è osservata la scomparsa dell'orticaria. Harris ⁶ riporta la risoluzione dell'orticaria nei due casi di bambini con infezione, in 1 caso dopo antibioticoterapia della sinusite, nell'altro dopo risoluzione dell'epatite. Negli studi di Brunetti ⁹ e di Du Toit ¹¹, la diagnosi non viene confermata.

Allergia

Per quanto riguarda il rapporto con l'allergia alimentare, lo studio di Du Toit ¹¹, mostra che i bambini con orticaria e sensibilizzazione ad allergeni alimentari posti in dieta di eliminazione, in presenza o meno di IgE specifiche positive, in nessun caso presentavano scomparsa dell'orticaria né una riduzione nel dosaggio degli antistaminici somministrati per controllare i sintomi. In altre parole, la semplice individuazione di una sensibilizzazione allergica non implica un rapporto causale con l'orticaria cronica. Du Toit et al. ¹¹ concludono che la dieta di eliminazione non è indicata nei bambini affetti da orticaria cronica. Harris et al. ⁶ hanno riscontrato orticaria da allergia alimentare in due bambini, confermata dalla positività dei prick test e dalla risposta positiva alla dieta di eliminazione. Volonakis et al. ⁸ mediante l'esecuzione del Test di Provocazione Orale hanno confermato la diagnosi di allergia alimentare nel 3,4% dei casi, ma solo

in 21 bambini fu eseguito l'iter diagnostico completo. Altri studi, come quello di Sackesen ¹⁰ e Kauppinen ⁷, hanno riscontrato una percentuale di sensibilizzazione agli alimenti intorno al 10% ma la diagnosi non è stata confermata né con una dieta di eliminazione né con il Test di Provocazione Orale. Prendendo in considerazione i soli dati degli studi di Du Toit ¹¹ e Volonakis ⁸, i cui risultati vengono correttamente confermati, è possibile concludere che l'allergia alimentare non è una causa di orticaria cronica nel bambino o lo è in una piccola percentuale di casi (2,6%), pertanto non c'è indicazione all'esecuzione routinaria delle prove allergometriche né alla prescrizione della dieta di eliminazione di cui deve essere constatata la reale efficacia verificandone il risultato con l'esecuzione del Challenge.

L'associazione dell'orticaria cronica con intolleranza ad additivi è stata confermata tramite challenge nel 21% ⁷ e nel 2,6% ⁸. Non è però chiaro se l'eliminazione dell'additivo porta ad una risoluzione dell'orticaria cronica.

Per quanto concerne l'allergia ad inalanti solo Volonakis ⁸ riporta una risoluzione dell'orticaria con l'allontanamento dell'allergene pollinico. Harris ⁶ non riporta alcun caso di orticaria da allergia ad inalanti, nonostante una cutipositività per aeroallergeni in 17/34 bambini.

Negli studi esaminati ⁷⁻¹¹ l'intolleranza ai farmaci è stabilita sulla base dell'anamnesi. Solo Volonakis ⁸ indica i farmaci in causa: in 3 casi la penicillina, ed in 1 il fenobarbital.

Autoimmunità

Gli studi considerati ⁶⁻¹¹ non mostrano un rapporto tra orticaria e autoimmunità tiroidea.

Riguardo alle malattie connettivali solo Harris ⁶ riconduce l'orticaria alla presenza in 1 bambino di artrite reumatoide giovanile, ed in 1 di artralgia e ANA positivi.

La forma autoimmune legata alla presenza di IgG rivolti verso le IgE o al loro recettore mastocitario, sembra associarsi frequentemente all'orticaria cronica anche in età pediatrica. Du Toit et al. ¹¹ hanno individuato una differenza statisticamente rilevante tra il gruppo in studio rispetto al gruppo di controllo nella ricerca del FcεR₁. Il test è risultato positivo nel 47% dei pazienti con orticaria cronica ed in nessuno dei soggetti con dermatite atopica. In letteratura è riportata una buona correlazione tra il

dosaggio del FcεR₁ e l'esecuzione dell'ASST. Il vantaggio è nella semplice esecuzione dell'ASST e nel basso costo inoltre, come riportato da Brunetti et al.⁹, il test è dotato di una discreta sensibilità (78%) e di una buona specificità (88%). In contrasto con quanto segnalato in letteratura, Du Toit et al.¹¹ non hanno riscontrato alcuna correlazione tra la positività del FcεR₁ e dell'ASST, si tratta però di un risultato affetto da una perdita elevata (45%) di soggetti all'esecuzione dell'ASST.

