



# GUIDA PRATICA LE IMMUNODEFICIENZE NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA

2ª edizione - 2023



Quest'opera è protetta dalla legge sul diritto d'autore. Tutti i diritti, in particolare quelli relativi alla traduzione, alla ristampa, all'utilizzo di illustrazioni e tabelle, alla registrazione su microfilm o in database, o alla riproduzione in qualsiasi altra forma (stampata o elettronica) rimangono riservati anche nel caso di utilizzo parziale. La riproduzione di quest'opera, anche se parziale, è ammessa solo ed esclusivamente nei limiti stabiliti dalla legge sul diritto d'autore ed è soggetta all'autorizzazione dell'editore. La violazione delle norme comporta le sanzioni previste dalla legge.

© Sintesi InfoMedica S.r.l.

Sebbene le informazioni contenute nella presente opera siano state accuratamente vagliate al momento della stampa, l'editore non può garantire l'esattezza delle indicazioni sui dosaggi e sull'impiego dei prodotti menzionati e non si assume pertanto alcuna responsabilità sui dati riportati, che dovranno essere verificati dal lettore consultando la bibliografia di pertinenza.



Copyright © 2023 by Sintesi InfoMedica S.r.l.  
Via Brembo 27 - 20139 Milano (MI)  
Tel. +39 02 56665.1

Stampatore: Grafica Ciuonzo  
Piazza San Canione, 2 - 81030 Sant'Arpino (Ce)

Stampa: novembre 2023

ISBN: 9788887844399



*Guida intersocietaria con il coordinamento scientifico del dottor Giuseppe Di Mauro*

*Promotore  
Michele Fiore*

*Piano dell'opera  
Michele Fiore, Lucia Leonardi*

*Coordinamento, revisione e cura  
Lucia Leonardi, Michele Fiore, Maria Carmen Verga*

***Nota per gli utilizzatori***

Il presente documento costituisce una versione integrale della Guida e può essere scaricato nella sua interezza dal sito web della Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale ([www.sipps.it](http://www.sipps.it), sezione Attività Editoriali).

***Nessuno degli Autori ha dichiarato alcun conflitto di interesse relativamente all'argomento trattato né ha ricevuto alcun compenso.***

## ELENCO AUTORI (ordine alfabetico)

<b>Aiuti Alessandro</b>	Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget), IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano. UO di Immunoematologia Pediatrica, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano. Università Vita-Salute San Raffaele, Milano
<b>Algeri Mattia</b>	U.O. Trapianto Emopoietico e Terapia Cellulare e Genica. Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica e Terapia Cellulare e Genica IRCCS Ospedale "Bambino Gesù", Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma.
<b>Azzari Chiara</b>	Immunologia - SOC Clinica Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze. Dipartimento di Scienze della salute, Università degli Studi di Firenze, Firenze
<b>Barretta Martino</b>	Pediatra di libera scelta, Rocca di Neto (KR)
<b>Badolato Raffaele</b>	Istituto di Medicina Molecolare "Angelo Nocivelli", Università degli Studi di Brescia & ASST Spedali civili, Brescia
<b>Bona Gianni</b>	Già Professore Ordinario, Università del Piemonte Orientale, Novara
<b>Campana Andrea</b>	Dipartimento di Pediatria (DEAPG), Unità pediatrica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Cancrini Caterina</b>	Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma. UO di ricerca Immunodeficienze primitive, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Canessa Clementina</b>	Immunologia - SOC Clinica Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze
<b>Caorsi Roberta</b>	UOC Reumatologia e Malattie autoinfiammatorie, IRCCS Istituto Gaslini, Genova
<b>Cardinale Fabio</b>	UOC di Pediatria e PS a indirizzo Allergo-Pneumologico e Immuno-Reumatologico, AOU Policlinico Giovanni XXIII, Bari - Centro Regionale di Riferimento sulle Immunodeficienze Congenite
<b>Caroli Margherita</b>	Pediatra libero professionista, Francavilla Fontana (BR)
<b>Castagnoli Riccardo</b>	Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia
<b>Castelli Gattinara Guido</b>	Istituto per la Salute del bambino e adolescente, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Chiappini Elena</b>	SOC Malattie Infettive, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer IRCCS, Firenze
<b>Cicalese Maria Pia</b>	Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget), IRCCS Ospedale San Raffaele Milano. UO di Immunoematologia Pediatrica, IRCCS Ospedale San Raffaele Milano. Università Vita-Salute San Raffaele, Milano
<b>Cirillo Emilia</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli



<b>Conforti Giorgio</b>	Pediatra libero professionista, Genova
<b>Consolini Rita</b>	Servizio di Immuno-Reumatologia pediatrica, Università degli Studi di Pisa
<b>Conti Francesca</b>	UO Pediatria, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna e Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche (DIMEC), Università degli Studi di Bologna
<b>Coppola Emma</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Costagliola Giorgio</b>	UO Oncoematologia Pediatrica, Ospedale Santa Chiara, Pisa
<b>Delmonte Ottavia Maria</b>	Immunodeficiency and Genetics Section (IDGS), NIH Main Campus, Bethesda, MD
<b>D'Avino Antonio</b>	Pediatra di libera scelta, ASL NA 3 Sud, Napoli – Presidente Nazionale FIMP
<b>Delle Cave Valeria</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Dellepiane Rosa Maria</b>	Area pediatrica, Centro RITA-ERN, Fondazione IRCCS Ca'Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano
<b>Dello Iacono Iride</b>	Pediatra Allergologo. Libero professionista. Benevento (BN)
<b>Diaferio Lucia</b>	UOC Pediatria e Neonatologia, Ospedale Monsignor A.R. Dimiccoli, Barletta, Asl BT
<b>Di Dato Fabiola</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Di Mauro Dora</b>	Pediatra di libera scelta, AUSL Modena, Carpi (MO)
<b>Di Mauro Giuseppe</b>	Pediatra di Libera Scelta, ASL Caserta, Aversa (CE) - Presidente SIPPS
<b>Di Matteo Gigliola</b>	Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Laboratorio di Immunologia pediatrica, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma
<b>Di Sessa Anna</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Duse Marzia</b>	Già Professore Ordinario di Pediatria, Sapienza Università di Roma, Roma
<b>Esposito Francesco</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Ferrari Simona</b>	UO Genetica Medica, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna
<b>Fiore Michele</b>	Pediatra di libera scelta, ASL3 "Genovese", Genova

<b>Francavilla Ruggiero</b>	UOS Gastroenterologia Pediatrica - PO Giovanni XXIII, Dipartimento Interdisciplinare di Medicina Università degli Studi Aldo Moro, Bari
<b>Frenos Stefano</b>	Centro di Eccellenza di Oncologia ed Ematologia Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze
<b>Galli Luisa</b>	SOC Malattie Infettive, Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer IRCCS, Firenze
<b>Gattorno Marco</b>	UOC Reumatologia e Malattie autoinfiammatorie, IRCCS Istituto Gaslini, Genova
<b>Ghiglioni Daniele Giovanni</b>	SC Pediatria Pneumo-infettivologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Milano
<b>Giardino Giuliana</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Giliani Silvia</b>	Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia e SSVD Citogenetica e Genetica Medica, ASST Spedali Civili di Brescia
<b>Guarino Stefano</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Iorio Raffaele</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>La Torre Francesco</b>	Centro regionale Reumatologia Pediatrica, UOC Pediatria Ospedaliera, AOU Policlinico Giovanni XXIII, Bari
<b>Leonardi Lucia</b>	Dipartimento Materno Infantile e Scienze Urologiche, Sapienza Università di Roma
<b>Lippi Francesca</b>	Immunologia - SOC Clinica Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze
<b>Locatelli Franco</b>	Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Lodi Lorenzo</b>	Immunologia - SOC Clinica Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze. Dipartimento di Scienze della salute, Università degli Studi di Firenze
<b>Lo Vecchio Andrea</b>	UOC di Malattie Infettive Pediatriche e Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali - Università degli Studi di Napoli Federico II - Presidente SITIP
<b>Lougaris Vassilios</b>	Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia. ASST Spedali Civili di Brescia
<b>Maggiore Giuseppe</b>	Epatogastroenterologia, Nutrizione e Trapianto di Fegato, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Marseglia Gianluigi</b>	Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia
<b>Martelli Alberto</b>	Pediatra libero professionista, Milano
<b>Martire Baldassarre</b>	UOC Pediatria e Neonatologia, Ospedale Monsignor A.R. Dimiccoli, Barletta, Asl BT

<b>Marzollo Antonio</b>	UOC Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedale - Università di Padova
<b>Marzuillo Pierluigi</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Miniello Vito Leonardo</b>	Responsabile Unità Operativa di Nutrizione, Policlinico Giovani XXIII, Università "Aldo Moro", Bari - Vicepresidente SIPPS
<b>Miniello Andrea</b>	Scuola di specializzazione in Allergologia e Immunologia clinica, Università "Aldo Moro", Bari
<b>Miraglia Del Giudice Emanuele</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli - Presidente SIAIP
<b>Miraglia del Giudice Michele</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Montin Davide</b>	Dipartimento di Scienze della Sanità pubblica e Pediatriche, Divisione di Immunologia pediatrica e Reumatologia, Ospedale pediatrico Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Torino
<b>Moratti Mattia</b>	Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Bologna, Bologna
<b>Moschese Viviana</b>	UOSD Immunopatologia e Allergologia Pediatrica, Policlinico Tor Vergata, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma
<b>Notarangelo Luigi</b>	National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health. Bethesda, Maryland, USA
<b>Pacillo Lucia</b>	Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma. UO Immunodeficienze Primitive, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Papa Riccardo</b>	UOC Reumatologia e Malattie autoinfiammatorie, IRCCS Istituto Gaslini, Genova
<b>Perciasepe Lavinia</b>	Unità di Malattie infettive, Dipartimento di Scienze della Salute, AOU Meyer, IRCCS, Firenze
<b>Peroni Diego</b>	Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pisa, Pisa
<b>Perrotta Silverio</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Pession Andrea</b>	Alma Mater Studiorum Università degli Studi di Bologna, UO Pediatria, Policlinico di Sant'Orsola, Bologna.
<b>Pignata Claudio</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Plebani Alessandro</b>	Professore Onorario di Pediatria, Università degli Studi di Brescia
<b>Principi Nicola</b>	Professore Emerito di Pediatria, Università degli Studi di Milano
<b>Ricci Silvia</b>	Immunologia - SOC Clinica Pediatrica, AOU Meyer, IRCCS, Firenze. Dipartimento di Scienze della salute, Università degli Studi di Firenze

<b>Rivalta Beatrice</b>	Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma. UO Immunodeficienze Primitive, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Rivetti Giulio</b>	Dipartimento della Donna, Del Bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Università degli Studi della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli
<b>Romano Roberta</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Rossini Linda</b>	UOC Oncoematologia Pediatrica, Azienda Ospedale, Università degli Studi di Padova, Padova
<b>Saggese Giuseppe</b>	Già Professore Ordinario di Pediatria Dipartimento di Medicina clinica e sperimentale, Università degli Studi di Pisa
<b>Scarselli Alessia</b>	Dipartimento di Pediatria, Unità pediatrica, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
<b>Scotese Immacolata</b>	Pediatra di libera scelta, ASL Salerno, Campagna (SA)
<b>Sgrulletti Mayla</b>	UOSD Immunopatologia e Allergologia Pediatrica, Policlinico Tor Vergata, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma
<b>Simeone Giovanni</b>	Pediatra di Libera Scelta, ASL Brindisi, Mesagne (BR)
<b>Soresina Annarosa</b>	Clinica Pediatrica, Unità di Immunologia pediatrica, Università degli Studi di Brescia. ASST Spedali Civili di Brescia, Brescia
<b>Tarani Luigi</b>	Dipartimento Materno Infantile e Scienze Urologiche, Sapienza Università di Roma, Roma
<b>Terraciano Luigi</b>	Pediatra di Libera Scelta, ATS (ASL) Milano, Milano
<b>Terrone Gaetano</b>	Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli
<b>Tezza Giovanna</b>	Reparto di Pediatria, Ospedale provinciale San Maurizio, Bolzano
<b>Tommasini Alberto</b>	Dipartimento di Pediatria, IRCCS Materno Infantile Burlo Garofolo, Trieste. Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e della Salute, Università degli Studi di Trieste
<b>Trizzino Antonino</b>	UO Oncoematologia Pediatrica Azienda Civico Arnas Palermo
<b>Verga Maria Carmen</b>	Pediatra di libera scelta, ASL Salerno, Vietri sul Mare (SA)
<b>Volpi Stefano</b>	UOC Reumatologia e Malattie autoinfiammatorie, IRCCS Istituto Gaslini, Genova DINOgMI, Università degli Studi di Genova
<b>Zanichelli Andrea</b>	Unità operativa di Medicina, Centro Angioedema, IRCCS Policlinico San Donato, Milano. Dipartimento di Scienze biomediche, Università degli Studi di Milano





Si ringraziano i **Consigli Direttivi** e i **Presidenti** delle seguenti società scientifiche

	<p><b>SIPPS - Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale.</b> <i>Presidente: Giuseppe Di Mauro</i></p>
	<p><b>FIMP - Federazione Italiana Medici Pediatri.</b> <i>Presidente: Antonio D'Avino</i></p>
	<p><b>SIAIP - Società Italiana di Allergologia e Immunologia Pediatrica</b> <i>Presidente: Michele Miraglia Del Giudice</i></p>
	<p><b>SITIP - Società Italiana di Infettivologia Pediatrica</b> <i>Presidente: Andrea Lo Vecchio</i></p>





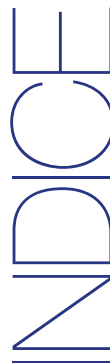
# GUIDA PRATICA LE IMMUNODEFICIENZE NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA

2ª edizione - 2023



# GUIDA PRATICA LE IMMUNODEFICIENZE NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA

2ª edizione - 2023



<b>» PREFAZIONE ALLA 2ª EDIZIONE</b>	<b>14</b>	<b>» 4. IL SOSPETTO CLINICO: VECCHI E NUOVI CAMPANELLI DI ALLARME</b>	<b>58</b>
<i>Giuseppe Di Mauro, Antonio D'Avino, Michele Miraglia del Giudice, Andrea Lo Vecchio</i>		<b>• 4.1 Oltre i 10 warning signs</b>	<b>58</b>
<b>» INTRODUZIONE</b>	<b>16</b>	<i>Lucia Leonardi, Michele Fiore, Giovanni Simeone, Maria Carmen Verga</i>	
<b>• 70 Anni di immunologia clinica: prospettive diagnostico-terapeutiche future</b>	<b>16</b>	<b>• 4.2 Atopia</b>	<b>63</b>
<i>Luigi D. Notarangelo</i>		<i>Iride Dello Iacono, Riccardo Castagnoli, Daniele Giovanni Ghiglioni, Michele Miraglia del Giudice</i>	
<b>» 1. PRINCIPI DI IMMUNOLOGIA</b>	<b>21</b>	<b>• 4.3 Autoimmunità: citopenie autoimmuni, endocrinopatie, inflammatory bowel diseases early onset</b>	<b>70</b>
<i>Vito Leonardo Miniello, Andrea Miniello</i>		<i>Alessia Scarselli, Davide Montin, Andrea Campana</i>	
<b>• Parte Prima</b>		<b>• 4.4 Linfoproliferazione clonale, non clonale, linfonodale, tissutale, acuta, cronica, recidivante, associata a virus</b>	<b>78</b>
<b>Principi di Immunologia: generalità</b>	<b>21</b>	<i>Francesca Conti, Mattia Moratti, Beatrice Rivalta, Giorgio Costagliola, Rita Consolini</i>	
<b>• Parte Seconda</b>		<b>• 4.5 Tumori</b>	<b>86</b>
<b>Principi di Immunologia: approfondimento e recenti acquisizioni</b>	<b>28</b>	<i>Andrea Pession, Silverio Perrotta, Ottavia Maria Delmonte, Maria Carmen Verga</i>	
<b>» 2. LA CLASSIFICAZIONE ESEMPLIFICATA DELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE</b>	<b>49</b>	<b>• 4.6 Le immunodeficienze associate a sindromi</b>	<b>90</b>
<i>Marzia Duse</i>		<i>Baldassarre Martire, Luigi Tarani, Lucia Diaferio</i>	
<b>» 3. SCREENING NEONATALE</b>	<b>53</b>		
<i>Silvia Ricci, Clementina Canessa, Chiara Azzari</i>			



## 5. FOCUS SUGLI IMMUNODEFICIT COMUNI 94

- 5.1 Dall'ipogammaglobulinemia dell'infanzia ai difetti umorali 94  
*Alessandro Plebani, Vassilios Lougaris*
- 5.2 Il difetto selettivo di IgA. Perché tenere alta l'attenzione? 100  
*Francesca Conti, Lucia Leonardi, Lucia Pacillo, Mattia Moratti, Andrea Pession*

## 6. AUTOINFIAMMAZIONE E IPERINFIAMMAZIONE. LE FEBBRI PERIODICHE/LE SINDROMI AUTO-INFIAMMATORIE 105

*Riccardo Papa, Roberta Caorsi, Stefano Volpi, Marco Gattorno*

## 7. I DIFETTI DELL'IMMUNITÀ INNATA 112

- 7.1 Difetti primitivi dei fagociti 112  
*Lorenzo Lodi, Francesca Lippi, Antonio Marzollo, Linda Rossini*
- 7.2. Difetti del complemento e angioedema 117  
*Lucia Leonardi, Andrea Zanichelli*
- 7.3. Immunodeficienze primitive suscettibili a uno spettro ristretto di patogeni 126  
*Caterina Cancrini, Francesca Conti, Beatrice Rivalta, Alberto Tommasini*

## 8. LE IMMUNODEFICIENZE PER PROBLEMI. L'APPROCCIO PER PROBLEMI AL PAZIENTE E IL SOSPETTO DIAGNOSTICO NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA 133

*Michele Fiore*

- 8.1 Il bambino con infezioni respiratorie ricorrenti 134  
*Nicola Principi, Fabio Cardinale*
- 8.2 Quadri polmonari non infettivi 139  
*Giuliana Giardino, Lorenzo Lodi, Caterina Cancrini*
- 8.3 Infezioni in altre sedi 143  
*Guido Castelli Gattinara, Lavinia Perciasepe, Elena Chiappini*
- 8.4 Ritardo di crescita 151  
*Vito Leonardo Miniello, Giuseppe Saggese*
- 8.5 Endocrinologia 155  
*Gianni Bona, Francesca Aiello, Emanuele Miraglia Del Giudice*
- 8.6 Neurologia 164  
*Emilia Cirillo, Emma Coppola, Gaetano Terrone*
- 8.7 Fegato 170  
*Valeria Delle Cave, Francesco Esposito, Giuseppe Maggiore, Fabiola Di Dato, Raffaele Iorio*
- 8.8 Cute 174  
*Riccardo Castagnoli, Gian Luigi Marseglia*
- 8.9 Rene e vie urinarie 181  
*Pierluigi Marzuillo, Giulio Rivetti, Anna Di Sessa, Stefano Guarino*
- 8.10 Diarrea cronica/intrattabile 184  
*Ruggiero Francavilla, Diego Peroni, Giovanna Tezza*

# INDICE

<b>9. LE INDAGINI DIAGNOSTICHE</b>	<b>188</b>	<b>12. LE VACCINAZIONI NEL BAMBINO IMMUNOCOMPROMESSO</b>	<b>271</b>
• 9.1 <i>Le indagini immunologiche nel setting ambulatoriale</i>	188	<i>Baldassarre Martire, Martino Barretta, Giorgio Conforti</i>	
<i>Fabio Cardinale, Michele Fiore, Immacolata Scotese</i>			
• 9.2 <i>Le indagini immunologiche di secondo e terzo livello nei centri specialistici</i>	201	<b>13. LA GESTIONE DEL BAMBINO CON IMMUNODEFICIENZA</b>	<b>285</b>
<i>Giuliana Giardino, Roberta Romano, Raffaele Badolato</i>		• 13.1 <i>Follow-up e qualità di vita: il bambino trapiantato</i>	285
• 9.3 <i>Le indagini genetiche e molecolari</i>	217	<i>Stefano Frenos, Luisa Galli, Elena Chiappini</i>	
<i>Gigliola Di Matteo, Simona Ferrari, Silvia Gilliani</i>		• 13.2 <i>L'approccio nutrizionale</i>	301
<b>10. LE IMMUNODEFICIENZE SECONDARIE</b>	<b>223</b>	<i>Margherita Caroli, Vito Leonardo Miniello, Giovanna Tezza, Maria Carmen Verga</i>	
<i>Lavinia Perciasepe, Elena Chiappini, Mayla Sgrulletti, Viviana Moschese</i>		• 13.3 <i>A casa, a scuola, in viaggio</i>	307
<b>11. TERAPIA</b>	<b>240</b>	<i>Alberto Martelli, Luigi Terracciano, Rosa Maria Dellepiane, Dora Di Mauro</i>	
• 11.1 <i>La terapia sostitutiva (immunoglobuline endovena, immunoglobuline sottocute)</i>	240	<b>14. TRANSIZIONE E IEI</b>	<b>322</b>
<i>Annarosa Soresina</i>		<i>Michele Fiore, Lucia Leonardi, Maria Carmen Verga, Antonino Trizzino</i>	
• 11.2 <i>Il trapianto di cellule staminali emopoietiche</i>	247	<b>APPENDICE</b>	<b>330</b>
<i>Franco Locatelli, Mattia Algeri</i>		• A1. <i>La rete delle immunodeficienze primitive (IPINET) in Italia</i>	330
• 11.3 <i>Correggere i difetti genetici delle immunodeficienze primitive: terapia genica e nuove frontiere dell'editing genetico</i>	258	<i>Claudio Pignata, Roberta Romano</i>	
<i>Alessandro Aiuti, Maria Pia Cicalese</i>		• A2. <i>La consulenza genetica alla famiglia</i>	334
• 11.4 <i>Profilassi anti-infettiva</i>	262	<i>Gigliola Di Matteo, Simona Ferrari, Silvia Gilliani, Alberto Tommasini, Caterina Cancrini</i>	
<i>Antonio Marzollo, Linda Rossini, Emilia Cirillo, Roberta Romano</i>			
• 11.5 <i>Farmaci biologici e small molecule inhibitors</i>	266		
<i>Francesco La Torre</i>			



## PREFAZIONE ALLA 2° EDIZIONE

Giuseppe Di Mauro, Antonio D'Avino, Michele Miraglia del Giudice, Andrea Lo Vecchio

Sono passati appena sette anni dalla pubblicazione della prima edizione della Guida pratica "Le immunodeficienze nell'ambulatorio del pediatra", una Guida intersocietaria che ha supportato moltissimi pediatri nel sospetto diagnostico e nella gestione di queste patologie che sono singolarmente rare, ma nel complesso hanno una prevalenza maggiore di 1:1000.

La Guida ha contribuito anche alla formazione di tanti giovani specializzandi in Pediatria, che l'hanno utilizzata come testo di riferimento. Inoltre, è stata inserita anche nel sito della AIP (Associazione Immunodeficienze Primitive) ed ha avuto oltre 5000 downloads dal sito Researchgate.

È possibile trovare la prima edizione al seguente link:

<https://www.sipps.it/attivita-editoriale/volumetti-guide-pratiche/guida-pratica-le-immunodeficienze-nellambulatorio-del-pediatra/>

Questa Guida non è un testo di immunologia pediatrica, non si prefigge la trattazione completa e approfondita di quelli che attualmente sono definiti **Inborn Errors of Immunity (IEI)**, ma è nata con il preciso scopo di dare strumenti di facile consultazione per il pediatra "generalista" (pediatra di famiglia e pediatra ospedaliero). L'impostazione schematica e pragmatica con cui è stata costruita ha aiutato il pediatra generalista che si è trovato di fronte ad un bambino il cui quadro clinico è di difficile comprensione ed ha posto l'attenzione su quei segni o sintomi che possono o devono far nascere il sospetto diagnostico di IEI, portandoci a un ragionamento diagnostico differenziale esaustivo e guidandoci nella richiesta e nella interpretazione degli esami. In un momento così critico della Sanità, infatti, l'appropriatezza e l'attenzione alla selezione degli esami più utili sono assolutamente critici e importanti anche ai fini del risparmio delle risorse.

Rispetto alla prima edizione, la seconda include molti altri argomenti, emersi e sempre più rilevanti negli ultimi anni:

la nuova classificazione degli IEI

- 】 i nuovi campanelli d'allarme, oltre i 10 *warning signs* della Jeffrey Modell Foundations
- 】 una nuova "visione" del deficit di IgA
- 】 la suscettibilità a spettro ristretto di patogeni





- 】 le malattie autoinfiammatorie

---

- 】 la terapia con farmaci biologici e *Small Molecule Inhibitors*

---

- 】 le vaccinazioni nel bambino immunocompromesso

---

- 】 la transizione del paziente con IEI

---

Non possiamo non segnalare, inoltre, la pregevole Introduzione di Luigi D. Notarangelo, tra i maggiori esperti internazionali, che sintetizza la storia dell'immunologia in un affascinante percorso dagli albori della disciplina alle future prospettive.

I Coordinatori di questa edizione sono stati:

*Michele Fiore, Lucia Leonardi, Maria Carmen Verga.*

Alla stesura di questa 2° edizione hanno partecipato pediatri esperti nel campo dell'immunologia e di altre branche specialistiche della pediatria, così come i pediatri generalisti. Ci auguriamo che il lavoro di sintesi tra le diverse realtà assistenziali sia stato efficace e di concreto aiuto per i pediatri nella vita ambulatoriale quotidiana.

**Giuseppe Di Mauro - Presidente SIPPS**

**Antonio D'Avino - Presidente FIMP**

**Michele Miraglia del Giudice - Presidente SIAIP**

**Andrea Lo Vecchio - Presidente SITIP**

# INTRODUZIONE

---

## 70 ANNI DI IMMUNOLOGIA CLINICA: PROSPETTIVE DIAGNOSTICO-TERAPEUTICHE FUTURE

*Luigi D. Notarangelo*

**N**el 1952, Bruton descrisse il primo caso di agammaglobulinemia in un soggetto di sesso maschile con una storia di infezioni respiratorie ricorrenti. La somministrazione di gammaglobuline per via intramuscolare risultò essere efficace nel prevenire ulteriori episodi infettivi. È a quella descrizione che si fa risalire la storia dei difetti congeniti dell'immunità, benché altri, prima di Bruton, avessero descritto altre condizioni cliniche che oggi vengono comprese nella classificazione di tali difetti immunitari. Alla scoperta di Bruton fece seguito in tutto il mondo un intenso lavoro di riconoscimento clinico e di ricerca dei meccanismi fisiopatologici alla base di quadri clinici caratterizzati da una aumentata suscettibilità ad un ampio spettro di patogeni. Fu proprio questa elevata e ampia suscettibilità infettiva a costituire l'elemento fondante delle immunodeficienze congenite (difetti anticorpali, immunodeficienze combinate, deficit dei fagociti). Tale inquadramento ha subito una notevole revisione negli ultimi 20 anni.

Da un lato, sono state identificate forme di deficit congenito dell'immunità caratterizzate da una suscettibilità selettiva ad infezioni sostenute da un solo tipo di patogeni; un esempio in tal senso è costituito dalle forme mendeliane di suscettibilità a infezioni da micobatteri.

Inoltre, l'idea che tutte le forme di immunodeficienza congenita derivassero da difetti intrinseci a cellule del sistema ematopoietico o comunque di tessuti linfoidei è venuta meno con l'identificazione dei difetti dell'immunità intrinseca ad altri tipi cellulari, come nel caso delle encefaliti erpetiche secondarie a difetti congeniti nella produzione di interferoni di tipo I da parte di cellule residenti nel sistema nervoso centrale.

Ancora più importante è stato il riconoscimento che l'aumentata suscettibilità ad infezioni non rappresenta l'unica forma di estrinsecazione clinica dei difetti dell'immunità: si è infatti osservato che molti quadri si associano ad una aumentata incidenza di manifestazioni autoimmunitarie, smentendo quindi l'antica convinzione che immunodeficienza ed autoimmunità rappresentassero due



facce agli estremi opposti delle alterazioni del sistema immunitario.

Più recentemente, sono state identificate forme cliniche caratterizzate da quadri autoinfiammatori.

Successivamente al sequenziamento del genoma umano e con lo sviluppo di metodiche di studio del DNA sempre meno costose e più rapide, abbiamo assistito ad una autentica rivoluzione nella identificazione e caratterizzazione di diverse forme di deficit congeniti dell'immunità: l'ultima classificazione ufficiale contava infatti 485 forme diverse di deficit genetici, ma abbiamo già superato quota 500.

Lo sviluppo di tecniche di analisi molecolare è anche alla base del primo test di screening neonatale a livello di popolazione per le forme più gravi di difetto immunitario congenito: le immunodeficienze combinate gravi (SCID). L'analisi quantitativa del numero di copie di DNA di TREC (*T-cell receptor excision circle*, un sottoprodotto del riarrangiamento genomico a livello del locus  $\alpha/\delta$  del recettore T) contenute in un campione di sangue neonatale ottenuto alla nascita su apposita carta da filtro, consente infatti di stabilire l'efficienza di produzione di linfociti T, permettendo quindi di riconoscere alla nascita neonati con linfopenia T grave. Con ulteriori approfondimenti, è possibile definire quali tra questi neonati sono affetti da SCID, e quindi di mettere tempestivamente in atto misure di profilassi antinfettiva e di accelerare i tempi del trapianto di cellule staminali ematopoietiche. È del tutto recente la dimostrazione che proprio l'applicazione estensiva dello screening neonatale per SCID ha permesso di migliorare la sopravvivenza post-trapianto dei bambini affetti da tali patologie.

In campo terapeutico, importanti progressi sono stati compiuti sia per quanto attiene alla terapia cellulare e molecolare, sia nello sviluppo di nuove molecole che interferendo in modo specifico con i processi biochimici alla base del quadro patologico consentono di mettere in atto una vera medicina di precisione.

In particolare, l'affinamento delle tecniche di condizionamento e di manipolazione delle cellule staminali, unitamente allo sviluppo di approcci più efficaci per prevenire la malattia del trapianto contro l'ospite, hanno permesso di migliorare la sopravvivenza e la qualità di vita dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Allo stesso tempo, progressi nello sviluppo di vettori virali più sicuri si sono associati ad un miglioramento nell'esito degli interventi di terapia genica. Tuttavia, i costi relativi allo sviluppo di tali vettori come veri e propri farmaci, si sono spesso tradotti in un disinvestimento di interesse da parte delle industrie, così che terapie dimostrate efficaci in fase di sperimentazione clinica non raramente si sono arenate prima della fase di registrazione.

Per quanto attiene allo sviluppo di nuovi farmaci, è esponenzialmente cresciuto il numero di molecole (*"small molecules"*) inibitorie nei confronti di vari processi biologici, nonché di anticorpi monoclonali ad azione specifica. Molte di queste molecole sono entrate nella fase di applicazione clinica, in particolare nel trattamento di patologie da immunodisregolazione e autoinfiammatorie.

Cosa possiamo attenderci nei prossimi anni?