Questi risultati incoraggierebbero l'esecuzione del test per autoanticorpi in tutti i bambini con orticaria cronica ma non è chiaro se per questi pazienti sia disponibile un trattamento più efficace rispetto a quello riservato ai pazienti con una forma idiopatica.

PRATICA CLINICA E RICERCA

Sono necessari studi che includano popolazioni non selezionate, abbastanza ampie per poter rispondere alla domanda su quali siano le cause di orticaria cronica nel bambino. Questi studi dovrebbero indagare tutte le possibili cause e la risposta all'allontanamento del fattore scatenante in causa. Per il momento, sulla base dei dati reperiti, possiamo dire che un'anamnesi ben condotta insieme all'esame obiettivo dovrebbero guidare la scelta di esami diagnostici mirati. In uno studio del 2008 di Thomas¹² bambini con orticaria cronica sono stati divisi in base ai dati anamnestici in chi non necessitava di eseguire alcun test diagnostico, in chi doveva eseguire i test allergometrici (prick test o dosaggio delle IgE specifiche) ed in chi doveva eseguire un maggior numero di test tra quelli definiti "additional investigations" (es. urine, emocromo, VES, transaminasi, screening per la celiachia, funzionalità tiroidea, autoanticorpi anti tiroide, test per orticaria fisica, dieta di eliminazione e challenge, ANA, biopsia cutanea, complementemia, crioproteine sieriche, esami di screening per malattie infettive). Gli "additional investigation" sono risultati positivi solo nel 5,2% dei casi e gli autori concludono che l'esecuzione di esami diagnostici nei bambini con orticaria cronica è raramente indicata.

Gli studi esaminati suggeriscono che nei bambini con orticaria cronica le cause fisiche, allergiche (molto rare) da alimenti o da inalanti andrebbero indagate solo sulla base di un convincente rapporto anamnestico di causa/effetto. Le infezioni associate sono principalmente: infezione delle vie uri-

narie, sinusite, H. pylori, streptococco, EBV, C. pneumoniae. Le malattie del connettivo vanno prese in considerazione di fronte ad un quadro clinico suggestivo. Gli studi esaminati non indicano un'utilità di indagare tra le cause autoimmuni quelle legate alla tiroide. Gli autoanticorpi IgG, che si associano spesso all'orticaria, potranno entrare nel bagaglio clinico quando si avrà a disposizione una provata terapia di scelta.

BIBLIOGRAFIA

- Grattan CEH and Humphreys F. *Guidelines for evaluation and management of urticaria in adults and children*. Br J Dermatol 2007;157:1116-23.
- Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W, Grattan CEH, Greaves MW, Henz BM, et al. EAA-CI/GA²LEN/EDF Guideline: management of urticaria. Allergy 2006;61:321-31.
- Powell RJ, Du Toit GL, Siddique N, Leech SC, Dixon TA, Clark AT, et al. *BSACI guidelines for the management of chronic urticaria and angio-oedema*. Clin Exp Allergy 2007;37:631-50.
- Schunemann HJ, Oxman AD, Brozek J, Glasziou P, Jaeschke R, Vist GE, et al. *Grading quality of evidence and strength of recommendations for diagnostic test and strategies*. BMJ 2008;336:1106-10.
- Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, et al. *GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations*. BMJ 2008; 336: 924-26.
- Harris A, Twarog FJ, Geha RS. *Chronic urticaria in childhood: natural course and etiology*. Annals of Allergy 1983;51:161-5.
- Kauppinen K, Juntunen K, Lanki H. *Urticaria in children*. Allergy 1984;39:469-72.
- Volonakis M, Katsarou-Katsari A, Stratigos J. *Etiologic factors in childhood chronic urticaria*. Annals of Allergy 1992;69:61-5.
- Brunetti L, Francavilla R, Miniello VL, Platzer MH, Rizzi D, Lospalluti ML, et al. *High prevalence of autoimmune urticaria in children with chronic urticaria*. J Allergy Clin Immunol 2004;114:922-7.
- Sackesen C, Sekerel BE, Orhan FO, Kocabas CN, Tuncer A, Adalioglu G. *The etiology of different forms of urticaria in childhood*. Pediatric Dermatology 2004;21:102-8.
- Du Toit G, Prescott R, Lawrence P, Johar A, Brown G, Weinberg EG, et al. *Autoantibodies to the high-affinity IgE receptor in children with chronic urticaria*. Ann Allergy Asthma Immunol 2006;96:341-44.
- Thomas P, Perkin MR, Rayner N, Cox H, Fox AT, Leech S, et al. *The investigation of chronic urticaria in childhood: which investigations are being performed and which are recommended?* Clin Exp Allergy 2008;38:1061-2.