È logico prevedere una diffusione sempre più ampia dei test di inquadramento genetico e l'implementazione, a livello di popolazione (in tutta Italia) dello screening neonatale per la SCID (oggi in atto solo in alcune realtà geografiche del nostro Paese). È verosimile che si possano presto realizzare test di screening neonatale anche per altre forme di difetti immunitari.

È certo che continuerà a crescere il numero di difetti genetici per i quali verrà riconosciuto un ruolo causale nella patogenesi di difetti immunitari.

Al contempo, una delle maggiori difficoltà che il clinico (e spesso anche il genetista!) si trova ad affrontare consiste proprio nell'interpretazione del significato delle alterazioni genetiche rivelate dal sequenziamento dell'esoma/genoma o dall'impiego di pannelli genici mirati: in molti casi, infatti, alle varianti identificate viene attribuito un significato incerto (*"Variants of uncertain significance"*). Per cercare di dare una risposta a questo problema, sono stati allestiti pannelli di esperti di varie forme di deficit immunitari e di genetisti, in modo da rivalutare tutti i dati a disposizione nell'interpretazione delle varianti geniche. Questo lavoro, condotto all'interno del consorzio CLINGEN, verrà messo liberamente a disposizione dei clinici e auspicabilmente faciliterà la diagnosi di malattia.

Sempre nell'ambito delle alterazioni geniche, negli ultimi anni abbiamo assistito al riconoscimento di patologie legate a mutazioni somatiche, soprattutto nell'ambito di patologie con quadri autoinfiammatori. La diagnosi di tali quadri presenta ancora importanti problemi di accertamento, in quanto spesso la bassa frequenza delle cellule mutate ne rende difficile l'identificazione attraverso tecniche convenzionali di sequenziamento del DNA. Inoltre, la popolazione cellulare mutata può rimanere confinata in tessuti difficilmente accessibili. Ciononostante, è verosimile che il numero di quadri patologici legati alla presenza di mutazioni somatiche aumenti nel corso dei prossimi anni, un fenomeno al quale occorrerà quindi prestare attenzione.

Un altro campo dal quale è lecito attendersi progressi in campo diagnostico è quello dell'impiego dell'intelligenza artificiale nell'interpretazione dei dati clinici. Sono già numerosi gli esempi in letteratura in base ai quali la revisione di dati



clinici elettronici (“*Electronic medical records*”) con impiego di algoritmi di intelligenza artificiale ha permesso di identificare in modo preciso pazienti con deficit immunitario. L’ulteriore miglioramento di tali algoritmi potrebbe facilitare l’identificazione di pazienti la cui storia clinica e laboratoristica è maggiormente compatibile con una diagnosi di difetto congenito dell’immunità. È anche verosimile che attraverso l’integrazione di dati genetici e clinico-laboratoristici, l’intelligenza artificiale possa offrire un importante contributo per una migliore caratterizzazione della patogenicità di singole varianti geniche.

Certamente, perché tutto questo si traduca in qualcosa di utile per il pediatra, è necessario che in Italia si diffondano rapidamente i sistemi di informatizzazione dei dati clinici e che tali sistemi sappiano “parlarsi” tra di loro.

In ambito terapeutico, è legittimo attendersi lo sviluppo di nuove molecole. Grande attenzione viene attualmente rivolta a nuovi farmaci antivirali. Si tratta di un campo in rapida evoluzione e che punta a far fronte ad una crescente esigenza di tali farmaci. Analoghi sviluppi sono attesi per nuovi antibiotici e antifungini. Il pediatra dovrà familiarizzarsi con questi farmaci, prestando particolare attenzione anche alle interazioni farmacologiche, specie con nuove molecole. Sotto questo profilo, sono già in atto sperimentazioni con farmaci a maggiore selettività di azione, come è il caso per i Jak inibitori di ultimissima generazione.

Nell’ambito delle terapie cellulari, importanti progressi sono stati compiuti nella riprogrammazione di cellule somatiche in elementi staminali e nella conversione di questi ultimi in ben definiti tipi cellulari. Inoltre, è già divenuto possibile ricreare in laboratorio organoidi che mimano l’organizzazione cellulare e funzionale di diversi tessuti.

La speranza è che tali innovazioni trovino in futuro applicazione clinica nel trattamento di gravi patologie d’organo.

Lo stesso trapianto di cellule staminali ematopoietiche, che oggi richiede l’impiego di farmaci chemioterapici nella fase di condizionamento, potrà in futuro verosimilmente avvalersi dell’impiego di immunotossine (anticorpi monoclonali coniugati a molecole citotossiche) per depletare le cellule staminali autologhe; sono già in corso sperimentazioni di simile natura con anticorpi monoclonali “nudi” (non coniugati a tossine).

È auspicabile che si identifichino politiche condivise che favoriscano lo sviluppo di nuove forme di terapia genica: in questo senso serve un diverso atteggiamento non solo da parte dell’industria, ma anche da parte di enti finanziatori che partecipino ai costi di produzione. Tali costi sono anche il risultato di politiche

regolatorie ormai obsolete, per cui lo sviluppo di ogni nuovo vettore virale richiede che vengano soddisfatti gli stessi criteri di sicurezza ed efficacia.

Per patologie rare, ciò comporta investimenti cospicui a fronte di un ritorno incerto dei costi.

Per ovviare a questo problema, è stato proposto che venga considerata l'approvazione di piattaforme virali, ogni qualvolta patologie simili vengano trattate con vettori che differiscano solo per il gene terapeutico incorporato.

Accanto allo sviluppo di nuove forme di terapia genica addizionale (perché basate sull'inserimento nel genoma di una o più copie aggiuntive di un gene terapeutico) è plausibile che in futuro trovino sempre più applicazione vere e proprie forme di correzione genica, basate sulla tecnologia CRISPR o su nuove simili strategie.

Quale che sia la strada intrapresa dalla terapia genica, un problema importante da affrontare sarà quello della sostenibilità dei costi da un lato e della disponibilità di tali forme di trattamento avanzato, indipendentemente dallo stato economico e sociale del paziente che ne ha bisogno.

È evidente come la crescente complessità di inquadramento diagnostico e di ventaglio di opzioni terapeutiche che saranno messe a disposizione dei pazienti con deficit congeniti dell'immunità richiederà al pediatra nuove competenze e un continuo aggiornamento: ferma restando la necessità di saper sospettare possibili quadri di difetto immunitario, il pediatra dovrà sapersi porre in rete con i centri di riferimento per lo studio di tali patologie. Inoltre, i progressi in campo diagnostico e terapeutico faciliteranno, ancor più di oggi, la sopravvivenza in età adulta di pazienti affetti da patologie per le quali fino a pochi anni fa la prognosi rimaneva assai incerta ancora in età pediatrica.

Conseguentemente, ancora più impellente diventerà la necessità del pediatra di sapersi raccordare con i medici dell'adulto.

Alla necessità di fornire al pediatra strumenti semplici, ma che coprano utilmente un campo di patologie sempre più complesse, è rivolto questo volume, con l'auspicio che esso possa contribuire a rendere il pediatra un protagonista attivo nel dialogo coi pazienti, i familiari e gli esperti di settore.

**Luigi D. Notarangelo**

National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health  
Bethesda, Maryland, USA



# 1. PRINCIPI DI IMMUNOLOGIA

Vito Leonardo Miniello, Andrea Miniello

## Parte Prima

## PRINCIPI DI IMMUNOLOGIA: GENERALITÀ

“Solleva la Natura...  
Dio è sotto.”  
(Victor Hugo)

Nel corso dell'evoluzione il sistema immunitario umano (SI) si è sviluppato con il fine di mantenere, preservare e ripristinare l'integrità dell'organismo in seguito all'esposizione ad agenti nocivi (biologici, fisici, o chimici), utilizzando un sofisticato arsenale di meccanismi protettivi in grado di discriminare caratteristiche strutturali antigenicamente diverse (non self) da quelle dell'ospite (self).

Nella descrizione della peste di Atene (430 a.C.), Tucidide fornisce indirettamente il primo cenno storico sulla protezione immunitaria: *“...coloro che erano guariti dalla malattia sapevano per esperienza cosa fosse e non ne avevano timore; perché tali individui non sono mai stati attaccati due volte, almeno mai fatalmente”*.

Nonostante gli straordinari progressi che la ricerca scientifica ha conseguito negli ultimi decenni, rimane ancora lungo il cammino verso la completa comprensione del SI, un insieme finemente integrato di componenti cellulari, molecolari e processi che cooperano per proteggere da patogeni (virus, batteri, funghi e parassiti), sostanze estranee, tossine, insulti chimici e traumatici. Inoltre, il SI distrugge cellule anomale del proprio organismo, quali cellule infettate da virus, senescenti o con self alterato (tumoral).

Il SI viene classicamente distinto in due 'linee di difesa': innata e adattativa. L'**immunità innata**, filogeneticamente più antica, rappresenta un meccanismo aspecifico utilizzato dall'ospite immediatamente o entro poche ore dall'incontro con l'antigene.

La risposta immunitaria innata verso agenti patogeni che eludono le barriere anatomo-fisiologiche è soprattutto caratterizzata dall'attivazione di recettori appartenenti alla classe dei **“pattern recognition receptors” (PPRs)**, in grado di riconoscere direttamente strutture molecolari specifiche sulla superficie di agenti

patogeni, cellule apoptotiche, senescenti e danneggiate. Si ritrovano in compartimenti subcellulari (membrane cellulari ed endosomiali), citosol ed extracellulari, presenti nel flusso ematico e spazi interstiziali. I PRR sono espressi principalmente dalle cellule presentanti l'antigene (APCs, *Antigen-Presenting Cells*), comprese cellule dendritiche e macrofagi, ma anche da altre cellule immunitarie e non considerate specificamente immunitarie (fibroblasti). I PRR riconoscono per affinità specifici profili molecolari condivisi con un elevato grado di conservazione da microorganismi patogeni (**PAMPs, Pathogen-Associated Molecular Patterns**) (Figura 1). L'interazione dei PRR con i PAMP e i DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*), derivati da cellule danneggiate, induce l'espressione di citochine pro-infiammatorie e altri mediatori del sistema immunitario. La risposta infiammatoria è finalizzata a prevenire l'insorgenza e la diffusione dell'infezione, rimuovere e riparare i tessuti danneggiati, reclutare cellule effettrici se il sistema immunitario innato non è più in grado di fronteggiare l'infezione e mobilitare cellule effettrici dell'immunità adattativa (linfociti T e B).

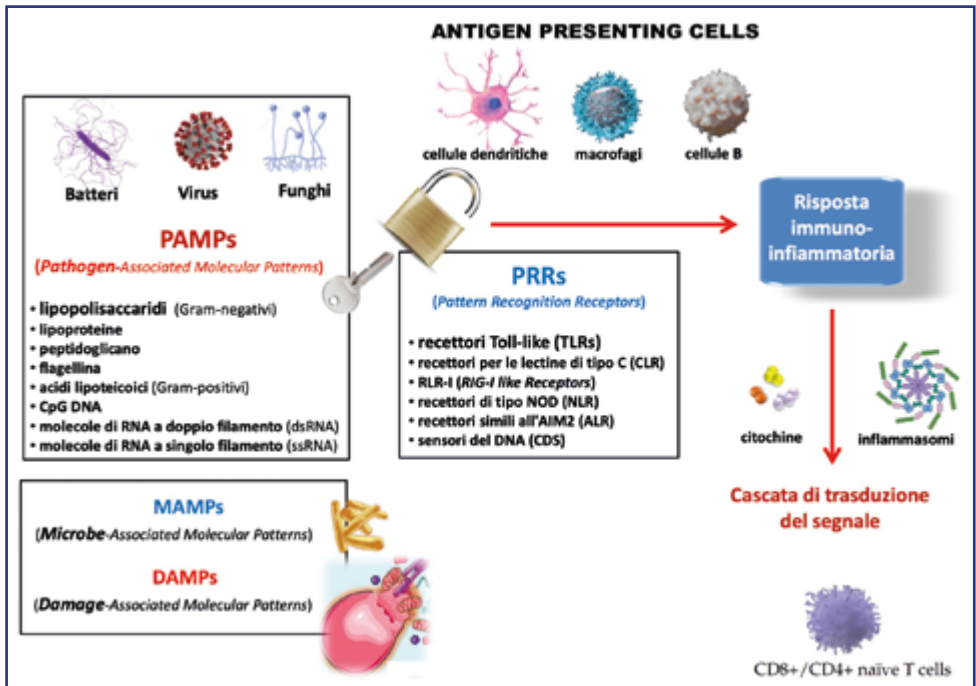


Figura 1.





L'**immunità adattativa** è caratterizzata da specificità antigene-dipendente, riconoscimento del self/non self e memoria immunologica. La sua funzione è riconoscere, distruggere e memorizzare gli agenti patogeni attraverso l'immunità umorale e l'immunità cellulare, mediate da anticorpi e cellule (linfociti T e B). Il segno distintivo dell'immunità adattativa è la memoria: tale peculiarità consente all'ospite di montare in modo efficace una più complessa e sofisticata risposta immunitaria in seguito ad una successiva riesposizione, anche se con un intervallo di tempo più lungo (Figura 2).

La semplicistica dicotomia tra immunità innata e adattativa ha caratterizzato per decenni una vasta mole di studi sulle componenti cellulari e molecolari dei due bracci della difesa dell'ospite. L'immunità innata è mediata da popolazioni cellulari immunitarie ematopoietiche e no, nonché da composti molecolari quali il sistema del complemento, citochine, chemochine e peptidi ad azione antimicrobica (AMPs, *Antimicrobial Peptides*), mentre l'immunità adattativa (acquisizione evolutiva relativamente 'recente') è caratterizzata da cellule quali i linfociti T e B e proteine come immunoglobuline e citochine (Tabella 1).

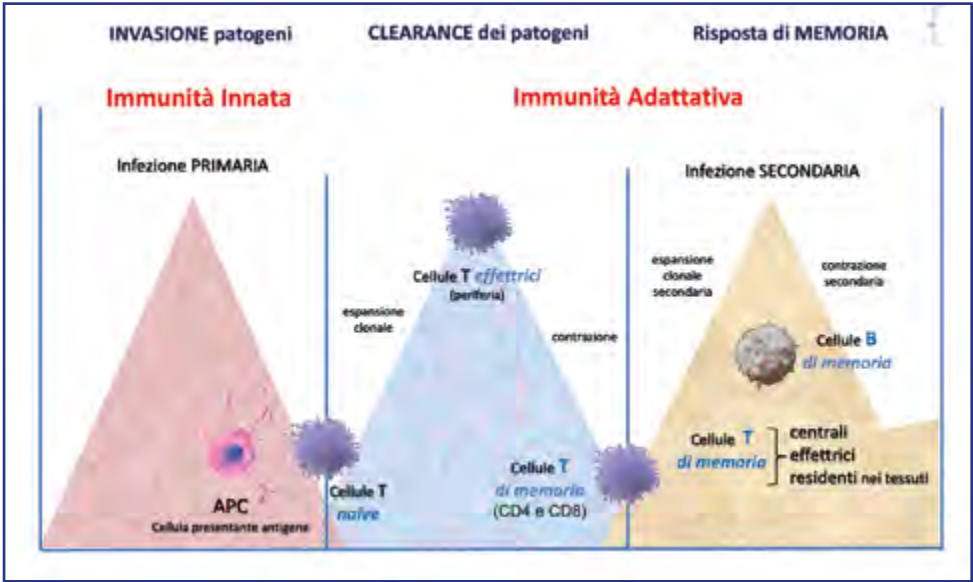


Figura 2.

**Tabella 1. Caratteristiche dell'immunità innata e adattativa (Adattato da: Marshall JS, et al. 2018)**

	Immunità innata	Immunità adattativa
<b>Cellule</b>	<p><b>Cellule ematopoietiche:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule dendritiche</li> <li>• Macrofagi</li> <li>• Mastociti</li> <li>• Neutrofili</li> <li>• Basofili</li> <li>• Eosinofili</li> <li>• Cellule <i>natural killer</i> (NK)</li> <li>• Cellule linfoidi innate</li> </ul> <p><b>Cellule non-ematopoietiche:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule epiteliali (cute, vie respiratorie, tratto gastrointestinale)</li> <li>• Fibroblasti, cellule endoteliali sinusoidali epatiche</li> </ul>	<p><b>Cellule ematopoietiche:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfociti T</li> <li>• Linfociti B</li> <li>• Cellule NK (<i>fenotipo memory-like</i>)</li> </ul>
<b>Molecole</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citochine</li> <li>• Complemento</li> <li>• Peptidi Antimicrobici</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Immunoglobuline</li> <li>• Citochine</li> </ul>
<b>Tipo di risposta</b>	Immediata (ore)	Ritardata (giorni)
<b>Memoria immunologica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Può persistere da pochi mesi ad un anno (<i>immunità allenata</i>)</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Può persistere tutta la vita</b></li> <li>• <b>Risposta immunitaria amplificata da ogni esposizione antigenica</b></li> </ul>

La risposta immunitaria innata è stata a lungo considerata priva di memoria immunologica e pertanto non in grado di rispondere con maggiore efficacia in caso di riesposizione al patogeno. In realtà l'immunità innata non è completamente priva di memoria come stigmatizzato sino a pochi anni fa. Recenti studi hanno dimostrato, difatti, che le popolazioni di cellule immunitarie innate subiscono un processo di adattamento funzionale (riprogrammazione metabolica ed epigenetica) dopo infezione o vaccinazione (*imprinting*), capace di indurre una 'memoria' immunitaria innata *de facto*. A tal proposito, Mihai Netea ha coniato il termine '**immunità allenata**' (*trained immunity*) per indicare la maggiore efficacia del sistema immunitario innato dopo un iniziale challenge. Assimilando concettualmente tale proprietà ad un allenamento, alcuni vaccini potrebbero incrementare il tono di base dell'immunità innata. A titolo di esempio, alcuni vaccini proteggerebbero non solo verso il relativo virus, ma più in generale an-

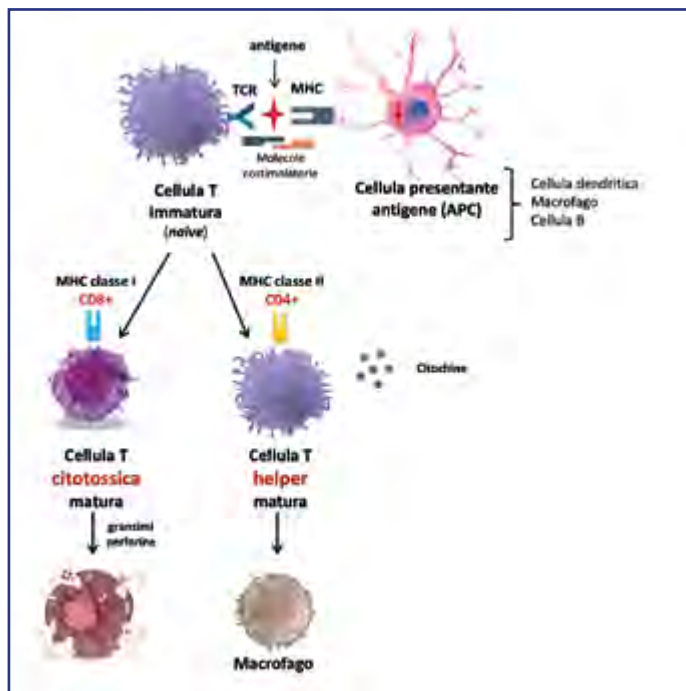


che verso altri patogeni. In un recente studio condotto su volontari sani, è stato dimostrato che il vaccino antitubercolare (BCG, *Bacillus Calmette-Guérin*) riduce la viremia in risposta al vaccino contro la febbre gialla, a base di virus vivo attenuato. Alcuni Autori ipotizzano che l'induzione dell'immunità addestrata da parte del BCG possa fornire protezione contro il virus COVID-19, ma tale ipotesi deve essere confermata da rigorosi studi clinici randomizzati. In ogni caso, la *trained immunity* spiegherebbe, tra le altre ipotesi, come i bambini siano meno colpiti da SARS-CoV-2, considerando che la maggior parte della popolazione infantile è sottoposta a diverse vaccinazioni nei primi anni di vita.

Le immunità innata e adattativa non sono compartimentalizzate, ma altamente sinergiche: l'attivazione della risposta immunitaria adattativa e l'induzione della memoria immunologica conseguono all'azione dell'eterogeneo gruppo delle cosiddette **cellule presentanti l'antigene (APCs, Antigen-Presenting Cells)**. Queste cellule *trainer* possono essere suddivise in APC professionali (cellule dendritiche, cellule B e macrofagi) e non professionali (ad esempio, fibroblasti e cellule endoteliali sinusoidali epatiche).

La risposta immunitaria adattativa è finemente articolata con lo scopo di garantire efficacia e di evitare, al tempo stesso, reazioni dannose contro il proprio self. Dopo il rilevamento di antigeni microbici (PAMP) ad opera dei recettori di riconoscimento (PRR), le APC presentano ai linfociti T naïve i peptidi digeriti, agganciandoli a molecole del **complesso maggiore di istocompatibilità** o **MHC** (*Major Histocompatibility Complex*, anche definito *HLA-Human Leukocyte Antigen*), in una 'tasca' che la molecola MHC possiede nel suo dominio extracellulare. Quando un microrganismo viene fagocitato e parzialmente digerito le vie di processazione trasformano gli antigeni proteici presenti nel citoplasma o internalizzati dall'ambiente extracellulare in peptidi. Il complesso immunogenico peptide/MHC viene riconosciuto dal recettore presente sulla superficie dei linfociti T naïve di pattuglia (TCR, *T-cell receptor*), fornendo segnali di stimolazione e co-stimolazione che inducono attivazione, proliferazione e differenziazione, sia in linfociti T helper (CD4+) che in linfociti citotossici (CD8+) (Figura 3).

Tutte le cellule (tranne emazie, neuroni e alcune cellule della linea germinale) esprimono proteine MHC di classe I, mentre solo le cellule APC professionali esprimono proteine MHC di classe II. Gli antigeni intracellulari (es. virus) possono essere processati e presentati alle cellule T citotossiche CD8+ da parte di qualsiasi cellula nucleata che esprime molecole MHC di classe I, mentre gli antigeni extracellulari (es. numerosi batteri) devono essere trasformati in peptidi e complessati con molecole MHC di classe II per essere riconosciuti dal recettore delle cellule T helper (Th) CD4+ (Figura 3).



**Figura 3.**

L'attivazione e la differenziazione delle cellule T richiedono tre segnali: presentazione dell'antigene, costimolazione e produzione di citochine.

Le risposte cellulo-mediate e umorali dell'immunità adattativa presentano caratteristiche peculiari:

- **discriminazione del self dal non-self**, capacità di tollerare antigeni propri (self) e di rispondere con tentativo di eliminazione ad ogni variazione endogena o esogena (non self);
- **specificità delle risposte immunitarie** verso i diversi antigeni;
- **memoria**, l'esposizione ad un antigene incrementa la capacità di rispondere a quel determinato antigene in una seconda occasione;
- **autolimitazione**, tutte le risposte fisiologiche si esauriscono progressivamente dopo la cessazione della stimolazione antigenica.

Le cellule presentanti l'antigene (APC) elaborano e presentano l'antigene microbico alle cellule T naive, convertendole in cellule T effettrici (Teff) (Figura 2), che migrano verso i tessuti periferici infetti. Dopo l'eliminazione del patogeno (clearance), le cellule Teff si riducono sensibilmente (contrazione), mentre una piccola frazione specifica



per l'antigene si converte in cellule T effettrici di memoria (Mem Teff) presenti in organi linfoidi e tessuti periferici, in grado di sopravvivere per mesi o anni. Quando le cellule T di memoria incontrano nuovamente lo stesso antigene, diventano rapidamente effettrici. I linfociti T di memoria si suddividono in linfociti T di memoria centrale, effettrici e residenti nei tessuti e negli organi linfoidi secondari (Figura 2).

Fino a poco tempo fa si riteneva che le cellule T rimanessero in circolo fino al reclutamento nei siti di infiammazione e che solo una piccola quota persistesse nei tessuti periferici senza flogosi. Indagini recenti hanno dimostrato che un gruppo di cellule T è presente permanentemente nei tessuti. Queste cellule, denominate **cellule T di memoria residenti nei tessuti** e negli organi linfoidi secondari (TRM, *tissue-resident memory*), sono dal punto di vista trascrizionale, fenotipico e funzionale distinte dalle altre cellule T presenti in circolo, organi linfoidi secondari e tessuti non linfoidi. In caso di riesposizione a patogeni uguali o simili, le cellule TRM forniscono una prima linea di difesa cellulare adattativa contro l'infezione nei tessuti periferici non linfoidi, come cute, polmoni, tratto digestivo e urogenitale.

Le cellule T di memoria sono in origine cellule effettrici che permangono in uno stato quiescente, in numero ridotto dopo l'eliminazione dell'infezione, pronte però ad attivarsi in caso di nuovo attacco da parte dello stesso agente patogeno.

Dopo riesposizione allo stesso antigene, le cellule B di memoria si differenziano in plasmacellule e producono anticorpi. La differenza tra le cellule di memoria T e le cellule B di memoria è il tipo di risposta immunitaria che generano. Rispetto alle cellule naïve della stessa specificità antigenica, quelle di memoria persistono in numero maggiore, possono popolare organi periferici, pronte dopo un nuovo incontro con l'antigene, a proliferare, eseguire funzioni citotossiche e secernere citochine effettrici.

Nell'immunità umorale i linfociti B riconoscono gli antigeni nella loro conformazione naturale e attuano la risposta effettrice finale, cioè la produzione e la secrezione di anticorpi o immunoglobuline (Ig) nei liquidi biologici (sangue, linfa, liquidi interstiziali, secrezioni). Il processo di sintesi e di secrezione degli anticorpi viene attuato direttamente dai linfociti B e, su più vasta scala, dalle cellule che rappresentano il loro terminale differenziativo, le plasmacellule. La produzione di anticorpi inizia quando il recettore delle cellule B riconosce e si lega all'antigene nella sua forma nativa. Le cellule T helper secernono citochine che aiutano le cellule B a moltiplicarsi e ad indicare il tipo di anticorpo che sarà successivamente prodotto. Alcune citochine (IL-6) aiutano le cellule B a maturare in plasmacellule secernenti anticorpi. Gli anticorpi secreti si legano agli antigeni sulla superficie dei patogeni, segnalandoli, con l'ausilio del complemento, alle cellule immunitarie effettrici deputate alla loro fagocitosi.

## Parte Seconda

# PRINCIPI DI IMMUNOLOGIA: APPROFONDIMENTO E RECENTI ACQUISIZIONI

## Immunità innata

L'immunità innata garantisce la prima linea difensiva contro agenti patogeni e/o dannosi. La sua funzione connotativa si identifica con il rapido reclutamento di cellule immunitarie nei siti di infezione e meccanismi umorali (complemento, peptidi antimicrobici, citochine, chemochine) (Tabella 1).

Un primo 'fronte' di difesa è garantito da barriere non specifiche dell'immunità innata, connotate in quattro tipologie: anatomica, fisiologica, fagocitica/endocitica e infiammatoria (Tabella 2).

Tabella 2. Barriere aspecifiche dell'immunità innata

Tipologia di barriera	Meccanismo di difesa
<b>Anatomica</b>	
Cute	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La cute agisce da barriera meccanica contrastando l'ingresso di microrganismi</li> <li>• L'ambiente acido (pH 3-5) ritarda la crescita dei microrganismi</li> </ul>
Mucose	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Il microbiota commensale compete con i patogeni per siti recettoriali e nutrienti</li> <li>• Il muco intrappola i corpi estranei</li> <li>• Le ciglia rimuovono i microrganismi</li> </ul>
<b>Fisiologica</b>	
Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La temperatura corporea e la febbre inibiscono la crescita di alcuni patogeni</li> </ul>
pH acido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'acidità gastrica distrugge la maggior parte dei microbi ingeriti</li> </ul>
Agenti chimici	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I lisozimi distruggono la membrana cellulare batterica</li> <li>• Gli interferoni mediano meccanismi di difesa antivirale nelle cellule non infette</li> <li>• Il complemento lisa microrganismi e ne facilita la fagocitosi</li> </ul>
<b>Fagocitosi/endocitosi</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Varie cellule internalizzano (endocitosi) e degradano macromolecole antigeniche</li> <li>• Cellule specializzate quali monociti, neutrofilii e macrofagi tissutali internalizzano (fagocitosi), distruggono e digeriscono interi microrganismi</li> </ul>



Tipologia di barriera	Meccanismo di difesa
Infiammazione	Danno tissutale e infezione inducono la produzione di proteine sieriche con attività antibatterica Citochine e chemochine attirano cellule fagocitiche nel distretto interessato

Adattato da: Marshall JS, et al. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018

Per contrastare il danno da infezioni e self danneggiato e mantenere l'omeostasi, il sistema immunitario innato utilizza meccanismi sia costitutivi che inducibili. I primi, presenti in forma attiva o latente, possono esercitare la loro attività direttamente. I meccanismi inducibili dipendono invece dall'attivazione di programmi trascrizionali e pertanto richiedono passaggi intermedi tra lo stimolo trigger e la funzione effettrice. Sebbene i meccanismi costitutivi abbiano il vantaggio di fornire una risposta immediata ad un segnale di pericolo, non hanno il potenziale per amplificare la risposta. Al contrario, i meccanismi inducibili, come quelli mediati dai recettori di riconoscimento (PRRs), vengono attivati solo in risposta a stimoli e hanno la capacità di amplificare i segnali. Pertanto, garantiscono risposte immunitarie forti ed efficienti ma, al tempo stesso, possono anche comportare un eccesso di infiammazione e patologia immuno-mediata. Dato il loro potenziale amplificativo, i meccanismi immunitari inducibili richiedono uno stretto controllo da parte di sistemi regolatori negativi.

La risposta immunitaria innata è innescata dall'attivazione di recettori (PRRs *pattern recognition receptors*) che riconoscono profili molecolari espressi esclusivamente da microrganismi (PAMPs, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) (Figura 1). Uno dei PAMP più studiati è il lipopolisaccaride (LPS) presente sulla parete cellulare esterna dei batteri Gram-negativi, anche definito 'endotossina' per la sua capacità di indurre una forte risposta infiammatoria.

Sulla base della struttura, funzione primaria, posizione e specificità, i **PRRs** sono classificati in varie classi (Figura 1). All'interno della stessa cellula la segnalazione simultanea dei PRR può modulare risposte a valle di tipo complementare, amplificativa o inibitoria. Tale complessità rende decisamente affascinante lo studio delle risposte infiammatorie indotte dai PAMPs, 'chiavi' numericamente limitate, ma complementari a specifiche 'serrature' (PRRs) (Figura 1).

I tipi cellulari che esprimono recettori di riconoscimento includono: cellule dendritiche, macrofagi, monociti e mastociti, ma anche cellule classicamente non considerate immunitarie (cellule epiteliali, fibroblasti). I fibroblasti sono stati tra-

dizionalmente riconosciuti come cellule strutturali coinvolte nella formazione e riparazione dei tessuti. Recenti ricerche hanno rivelato la loro notevole eterogeneità e la partecipazione attiva alla difesa immunitaria. Nello specifico, alcuni fibroblasti possiedono la capacità di individuare direttamente agenti patogeni e segnali di pericolo in tessuti barriera quali cute, intestino e vie aeree. Tali cellule immuno-responsive contribuiscono alla difesa dell'ospite svolgendo attività antimicrobica, reclutando cellule immunitarie e producendo citochine e mediatori lipidici legati all'infiammazione.

I **PAMPs** sono presenti anche in batteri non patogeni: se riferiti a questi e a microrganismi commensali (microbiota), i loro profili molecolari strutturali vengono indicati con l'acronimo **MAMPs** (*Microbe-Associated Molecular Patterns*) (Figura 1). PAMPs e MAMPs sono molecole o porzioni di molecole conservate durante l'evoluzione nella galassia microbica, ma non espresse dalle cellule dell'organismo ospite e pertanto sono puntualmente campionate dal sistema immunitario. Nella sua "Teoria del pericolo" (pubblicata su Science nel 2002), Polly Matzinger prospettò che durante lo stress o il danno tissutale venivano rilasciate molecole endogene in grado di propagare la risposta infiammatoria e consentire alle cellule presentanti l'antigene (APC) di attivare la risposta immunitaria adattativa. Oggi tali molecole sono indicate collettivamente con l'acronimo **DAMPs** (*Damage-Associated Molecular Patterns*). I DAMPs derivano da cellule morte, tumorali o danneggiate (trauma, ischemia) (Figura 1), ma possono essere rappresentati anche da agenti biologici, chimici, fisici, metabolici, incremento di specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) o decremento dei livelli di potassio citoplasmatico. Un singolo PRR può riconoscere più PAMPs, MAMPs e/o DAMPs.

La 'memoria' allenata dell'immunità innata (*trained immunity*) che persiste per settimane o mesi è vantaggiosamente aspecifica. Ad esempio, studi sperimentali mostrano che l'interazione di un PAMP quale il lipopolisaccaride (LPS) dei batteri Gram-negativi con un PRR quale il TLR (*Toll-like receptor*)-4 (Figura 3), conferisce resistenza non solo verso Gram-negativi (*Pseudomonas aeruginosa*), ma anche per Gram-positivi (*Staphylococcus aureus*) e funghi (*Candida albicans*). Il peptidoglicano, PAMP derivato principalmente da batteri Gram-positivi e riconosciuto dal TLR2, induce resistenza alle infezioni da agenti patogeni Gram-negativi e Gram-positivi. Il  $\beta$ -glucano, costituente della parete cellulare di lieviti che attiva il TLR2 e la dectina-1, contrasta infezioni da agenti patogeni fungini e batterici (sia Gram negativi che positivi).

Un ruolo determinante nel generare risposte pro-infiammatorie ad alert esogeni o endogeni (intercettati tramite PAMPs o DAMPs), ma anche dismetabolici, lo svol-





gono i cosiddetti **inflammasomi**, complessi multiproteici che si assemblano nel compartimento citosolico di cellule immunitarie e infiammatorie. Gli inflammasomi integrano una moltitudine di segnali che convergono in risposte pro-infiammatorie, tramite la secrezione di specifiche interleuchine (IL-1 $\beta$  e IL-18), attivazione della caspasi-1 infiammatoria e in un particolare processo di necrosi cellulare infiammatoria (piroptosi) (Figura 1). A differenza dell'apoptosi, la piroptosi è una modalità di morte cellulare basata su risposte pro-infiammatorie che comporta formazione di pori della membrana plasmatica con conseguente esplosione cellulare. Gli inflammasomi sono strutturalmente diversi tra loro ma presentano tre componenti principali: una proteina sensore (PRR), una proteina adattatrice e un precursore proteico (pro-caspasi-1).

Nonostante ad oggi siano stati identificati numerosi inflammasomi, quello più caratterizzato è l'inflammasoma intracellulare NLRP3 (*Nod-Like Receptor Protein 3*), appartenente alla famiglia dei recettori PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) e imputato in patologie autoimmuni, cardiovascolari neurodegenerative (Alzheimer), dismetabolismi (sindrome metabolica, obesità, diabete), sclerosi multipla e verosimilmente anche in disturbi psichiatrici.

Nella risposta immunitaria innata sono coinvolti diversi tipi cellulari (Tabella 1). I **fagociti** comprendono macrofagi e neutrofilii; benché entrambi condividano funzione e rapida risposta all'aggressione microbica, i macrofagi sopravvivono più a lungo nei siti di infiammazione (1-2 giorni dopo l'infezione). Macrofagi e neutrofilii agiscono come primi soccorritori nei siti di infezione. Sono inoltre coinvolti nel riconoscimento, fagocitosi dei patogeni e degradazione dei detriti cellulari, nella presentazione degli antigeni alle cellule T, nonché nell'induzione dell'espressione di molecole costimolatorie su altri tipi di cellule presentanti l'antigene (APC, *Antigen Presenting Cells*), *trait d'union* cruciali tra immunità innata e adattativa. Svolgono un ruolo importante nell'avvio dell'infiammazione rilasciando citochine e chemochine, che a loro volta reclutano altre cellule immunitarie nei siti di infiammazione. Presenti in quasi tutti i tessuti, partecipano al mantenimento dell'omeostasi, riparazione e rimodellamento dei tessuti.

I **mastociti**, residenti generalmente nel connettivo perivascolare, sono precoci produttori di citochine in risposta a infezioni o lesioni, mentre i **basofili** che ne condividono caratteristiche nell'innescare risposte infiammatorie acute (allergie), sono presenti in circolo.

Gli **eosinofili** sono granulociti con proprietà fagocitiche deputati alla distruzione di parassiti, anche quelli di dimensioni troppo grandi per essere fagocitati. Insieme a mastociti e basofili, controllano anche i meccanismi associati a manifestazioni allergiche.

Le **cellule natural killer** (NK) sono linfociti citotossici con un ruolo determinante nella distruzione di cellule tumorali, inducendone apoptosi (morte cellulare programmata) e di cellule infettate da virus, attraverso il rilascio di perforine e granzimi (proteine che causano lisi delle cellule bersaglio). Sono indotte da specifiche interleuchine (IL-12, IL-15 e IL-18), producono interferone-gamma (IFN)- $\gamma$ , che contribuisce a mobilitare APC e promuovere lo sviluppo di un'efficace immunità antivirale. Benché le NK siano state classicamente relegate all'immunità innata, recentemente sono emerse fondate evidenze su caratteristiche adattive quali la memoria, in determinate circostanze e per un distinto subset. Distinti pool di **memory NK** possono agire in modo indipendente o cooperativo per conferire immunità a lungo termine contro diversi agenti patogeni.

Le cellule NK si ritrovano soprattutto nel sangue e nella milza e raramente nelle mucose (superfici di barriera). A questo livello il pronto intervento è invece garantito da cellule 'sentinella' scoperte recentemente, parenti stretti delle NK: le **cellule linfoidi innate** (ILCs, *Innate Lymphoid Cells*). Definite linfoidi per la morfologia, le ILC svolgono un ruolo importante nell'immunità innata, nell'organogenesi linfoide, nel rimodellamento dei tessuti e nell'infiammazione. Sono particolarmente abbondanti nella mucosa intestinale e nel polmone ma rare nel sangue. Pur non avendo recettori specifici per l'antigene, le ILCs rilevano i cambiamenti nel microambiente attraverso recettori per le citochine (IL-23 e IL-1) rilasciate in caso di danno tissutale. Dispongono inoltre di un'ampia gamma di recettori per nutrienti, prodotti microbici, mediatori lipidici e trasmettitori neuronali. Grazie alla peculiarità di risiedere nei tessuti, le ILC si adattano all'habitat stabilendo strette interazioni con cellule ematopoietiche e non (neuroni, cellule epiteliali, cellule stromali e cellule parenchimali, quali adipociti ed epatociti). Le ILCs sono suddivise in tre gruppi principali (ILC1, ILC2 e ILC3) in base alla produzione citochinica, fenotipo e modalità di sviluppo. Le citochine secrete (IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-17) contribuiscono a indirizzare l'appropriata risposta immunitaria verso specifici agenti patogeni e la regolazione immunitaria del relativo tessuto. Un alterato funzionamento delle ILCs è stato riscontrato in condizioni patologiche quali malattie infiammatorie croniche intestinali (rettocolite ulcerosa e malattia di Crohn), psoriasi, asma e dermatite atopica.

Le NK e le **cellule induttrici di tessuto linfoide** (LTi, *lymphoid tissue inducer cells*) sono generalmente incluse nella famiglia delle ILC per le loro proprietà fenotipiche e funzionali, identificandosi come ILC1 e ILC3, rispettivamente. Le cellule LTi guidano la formazione dei tessuti linfoidi secondari durante lo sviluppo fetale permettendo lo sviluppo di linfonodi e placche del Peyer. Poco dopo la nascita



consentono la formazione di accumuli linfoidi alla base delle cripte dei villi intestinali e dei follicoli linfoidi isolati. La sfida dei prossimi anni sarà scoprire le basi cellulari e molecolari di questi circuiti residenti nei tessuti, che regolano l'infiammazione e l'omeostasi tissutale.

Il **sistema del complemento** rappresenta una componente determinante dell'immunità innata (Tabella 1). Le sue proteine (oltre 50) interagiscono a cascata e inducono una serie di risposte infiammatorie finalizzate a contrastare infezioni e mantenere l'omeostasi. Fu scoperto più di un secolo fa da Jules Bordet come meccanismo in grado di 'complementare' l'attività degli anticorpi durante il rilevamento e la rimozione di agenti patogeni. L'interpretazione classica era pertanto quella di un sistema siero-operativo di prima linea di difesa. Il sistema del complemento è costituito da proteine circolanti, intracellulari ed espresse sulla superficie cellulare che interagiscono con funzione di opsonizzazione, processo di rivestimento da parte di molecole che favoriscono la fagocitosi di agenti patogeni, ma anche la lisi cellulare diretta e la produzione di anafilatossine. La finalità è l'eliminazione di microorganismi, cellule apoptotiche, complessi anticorpali e sostanze estranee presenti in organi, tessuti, sangue e linfa.

Il sistema del complemento comporta tre vie di attivazione: classica, della lectina e alternativa. La sua funzione è compartimentata e si esplica a livello sistemico e locale (spazio extracellulare e compartimenti subcellulari). Oggigiorno tale vantaggiosa risorsa dell'immunità innata (filogeneticamente antica) è stata radicalmente integrata dalla scoperta di un sofisticato ruolo nei fisiologici pathway cellulari e nella regolazione immunitaria sia innata che adattativa. Recenti evidenze hanno dimostrato, difatti, che l'attivazione del complemento intracellulare (**complosoma**) rappresenta la cabina di regia di processi fisiologici cellulari: respirazione mitocondriale, glicolisi, fosforilazione ossidativa, sopravvivenza cellulare, autofagia, ripristino dell'omeostasi e trascrizione genica in cellule immunitarie innate, adattative e non immunitarie (fibroblasti, cellule endoteliali ed epiteliali). Tale scoperta, insieme all'evidenza che un numero crescente di patologie (artropatie, aterosclerosi, cancro e nefropatia) dovute ad alterazioni del complemento, ha polarizzato la ricerca sul suo vantaggioso target terapeutico.

## **Immunità adattativa**

Il sistema immunitario (SI) umano è formato da una variegata compagine di organi, cellule e molecole che garantisce tolleranza o reazione immunitaria: capa-

cià di 'conoscere' le proprie strutture (*self*) e di riconoscere come estranee quelle di altri organismi (*non-self*), al fine di distruggere patogeni aggressori, mitigarne la tossicità e acquisire memoria immunologica. Il SI deve pertanto discriminare potenziali stimoli dannosi (microrganismi patogeni, sostanze esogene, molecole di stress cellulare) da segnali innocui come ad esempio quelli provenienti dal prezioso microcosmo intestinale commensale (microbioma).

Rispetto a quella innata, l'immunità adattativa presenta tempi d'intervento più lenti, ma risulta più efficace e duratura. Sebbene le risposte innate e adattative siano interconnesse e svolgano un ruolo sinergico, ognuna comporta cellule specializzate con funzioni distinte (Tabella 1).

In presenza di un microrganismo patogeno l'immunità specifica si basa sull'attivazione mirata dei **linfociti** (25% circa del numero totale di globuli bianchi) che comprendono due principali popolazioni: linfociti T e B. Il braccio adattativo dell'immunità è inoltre caratterizzato dalla specificità dei recettori coinvolti come gli anticorpi nel caso dei linfociti B e il recettore delle cellule T (TCR) per i linfociti T. I linfociti si formano da cellule immature negli organi linfatici primari: timo e midollo osseo. La maturazione delle cellule B avviene nel midollo osseo da dove i linfociti B immaturi migrano verso organi linfoidi secondari alla ricerca di agenti patogeni. La lettera B deriva da Bursa Fabricii, organo degli uccelli dove è stata osservata per la prima volta la loro maturazione. Comunemente però il riferimento alla lettera B è riconducibile alla traduzione inglese del midollo osseo (*bone marrow*). Nel midollo osseo si formano anche le cellule T, che migrano presto nel timo (per questo definite **T**) dove vengono sottoposte a una rigorosa selezione.

Gli organi linfoidi secondari sono costituiti da milza, linfonodi, tonsille e tessuto linfoide associato alle mucose (MALT, Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). In relazione al distretto anatomico il MALT comprende:

- GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*), associato all'intestino;
- NALT (*Nasal-Associated Lymphoid Tissue*), associato alla cavità nasale;
- LALT (*Larynx-Associated Lymphoid Tissue*), associato al laringe;
- BALT (*Bronchus-Associated Lymphoid Tissue*), associato ai bronchi;
- CALT (*Conjunctival-Associated Lymphoid Tissue*), associato agli occhi;
- SALT (*Skin-Associated Lymphoid Tissue*), associato alla cute;
- VALT: (*Vulvo-vaginal-Associated Lymphoid Tissue*), associato ai genitali femminili;
- TALT (*Testis-Associated Lymphoid Tissue*), associato ai genitali maschili.

I linfociti si differenziano in sottopopolazioni in base all'antigene presente sulla

loro membrana, indicato con l'acronimo anglosassone **CD (Cluster Differentiation, gruppo di differenziazione)** (Figura 4).

I linfociti T (60%-80% dei linfociti totali) esprimono sulla loro superficie l'antigene il CD3 (CD3+) che svolge la funzione di trasduttore del segnale, i linfociti B l'antigene CD19, mentre i linfociti T citotossici (in grado di distruggere cellule tumorali o infettate da virus, come le cellule NK) il CD16 e il CD56. Negli ultimi anni, i connotati fenotipici e funzionali che contraddistinguono i principali subset cellulari del SI adattivo sono diventati sempre più sfumati. A tal proposito, il CD56 rappresenta un esempio paradigmatico: pur essendo il marcatore fenotipico delle cellule NK, può essere espresso da altre cellule, comprese le T alfa-beta, le T gamma-delta (vedi oltre), le cellule dendritiche e i monociti. Tutti i tipi cellulari che esprimono CD56 presentano funzioni effettrici immunostimolanti, inclusa la produzione di citochine T helper 1 e un'efficiente attività citotossica.

Esistono 3 tipi principali di linfociti T: T helper (Th), T citotossici (soppressori) e T regolatori (Treg).

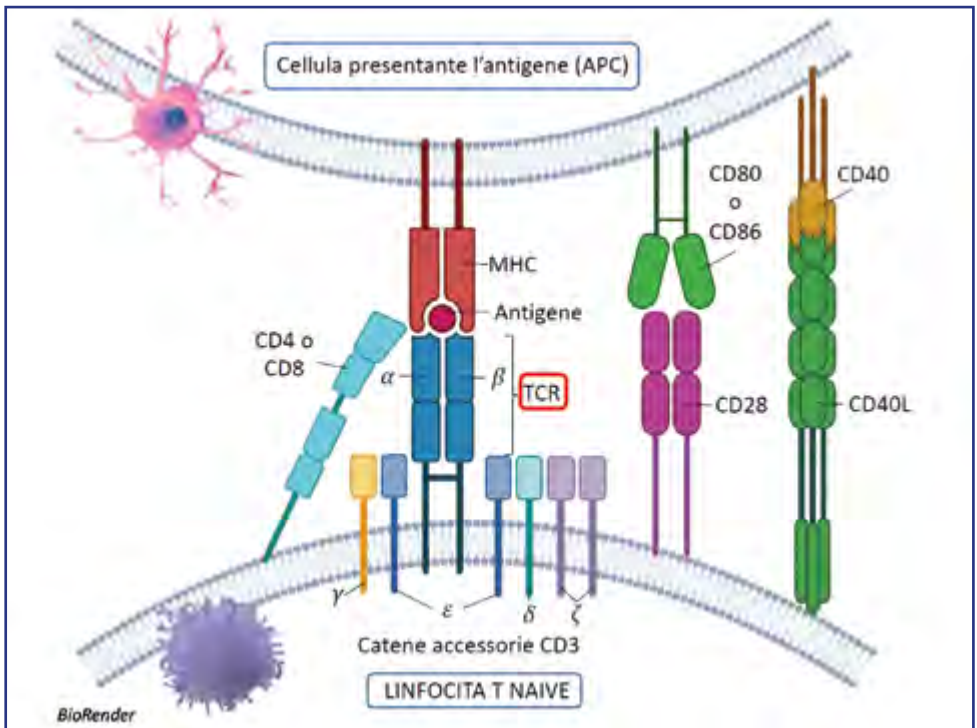


Figura 4.

I **linfociti T helper** sono indicati come CD3+/CD4+ perché, oltre all'antigene CD3, è presente sulla loro superficie l'antigene CD4 che conferisce loro la proprietà di stimolare e "aiutare" (*helper*) i linfociti B a trasformarsi in plasmacellule e produrre anticorpi.

Citochine presenti nel microambiente che inducono la sintesi di specifici fattori di trascrizione controllano la differenziazione dei linfociti T helper (CD4+) in distinte sottopopolazioni: Th-1, Th-2, Th-9, Th-17, Th-22, cellule follicolari (Tfh) e cellule regolatorie (Treg).

Le cellule Th-1, deputate alla difesa contro patogeni intracellulari, producono citochine proinfiammatorie (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-2) per l'immunità cellulare. Attraverso il rilascio di specifiche citochine antinfiammatorie (IL-4, IL-5 e IL-10), le Th-2 contribuiscono invece alla protezione contro i parassiti e orchestrano risposte immunitarie, come il controllo dei linfociti B.

Le cellule **T helper (CD4+) esprimenti interleuchina (IL)-17 (Th17)**, rappresentano una linea cellulare a cui è stato recentemente attribuito un ruolo di primo piano nello scenario immunologico. Sono distinte dalle cellule Th1 e Th2 sia per il *milieu* citochinico, responsabile del loro sviluppo, che per il pattern di fattori espressi e la relativa risposta. Con la produzione di IL-17, IL-6 o IL-22 le cellule Th-17 sono coinvolte nella difesa contro batteri e funghi. Presentano inoltre notevole plasticità, in particolare nei siti di flogosi autoimmune: possono difatti non produrre IL-17 ma IFN- $\gamma$  come le Th1 e pertanto sono definite ex-Th17 o Th1 non classiche. Particolare valenza funzionale nel sofisticato traffico immunitario rivestono le **cellule T regolatorie (Treg, CD4+CD25+)**, in quanto limitano le risposte aberranti verso antigeni self prevenendo lo sviluppo di patologie autoimmuni. La funzione regolatoria garantisce il contenimento dell'overexpression di risposte Th1, Th2 e Th17, contribuendo a stabilire un favorevole compromesso tra patogeni ed ospite. Le cellule Treg svolgono anche un ruolo fondamentale nello sviluppo della "tolleranza immunitaria" verso antigeni alimentari.

Rispetto all'attivazione convenzionale quella *bystander*, non attivata dal riconoscimento diretto dell'antigene, quindi indipendente dalla segnalazione del TCR, è stata osservata principalmente nelle cellule di memoria (CD4+ o CD8+) antigene-specifiche che rimangono a lungo dopo l'eliminazione di un'infezione, verosimilmente per rispondere rapidamente ai mediatori infiammatori. Sembra che alcune citochine (IL-23, IL-27) e i recettori innati (Toll-like receptor TLR2 e TLR4) possano svolgere un ruolo determinante nell'attivazione *bystander*.

Le **cellule T citotossiche** (CTL, *Cytotoxic T cells*) sono i principali mediatori cellulari delle difese immunitarie adattative contro cellule infettate da virus o neopla-



stiche. Sono indicate dalla sigla CD3+/CD8+ perché, oltre al CD3 comune a tutti i linfociti, presentano l'antigene CD8. Diversamente da questi, le cellule *natural killer* sono carenti di recettori per il rilevamento di antigeni, ma accomunate dallo stesso target. Dopo aver riconosciuto l'antigene specifico sul loro bersaglio cellulare, i CTL assemblano una 'sinapsi immunologica' dove mobilitano il loro meccanismo killer che viene rilasciato nella fessura sinaptica per orchestrare la morte del bersaglio cellulare. Utilizzano un arsenale diversificato di mediatori citotossici immagazzinati in organelli, simili a lisosomi che subiscono l'esocitosi in risposta a segnali attivati dal recettore dell'antigene. Le sostanze citotossiche vengono rilasciate nella fessura sinaptica. Gli organelli includono granuli litiici che trasportano un carico di proteine citotossiche imballate in un'impalcatura glicoproteica, corpi multivescicolari che trasportano il ligando del 'recettore della morte' (FasL) e le particelle di attacco supramolecolari (SMAP), recentemente scoperte. I CTL derivano da cellule T CD8+ naïve che subiscono un complesso programma di differenziazione in seguito al riconoscimento dell'antigene, sebbene anche le cellule CD4+ possano diventare effettori citotossici.

I **linfociti T regolatori**, designati dalla sigla CD4+/CD25+, hanno una funzione regolatrice sulla produzione dei linfociti T helper. I linfociti B (CD19), sono definiti linfociti CD3+/CD19+ per lo stesso criterio classificativo sopra esposto. I linfociti B, prodotti nel midollo osseo, hanno la funzione di produrre anticorpi e possono essere ulteriormente suddivisi in sottopopolazioni in base all'espressione di specifici marker (CD5, CD10, CD15, CD20, CD23, CD38).

In sintesi, la componente cellulare del braccio immunitario adattivo conta su cellule T helper (CD4+) con meccanismi adiuvanti ed effettori, cellule T citotossiche (CD8+) dotate di potenziale citotossico e linfociti B produttori di anticorpi (Figura 3).

Le cellule T si attivano quando il loro recettore (TCR, T cell receptor) riconosce peptidi antigenici agonisti legati alle molecole del complesso di istocompatibilità (**MHC, major histocompatibility complex**) (Figura 3). Tale peculiarità viene definita "restrizione MHC" (Figura 4).

Il TCR è un eterodimero composto da due diverse catene proteiche. Nella stragrande maggioranza (95%), i TCR dei linfociti T helper (CD4+) o citotossici (CD8+) hanno una catena alfa e una catena beta ( $\alpha/\beta$ ), mentre solo nel 5% dei linfociti T il TCR è composto da catene gamma e delta ( $\gamma/\delta$ ) (Figura 4).

Quasi tutte le cellule presentano proteine di superficie facenti parte del complesso MHC che nell'uomo prende il nome di HLA (*Human leukocyte antigen*). Il

sistema antigenico dei leucociti umani (HLA) è codificato da un gruppo di geni polimorfici localizzati sul braccio corto del cromosoma 6. Caratterizzati da un elevato polimorfismo, i complessi MHC/HLA si distinguono in 3 tipologie con differenti funzioni:

】 **HLA/MHC di classe I** (HLA-A, HLA-B, HLA-C). Sono glicoproteine transmembrana presenti sulla superficie di tutte le cellule nucleate. Alcuni geni del cluster codificano per molecole HLA/MHC non-classiche, quali HLA-G (possibile ruolo nella protezione del feto dal rigetto materno) e HLA-E che presenta i peptidi ad alcuni recettori delle cellule *natural killer*. I complessi di classe I presentano peptidi endogeni derivati da proteine degradate nei proteosomi all'interno della cellula. Se la cellula viene infettata da un virus il sistema HLA porta suoi frammenti sulla superficie cellulare in modo che possa essere intercettata dai linfociti T citotossici (CD8+) che distruggono le cellule target. Alcune cellule tumorali e diversi virus (citomegalovirus, HIV) riescono a ridurre l'espressione delle MHC di classe I per non incorrere nell'identificazione da parte dei linfociti T citotossici, benché solitamente non sfuggano alle cellule NK;

】 **HLA/MHC di classe II** (DP, DQ, DR, DM, DOA, DOB). Sono espressi solo da APC professionali (cellule dendritiche, cellule B, macrofagi, cellule di Langerhans) ed epitelio timico. Attraverso la diade immunogena peptide-MHC (pMHC) vengono riconosciuti solo da linfociti T helper (CD4+) che si espandono inducendo i linfociti B a produrre anticorpi contro l'antigene specifico. Le molecole di classe II presentano peptidi esogeni (extracellulari). Recentemente, è stato descritto che i tre principali sottogruppi di granulociti (neutrofilii, eosinofili e basofili) possano essere in grado di presentare antigeni esogeni alle cellule TH naïve tramite molecole MHC di classe II;

】 **HLA/MHC di classe III**; tra i geni di questa classe alcuni sono indubbiamente immunomodulatori in quanto codificano per componenti del sistema del complemento (ad esempio, C4) o citochine (ad esempio, TNF- $\alpha$ ), mentre altri geni hanno una o più funzioni sconosciute non direttamente associate all'immunità.

Le cellule dendritiche hanno un'altra prerogativa: riescono a presentare antigeni anche di origine intracellulare (proteine citosoliche) grazie alla proprietà definita 'presentazione crociata' (o 'stimolazione crociata'). Difatti, hanno la capacità di ingerire cellule infettate da virus e cellule tumorali e presentare gli antigeni associati alle molecole MHC di classe I. Questa via di presentazione dell'antigene





non segue la regola generale secondo la quale gli antigeni ingeriti che passano attraverso le vescicole endocitiche sono presentati sulle molecole di classe II. Le cellule immunitarie innate attivate trasmettono informazioni sulla natura e origine dell'antigene alle cellule adattative per indurre un'appropriata risposta. Questo concetto è alla base del consolidato **'paradigma a tre segnali'** sul controllo innato dell'immunità adattativa. Il primo segnale è la presentazione della molecola MHC 'agganciata' al peptide antigenico e il riconoscimento da parte del recettore linfocitario TCR (Figura 3). La processazione e presentazione dell'antigene (Ag) ai linfociti T helper da parte delle APC prevede la fagocitosi dell'antigene e la sua degradazione in peptidi. Poiché il peptide può essere di origine self o non self, la sola presentazione non è in grado di fornire alcuna informazione qualitativa sulla fonte antigenica. Sono pertanto necessarie ulteriori garanzie, assicurate dal secondo segnale: l'interazione con molecole costimolatorie, necessarie per la proliferazione e differenziazione dei linfociti T naïve (Figura 4). Il legame tra la proteina CD28 espressa dal linfocita T con le molecole costimolatorie CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) espresse dalle APC amplifica numerose risposte dei linfociti T, quali la sopravvivenza (grazie all'espressione di una proteina antiapoptotica), la produzione di citochine e la differenziazione in cellule effettrici e di memoria. In assenza di costimolazione i linfociti T che incontrano l'antigene muoiono per apoptosi o entrano in uno stato di mancata responsività (anergia). L'espressione delle molecole costimolatorie da parte delle APC professionali viene sensibilmente incrementata dai prodotti microbici (lipopolisaccaridi) che legano i recettori Toll-like e da citochine prodotte durante la risposta immunitaria innata (IFN, interferoni). Una volta attivati, i linfociti T esprimono sulla loro superficie una molecola chiamata ligando di CD40 (CD40L) che, interagendo con il CD40 presente sulle APC, induce altre APC a partecipare alla risposta immune (Figura 4). Tale processo viene indicato con il termine *licensing*. Pertanto, il CD40 più che costimolatore funziona da amplificatore indiretto. Il terzo segnale è garantito dalla presenza di citochine del braccio immunitario innato prodotte dopo l'attivazione del recettore di riconoscimento PRR (*pattern recognition receptors*). La presenza contemporanea di tutti e tre i segnali garantisce un'attivazione selettiva delle cellule T. In realtà, il modello a tre segnali sopra menzionato è una semplificazione del controllo innato dell'immunità adattativa. Oltre i tre step di *signaling*, le cellule innate forniscono al sistema immunitario adattativo informazioni più sofisticate sull'agente patogeno. La via di infezione e il microambiente del *priming* hanno un sensibile effetto sulla differenziazione delle cellule T. A seconda del patogeno, le cellule innate producono citochine quali IL-1 e/o in-

terferoni (IFN) di tipo I che modulano ulteriormente la funzione delle cellule T. I principali produttori di IL-1 sono i monociti-macrofagi, ma questa citochina viene prodotta anche da una varietà di tipi cellulari. Dopo la loro differenziazione, la presenza di citochine innate nell'ambiente circostante mantiene le cellule T in uno stato plastico, suggerendo un'interazione persistente tra il sistema immunitario innato e adattativo. In sintesi, il controllo innato dell'immunità adattativa è un complesso processo di trasferimento di informazioni che si estende oltre il paradigma dei tre segnali.

I recettori immunitari non sono distribuiti in modo casuale sulla membrana plasmatica dei linfociti, ma sono segregati in domini specializzati che funzionano come piattaforme per avviare la segnalazione, come esemplificato dal complesso dei recettori delle cellule B o delle cellule T e dalla sinapsi immunologica. Le "proteine che organizzano la membrana" e, in particolare, le tetraspanine e le galectine, sono cruciali per il controllo dell'organizzazione spazio-temporale dei recettori immunitari e di altre proteine di segnalazione. La famiglia di proteine della tetraspanina partecipa a numerose vie di segnalazione fondamentali coinvolte nella trasmissione virale, nell'immunità virus-specifica e nel traffico vescicolare mediato dal virus. Le carenze di tetraspanine e galectine specifiche determinano una compromissione della formazione di sinapsi immunitarie, proliferazione dei linfociti, produzione e migrazione di anticorpi, che possono portare a compromissione dell'immunità, sviluppo di tumori e autoimmunità.

L'attivazione della risposta adattativa con i linfociti che pattugliano costantemente gli organi linfoidi secondari è fondamentale per contrastare infezioni e indurre memoria immunologica, ma un'ulteriore risorsa immunitaria è recentemente emersa grazie alla scoperta di **cellule immunitarie di residenza tissutale**, permanenti in organi periferici non linfoidi. Infatti, oggi è noto che quasi tutti gli organi non linfoidi ospitano una considerevole popolazione di **linfociti residenti nei tessuti**. Questi includono cellule T non convenzionali come le cellule T invariante natural killer (iNKT), cellule T delta-gamma ( $\gamma\delta$ ) e cellule T di memoria residenti nei tessuti (TRM, *tissue-resident memory*) (Figura 1).

Le **cellule T natural killer invariante (iNKT)** rispondono alla stimolazione di antigeni lipidici o glico-lipidici secernendo un'ampia gamma di citochine. Occupano nicchie distinte in diversi tessuti e talvolta stabiliscono una residenza tissutale a lungo termine dove possono rispondere rapidamente a perturbazioni locali e influire sull'omeostasi.

Dal punto di vista funzionale, le cellule iNKT umane possono essere suddivise in tre sottopopolazioni: CD4+, CD8+ e CD4-CD8- (DN, *Double-Negative*).



Le citochine e le chemochine derivate dalle cellule iNKT possono modulare altri tipi di cellule, comprese le cellule NK, le cellule T CD4+ e CD8+ convenzionali, i macrofagi, i neutrofili e le cellule B, nonché il reclutamento e l'attivazione delle cellule dendritiche.

Recentemente sono stati prospettati due meccanismi per spiegare l'attività antinfiammatoria delle cellule iNKT: induzione di percorsi soppressivi mediati da altre cellule regolatrici ed eliminazione citolitica di cellule presentanti l'antigene che promuovono risposte infiammatorie eccessive. La modalità con cui l'attività antinfiammatoria sia controllata e separata dalla loro funzione pro-infiammatoria rimane ancora irrisolta.

Le **cellule T doppie negative (DN)** partecipano sia all'immunità innata che a quella adattativa, differenziandosi dalle cellule T CD4+ e CD8+ convenzionali. Sulla base del riconoscimento specifico del complesso antigene/TCR possono inibire o eliminare cellule immunitarie adattative, prevenendo patologie autoimmuni. In condizioni fisiologiche le cellule T DN svolgono un ruolo cruciale nell'omeostasi immunitaria mentre, in condizioni patologiche (neoplasie, malattie infiammatorie e autoimmuni), agiscono come cellule T regolatorie (Treg), T citotossiche o T helper (Th), influenzando i sistemi innato e adattativo. Nell'era della medicina di precisione e personalizzata tali cellule multifunzionali rappresentano pertanto un potenziale e affascinante strumento terapeutico che deve essere ulteriormente esplorato.

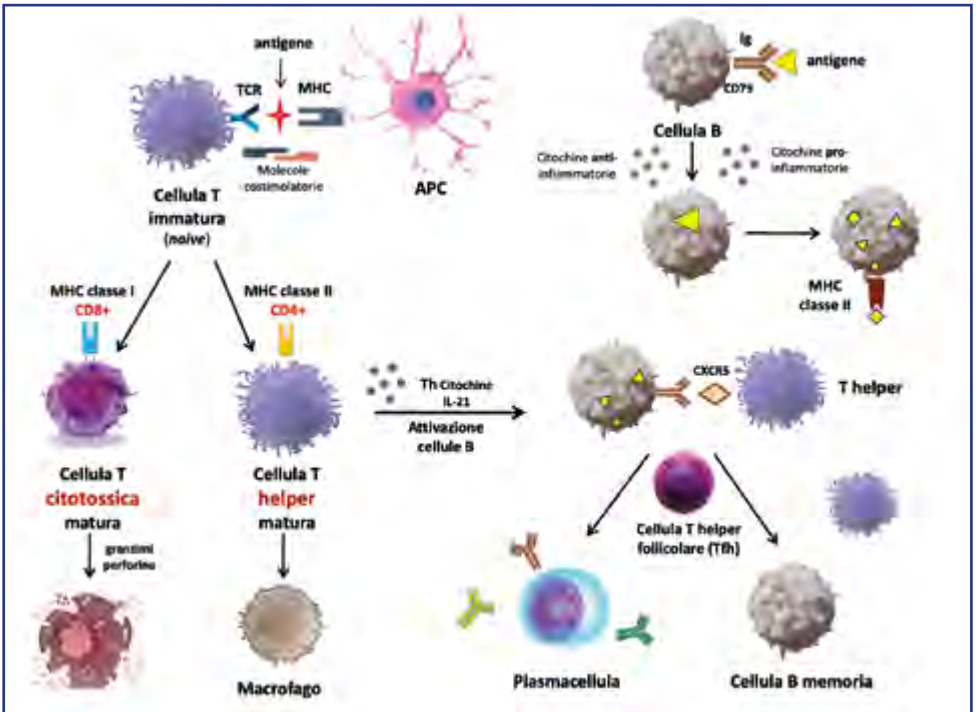
Prototipo delle cellule T "non convenzionali" sono i **linfociti T gamma delta ( $\gamma\delta$ )**. Questo sottogruppo di linfociti noti come linfociti intraepiteliali (IEL) funge da prima linea di difesa a livello delle mucose dove esercita un ruolo determinante nell'omeostasi e nella riparazione tissutale. Una svolta nella conoscenza sulle cellule T  $\gamma\delta$  è stata la scoperta che questo piccolo ma eterogeneo subset linfocitario CD3+ non riconosce molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), come avviene per le cellule T CD4+ o CD8+ convenzionali che trasportano il recettore  $\alpha\beta$  (Figura 4), ma piuttosto intercetta una molecola fosforilata non peptidica (isopentil pirofosfato) secreta da virus, batteri (Gram+ e Gram- batteri) e cellule stressate. Quando tale 'fosfoantigene' viene riconosciuto, il linfocita T $\gamma\delta$  va incontro ad attivazione. Va ricordato che l'isopentil pirofosfato è prodotto anche dalle nostre cellule come metabolita intermedio del ciclo del mevalonato, importante per la sintesi del colesterolo ma, condizioni fisiologiche, la sua quantità endogena è talmente esigua da non indurre l'attivazione dei linfociti T $\gamma\delta$ .

La memoria immunologica viene creata dopo la risposta immunitaria primaria e fornisce protezione contro i successivi attacchi dello stesso agente patogeno (Figura 1). Anche le cellule T CD8 di memoria devono essere attivate da APC con attività di costimolazione per rigenerare cellule T CD8 effettrici che esprimono varie citochine come l'interferone (IFN)- $\gamma$  e il fattore di necrosi tumorale (TNF)- $\alpha$ , oltre perforina, granzima B (GZMB) e Fas-ligando (FasL). Il fattore di trascrizione T-Bet espresso nelle cellule T CD8 attivate controlla la loro capacità citotossica. Durante la risposta delle cellule T CD8 all'infezione, le cellule effettrici di breve durata (SLEC) che moriranno per apoptosi durante la fase di contrazione della risposta immunitaria esprimono un elevato livello di T-Bet.

L'immunità umorale costituisce parte integrante della risposta immunitaria adattativa ed è caratterizzata dalla generazione a breve e lungo termine di risposte anticorpali (Ig, immunoglobuline) da parte di linfociti B (**cellule B**) differenziatisi in plasmacellule, loro stadio maturativo terminale (Figura 5). Le cellule B svolgono anche funzioni indipendenti dagli anticorpi, quali presentazione dell'antigene (APC), modulazione della differenziazione e sopravvivenza delle cellule T e produzione di citochine regolatorie e proinfiammatorie. Derivano da cellule staminali emopoietiche del midollo che abbandonano dopo la maturazione esprimendo un recettore unico che lega l'antigene sulla loro membrana. A differenza delle cellule T, le B possono riconoscere gli antigeni direttamente, senza bisogno di APC, tramite anticorpi espressi sulla superficie cellulare.

Le cellule B naïve possono differenziarsi in cellule secernenti anticorpi (ASC, *antibody secreting cells*) di breve vita (plasmablasto), in ASC di lunga vita (plasmacellula), in cellule B di memoria o diventare cellule B del centro germinativo (BGC, *B germinal centre*). Queste ultime vanno incontro a cicli di maturazione prima di uscire dal centro germinativo come cellule di memoria o plasmacellule. Le BGC che hanno subito lo scambio di classe (*switch* isotipico) tendono a migrare nel midollo osseo dove vivono a lungo, continuando a produrre anticorpi anche successivamente all'eliminazione dell'antigene.

I linfociti B e T producono recettori specifici per l'antigene solo dopo il riarrangiamento del DNA che porta alla fusione casuale di segmenti genici denominati V (*variable*), D (*diversity*), J (*joining*). Tale fusione casuale, definita ricombinazione V(D)J, avviene in qualsiasi locus per le Ig o per il TCR e prevede la scelta casuale di un gene V, un segmento J ed un segmento D (dove presente). La loro unione formerà un singolo esone per la regione variabile di un recettore dell'antigene. Durante la proliferazione dei linfociti B avviene una maturazione dell'affinità del-



**Figura 5.**

le immunoglobuline verso gli antigeni. Nel segmento genico V del locus, è presente una frequenza di mutazione pari a 1 su 1000 paia di base, circa un migliaio di volte superiore a qualsiasi altro gene del nostro genoma. Questa caratteristica viene indicata come 'ipermutazione somatica'.

La risposta immunitaria umorale può essere sostanzialmente divisa in due fasi: extrafollicolare (EF) e del centro germinativo (GC). Nella prima le cellule B vengono attivate per differenziarsi rapidamente (entro pochi giorni dall'infezione) in plasmacellule negli organi linfoidi secondari, producendo anticorpi con poche ipermutazioni somatiche ma con affinità ragionevolmente elevata in grado di neutralizzare l'agente patogeno. Dopo l'incontro con antigene proteico, le plasmacellule EF sono prevalentemente dell'isotipo IgM ma possono essere commutate in IgG o IgA, in risposta alle infezioni virali. In entrambi i casi, si ritiene che le plasmacellule EF abbiano una vita relativamente breve. Nella fase del centro germinativo (GC), che inizia da diversi giorni a una settimana (ma può durare mesi), le cellule B antigene-specifiche subiscono ipermutazione somatica

e selezione per dare origine a plasmacellule di lunga vita localizzate nel midollo osseo. Sia le risposte EF che quelle GC producono cellule B di memoria antigeno-specifiche che possono persistere a lungo dopo che l'infezione primaria è stata eliminata.

La principale funzione degli anticorpi è la neutralizzazione dei microrganismi patogeni e delle tossine da essi prodotte. L'eliminazione degli antigeni mediata dagli anticorpi coinvolge meccanismi effettori e richiede la partecipazione di vari componenti cellulari e umorali del sistema immunitario, inclusi i fagociti e le proteine del complemento.

Numerose funzioni effettrici svolte dagli anticorpi sono mediate dalle regioni costanti della catena pesante delle Ig. Ne deriva che classi (isotipi) diverse di Ig svolgono funzioni effettrici differenti. Ad esempio, alcune sottoclassi di IgG si legano ai recettori per il frammento cristallizzabile (Fc) dei fagociti, favorendo così la fagocitosi di particelle rivestite da anticorpi. Altre sottoclassi di IgG e IgM attivano il sistema del complemento. Le IgE si legano ai recettori per Fc dei mastociti inducendone l'attivazione. Comunque, la risposta immunitaria è talmente diversificata e specializzata che l'esposizione a un determinato antigene stimola nei linfociti B lo scambio verso l'isotipo più efficace per far fronte a quello specifico antigene. Lo scambio di classe si verifica nei linfociti B attivati presenti nei centri germinativi dei tessuti linfoidei secondari. I principali stimoli che lo inducono sono rappresentati da citochine prodotte dai linfociti T helper e dall'interazione tra il ligando CD40 e CD40. Il CD40L è una proteina espressa soprattutto dai linfociti T attivati che si lega al CD40 presente sulle APC agendo da co-attivatore (Figura 4). Il legame CD40/CD40L attiva i linfociti B stimolandoli a formare i centri germinativi, induce le cellule dendritiche ad aumentare la produzione di molecole stimolatorie e citochine (*licensing*) e incrementa l'attività microbica dei macrofagi.

L'attivazione delle cellule B attraverso il legame del loro recettore (BCR, *B cell receptor*) con un antigene affine, nel contesto di vari segnali aggiuntivi, guida programmi proliferativi e di differenziazione. Questi processi si traducono nell'espansione sia di cellule effettrici precoci che possono secernere abbondanti quantità di anticorpi, sia di cellule B di lunga durata che proteggono dalle infezioni secondarie. Negli ultimi anni sono emerse interazioni critiche tra linfociti T helper (CD4+), linfociti B e i principali regolatori trascrizionali, importanti per le popolazioni eterogenee (sia plasmacellule a lunga vita che cellule B di memoria) (Figura 5).

I linfociti B naïve immaturi (quelli che devono ancora incontrare l'antigene) si sviluppano nel midollo osseo dove avviene la selezione per gli antigeni self con



la formazione di un repertorio tollerante. In seguito, migrano verso gli organi linfoidi secondari per la loro maturazione cellule B follicolari o cellule B della zona marginale. Le risposte immunitarie umorali (anticorpi) iniziano con il riconoscimento di un particolare antigene da parte di un piccolo clone di linfociti B specifici attraverso il loro recettore (BCR). Il legame con l'antigene può neutralizzare direttamente l'agente patogeno e/o attivare macrofagi per fagocitare entità estranee. Gli anticorpi promuovono anche il sistema del complemento sulla membrana microbica per avviarne la distruzione.

I linfociti B riconoscono gli antigeni nella loro conformazione naturale, attuando la risposta effettrice finale, cioè la produzione e la secrezione di anticorpi nei liquidi biologici (sangue, linfa, liquidi interstiziali, secrezioni). L'interazione antigene-BCR innesca l'espansione clonale della cellula stimolata. I processi di sintesi e secrezione degli anticorpi solubili (prima IgM, poi IgG) specifici per quel determinato agente patogeno sono realizzati direttamente dai linfociti B e, su più vasta scala, dalle cellule che rappresentano il loro terminale differenziativo, le plasmacellule (cellule B effettrici). Un processo di "amplificazione clonale" seleziona le cellule più efficaci per neutralizzare ed eliminare l'antigene. L'antigene e i linfociti T helper stimolano la proliferazione e la differenziazione del clone di linfociti B specifico per l'antigene. Una parte della progenie di linfociti B che hanno proliferato in risposta all'antigene e ai linfociti T si differenzia in cellule effettrici capaci di produrre e secernere anticorpi. Lo sviluppo delle plasmacellule dipende dall'induzione di un fattore trascrizionale chiave (BLIMP-1) che orchestra il processo di differenziazione. La differenziazione dei B linfociti a plasmacellule dipende fondamentalmente da segnali provenienti da linfociti T helper follicolari (Tfh) (Figura 5).

La risposta anticorpale può essere T-dipendente o T-indipendente. Nella prima, attuata nei follicoli linfoidi sono coinvolti i linfociti T helper, l'antigene è di natura proteica e vengono prodotti anticorpi della classe IgG (prevalentemente), IgA e IgE. I processi di scambio isotipico e di maturazione dell'affinità avvengono nelle risposte immunitarie umorali T-dipendenti verso antigeni proteici in quanto lo scambio di classe viene stimolato da segnali generati dai linfociti T helper, tra i quali le citochine e il ligando CD40.

La risposta anticorpale T-indipendente si realizza nella zona marginale della milza, gli antigeni sono multivalenti (es. polisaccaridi), richiede l'intervento di altri stimoli (es. complemento) e comporta la produzione principalmente di IgM a bassa affinità. Le risposte anticorpali ad antigeni multivalenti con determinanti antigenici ripetuti (quali polisaccaridi e lipidi) non richiedono l'intervento dei linfociti T helper

antigene-specifici (antigeni T-indipendenti). Le plasmacellule a vita breve vengono generate durante le risposte T-indipendenti e le fasi precoci T-dipendenti mentre quelle a lunga sopravvivenza sono generate nel centro germinativo per migrare verso il midollo osseo, dove possono continuare a secernere anticorpi per mesi o anni dopo l'eliminazione dell'antigene. Tali anticorpi sono quelli che forniscono una protezione immediata nel caso di una riesposizione all'antigene.

La struttura degli anticorpi è simmetrica a forma di Y, con due catene leggere e due catene pesanti tenute insieme da ponti disolfuro. Entrambe presentano una regione variabile ed una costante. Quest'ultima non partecipa al riconoscimento dell'antigene ma interviene nelle funzioni effettrici che stimolano l'intervento di altre cellule del sistema immunitario. Le regioni variabili di una catena pesante e di una leggera formano invece il sito di legame per l'antigene. Come indica il termine stesso, le regioni variabili possiedono sequenze di amminoacidi diverse in ciascun anticorpo, che pertanto presenta specificità unica verso un particolare antigene. Legandosi a determinanti antigenici di microrganismi extracellulari, ne causa neutralizzazione o/e eliminazione (funzione recettrice).

Cinque tipi di catene pesanti ( $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ ) connotano relative classi di immunoglobuline (isotipi), definite con la corrispettiva lettera (IgA, IgM, IgD, IgE, IgG), differenti per caratteristiche biologiche e funzioni effettrici. Le Ig di membrana (mlg) possono essere solamente IgM o IgD e costituiscono il recettore delle cellule B (*B Cell Receptor*), mentre quelle secrete sono IgM, IgG, IgA ed IgE.

Quando i linfociti B maturati nel midollo osseo incontrano l'agente patogeno rispondono solo le cellule il cui recettore (BCR) è affine a quel particolare antigene, con un sito di legame per l'antigene diverso per ciascun anticorpo.

Il recettore delle cellule B, proteina transmembrana situata sulla superficie esterna, è costituita da due frazioni: quella legante l'antigene, anticorpo di un unico isotipo ancorato alla membrana e la frazione di trasduzione del segnale, un eterodimero definito CD79 (Figura 5). Nell'interazione con l'antigene il BCR ha due funzioni cruciali: trasduzione del segnale che comporta modifiche nella oligomerizzazione del recettore e internalizzazione dell'antigene che viene degradato e restituito alla superficie sotto forma di peptidi legati a molecole MHC di classe II per presentazione alle cellule T helper antigene-specifiche, stimolandole a produrre proteine che, a loro volta, inducono la proliferazione delle cellule B e la differenziazione della sua progenie in cellule che secernono anticorpi (Figura 5). Pertanto, l'attivazione dei linfociti B e le conseguenti risposte anticorpali agli antigeni proteici richiedono la collaborazione di linfociti T helper CD4+ in grado di riconoscere gli stessi antigeni.





Alcuni antigeni microbici possono attivare direttamente le cellule B senza l'aiuto delle cellule T. La capacità delle cellule B di rispondere direttamente a questi antigeni fornisce una risposta rapida a diversi patogeni batterici. Tuttavia, l'iper-mutazione somatica e il passaggio a determinati isotipi di immunoglobuline dipendono dall'interazione delle cellule B stimulate dall'antigene con le cellule T helper e altre cellule negli organi linfoidi periferici. Gli anticorpi indotti dai soli antigeni microbici sono quindi meno variabili e meno versatili dal punto di vista funzionale rispetto a quelli indotti con l'aiuto delle cellule T.

L'attivazione dei linfociti B e la loro differenziazione in cellule che producono anticorpi sono processi multifattoriali. L'antigene si lega e attiva i recettori, rappresentati da IgM e IgD, espressi sulla membrana dei linfociti B naïve. Questa attivazione può avvenire in modo dipendente o indipendente dai linfociti T e porta alla loro proliferazione (espansione del clone di linfociti B specifici per l'antigene) e differenziazione (plasmacellule che secernono attivamente anticorpi e linfociti B di memoria). I linfociti B attivati possono iniziare a produrre anticorpi diversi da IgM e IgD, un processo definito scambio di classe (isotipo) delle catene pesanti. I linfociti B che producono anticorpi dotati di un'affinità per l'antigene più elevata vengono selezionati e si espandono ('maturazione dell'affinità').

I linfociti B, a questo punto, si differenziano in cellule che producono anticorpi e in cellule di memoria a lunga sopravvivenza. Infatti, alcune plasmacellule migrano dagli organi linfoidi secondari al midollo osseo, dove possono permanere per diversi anni producendo bassi livelli di anticorpi che forniscono una protezione ogniqualevolta lo specifico microrganismo riconosciuto reinfecta l'individuo.

Le risposte anticorpali primarie e secondarie verso antigeni proteici si differenziano a livello sia qualitativo che quantitativo. Infatti, le risposte primarie sono il risultato dell'attivazione dei linfociti B naïve che non erano venuti in contatto con l'antigene. Al contrario, le risposte secondarie sono dovute alla stimolazione di cloni di linfociti B di memoria che si erano già espansi numericamente nel corso della prima esposizione all'antigene. Le risposte secondarie, dunque, si svilupperanno più rapidamente di quelle primarie, producendo una quantità maggiore di anticorpi.

Il declino anticorpale è una caratteristica fisiologica della risposta dopo infezione o vaccinazione. La più importante protezione dalla reinfezione è rappresentata dall'azione sinergica delle cellule B di memoria (MBC, *Memory B cells*) e delle plasmacellule di memoria. Gli anticorpi specifici presenti nel siero sono continuamente secreti dalle plasmacellule della memoria e affrontano il patogeno al suo primo ingresso. Allo stesso tempo, le MBC migrano in risposta alle chemochine

verso i tessuti infiammati e rafforzano la protezione secernendo localmente anticorpi. Se gli anticorpi prodotti dalle MBC e dalle plasmacellule hanno un'elevata affinità per l'agente patogeno, questo viene immediatamente eliminato.

### **Bibliografia essenziale**

- Netea MG, Domínguez-Andrés J, Barreiro LB, et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2020; 20: 375–388.
- Granucci F. Editorial: A year in review: discussion in molecular innate immunity *Front Immunol*. 2023;14:1255050.
- Geckin B, Konstantin Föhse F, Domínguez-Andrés J, Netea MG. Trained immunity: implications for vaccination. *Curr Opin Immunol*. 2022;77:102190.
- Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2018; 14 (Suppl 2): 4
- Son YM, Sun J. Co-Ordination of Mucosal B Cell and CD8 T Cell Memory by Tissue-Resident CD4 Helper T Cells. *Cells*. 2021; 10: 2355.
- Wieczorek M, Abugroun ET, Sticht J, et al. Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Front Immunol*. 2017; 17:8:292.
- Cassioli C, Baldari CT. The Expanding Arsenal of Cytotoxic T Cells. *Front Immunol*. 2022;13:883010.
- West EE, Kemper C. Complosome-the intracellular complement system. *Nature Reviews Nephrology*. 2023; 19: 426–439.
- Basdeo SA, Cluxton D, Sulaimani J, et al. Ex-Th17 (Nonclassical Th1) Cells Are Functionally Distinct from Classical Th1 and Th17 Cells and Are Not Constrained by Regulatory T Cells. *J Immunol*. 2017; 198: 2249-2259.
- Krovi SH, Gapin L. Invariant Natural Killer T Cell Subsets-More Than Just Developmental Intermediates. *Front Immunol*. 2018; 9:139.
- Pierce S, Geanes ES, Bradley T. Targeting Natural Killer Cells for Improved Immunity and Control of the Adaptive Immune Response. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 231.
- Wu Z, Zheng Y, Sheng J, et al. CD3+CD4-CD8- (Double-Negative) T Cells in Inflammation, Immune Disorders and Cancer. *Front Immunol*. 2022; 13:816005
- Kabelitz D. Gamma Delta T Cells (γδ T Cells) in Health and Disease: In Memory of Professor Wendy Havran. *Cells*. 2020; 9: 2564.
- Sanz I, Wei C, SA Jenks, et al. Challenges and Opportunities for Consistent Classification of Human B Cell and Plasma Cell Populations. *Front Immunol*. 2019; 10:2458.
- Sebina I, Pepper M. Humoral immune responses to infection: common mechanisms and unique strategies to combat pathogen immune evasion tactics. *Curr Opin Immunol*. 2018; 51:46-54.
- Inoue T, Kurosaki T. Memory B cells. *Nat Rev Immunol*. 2023 Jul 3.



## 2. LA CLASSIFICAZIONE ESEMPLIFICATA DELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

**Marzia Duse**

Anche se la prima segnalazione di deficit dell'immunità risale al 1939, con la descrizione della sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS), solo nel 1952 le scoperte di Ogden Bruton consentivano di comprenderne i meccanismi fisiopatologici: viene infatti identificato per la prima volta un caso di agammaglobulinemia X-recessiva e Bruton ebbe anche il grande merito di sperimentare con successo le prime, pionieristiche forme di terapia sostitutiva con immunoglobuline per via intramuscolare. Si deve, però, arrivare al 1971 – poco più di 50 anni fa - per ritrovare una prima Classificazione delle Immunodeficienze: contemplava non più di una ventina di malattie e, parenteticamente, alcune di queste oggi non esistono più, essendo confluite in altre categorie o semplicemente avendo scoperto che la loro patogenesi era diversa da quella inizialmente ipotizzata.

Nei decenni a seguire, ci siamo trovati ad affrontare una classificazione delle immunodeficienze sempre più complessa e allargata a nuove malattie genetiche a basi molecolari note ed è allo stesso tempo crollato il nostro vecchio “credo” – un gene, una malattia - perché è risultato evidente che la stessa malattia può avere caratterizzazioni genetiche differenti e che la stessa mutazione genica può dare quadri clinici differenti: un puzzle difficile da costruire e interpretare. Proprio a questo proposito, Amos Etzioni ebbe a dire in un editoriale che sbagliavano profondamente coloro che profetizzavano l'inizio della fine della immunologia a seguito dei progressi della genetica e della identificazione di un sempre maggior numero di geni difettivi. Semmai la crescita delle conoscenze genetiche ha segnato proprio il contrario, ovvero la fine dell'inizio (che era incerto e pieno di false ipotesi) aprendo di fatto una nuova era per la immunologia clinica.

Con questo rapido evolversi delle conoscenze è diventata “stretta” anche la terminologia.

È divenuto sempre più evidente che le immunodeficienze non sono solo deficit, ma sono alterazioni della regolazione, alterazioni della trascrizione, alterazioni del funzionamento di geni coinvolti nei processi di immunità innata e adattativa capaci di dare sintomi e quadri clinici sindromici assai più complessi

delle già complesse infezioni, con o senza tumori, con o senza autoimmunità. Per questi motivi si è preferito sostituire il termine di immunodeficienze con quello di “errori congeniti dell’immunità” (*Inborn Errors of Immunity* - IEI), che è ormai entrato nell’uso corrente. Tuttavia, a questo cambiamento nominale non ha fatto riscontro una semplificazione diagnostica o clinica delle malattie, che anzi sono aumentate nella complessità, ulteriormente gravata dal fatto che rimangono singolarmente rare o rarissime, seppur cumulativamente numerose, rendendo virtualmente impossibile al pediatra di averne esperienza e di orientarsi con facilità verso un sospetto diagnostico preciso.

Per i motivi prima esposti, ormai da qualche anno, è stata istituita una commissione ad hoc che si occupa della sistematizzazione della classificazione degli IEI. Tale commissione è formata da esperti immunologi appartenenti alla *International Union of Immunological Societies* (IUIS) che raggruppa tutte le società nazionali e internazionali di immunologia del mondo. In verità da IUIS vengono promosse due tipologie di relazioni utili ai Medici che si interessano di malattie immunologiche: una che relaziona sugli aggiornamenti in ambito genotipico e si occupa della classificazione degli errori congeniti dell’immunità sulla base dei difetti genetici noti e l’altra, di maggior interesse pratico, che relaziona sul fenotipo clinico/immunologico delle malattie e cerca di orientare nella individuazione della malattia a seconda delle caratteristiche cliniche (sintomi, gravità, etc.) o immunologiche di base (immunoglobuline, presenza o assenza di B o di T linfociti, etc.) del paziente. Sono state quindi definite alcune tabelle che, oltre a riportare la classificazione, hanno anche la valenza di algoritmo diagnostico: pur apparentemente complesse, sono un utile supporto all’iter diagnostico specialistico e sono state addirittura proposte in una versione scaricabile sullo smartphone.

La classificazione degli IEI prevede la differenziazione in 10 classici raggruppamenti:

- 1. immunodeficienze combinate con alterazioni sia della immunità umorale sia cellulare.** Spesso basta un emocromo per avviare il sospetto. La lista era lunghissima nelle precedenti edizioni, ma nell’ultimo aggiornamento dell’IUIS è stata riassunta in 3 tabelle, con diversi algoritmi a seconda della presenza/assenza di B e T linfociti e cellule NK;
- 2. immunodeficienze combinate con sintomi associati o nel contesto di sindromi ben caratterizzate.** Il primo sospetto dovrebbe essere clinico.



Nella versione attuale l'algoritmo si dipana in 3 tabelle a seconda del deficit/organo/apparato interessati (vitamina B12, piastrine, cute, osso, ecc.);

- **3. difetti prevalentemente anticorpali.** La clinica è caratterizzata da infezioni causate prevalentemente – ma non solo - da patogeni extracellulari. Il sospetto può essere facilmente confermato dal dosaggio delle immunoglobuline. L'algoritmo guida attraverso differenti assetti delle immunoglobuline condensati in 2 tabelle;
- **4. malattie da immuno-disregolazione.** Anche questo è un gruppo molto eterogeneo di malattie; la vecchia e lunga lista è stata sostituita da due snelle tabelle che raggruppano le malattie in alterazioni della risposta all'EBV e malattie con autoimmunità;
- **5. difetti dei fagociti.** La attenta lettura dell'emocromo consente di identificare solo i difetti numerici dei PMN. L'algoritmo orienta tra differenti malattie da difetti numerici o da difetti funzionali e, all'interno di ciascun gruppo, a seconda dell'associazione o meno con sindromi ben descritte. Tutto in 2 tabelle;
- **6. difetti dell'immunità intrinseca o innata.** Casanova ipotizzò di rivoluzionare la classificazione delle immunodeficienze della immunità innata, a partire dalla eziologia delle infezioni dei pazienti con immunodeficienza primitiva, espressione della loro alterata risposta immune nei confronti solo di alcuni selezionati patogeni. E questa idea viene qui ripresa appieno e sintetizzata in 2 tabelle che diversificano il percorso a seconda del patogeno in causa (HPV, micobatteri, parassiti, funghi, altri virus, ecc.);
- **7. malattie autoinfiammatorie:** anche questo gruppo di malattie viene categorizzato in 2 tabelle che però sono più complesse in relazione alla complessità del gruppo. La differenziazione avviene su criteri ora clinici (infiammazioni ricorrenti, sistemiche, localizzate sterili), ora patogenetici (interferonopatie) oppure accumulate in una miscellanea;
- **8. difetti del complemento.** Una sola tabella per differenziare i possibili difetti che riguardano ogni fattore o gruppo di fattori della cascata del complemento o dei fattori di regolazione. L'unico criterio differenziale adottato è clinico e basato sulla gravità delle infezioni;
- **9. difetti del midollo osseo.** Contemplano malattie ematologiche (anemia di Fanconi, displasia midollare, ecc.) raggruppate in una sola tabella;

---

**10. fenocopie PID.** Anche queste occupano una sola tabella e vengono differenziate su base patogenetica e biologica per la presenza di autoanticorpi e per la presenza di mutazioni somatiche.

---

Nulla è semplice, bisogna sapersi orientare, ma gli strumenti ora disponibili rendono certamente meno ostico il percorso diagnostico.

Al pediatra rimane l'onere del sospetto.

#### **Bibliografia essenziale**

- Bousfha A, Moundir A, Tangye SG et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2022;42:1508-20.
- Jeddane L, Ouair H, Benhsaien I, El Bakkouri J, Bousfha AA. Primary immunodeficiency classification on smartphone. *J Clin Immunol* 2017;37(1):1-2.



## 3. SCREENING NEONATALE

*Silvia Ricci, Clementina Canessa, Chiara Azzari*

### **Quando e perché eseguire lo screening neonatale?**

Le raccomandazioni per l'inclusione efficace e sostenibile di talune malattie nei programmi di screening sono state delineate dal 1968 da Wilson e Jungner, e una serie di criteri più recenti è stata pubblicata dall'*Advisory Committee on Heritable Diseases in Newborns and Children* degli Stati Uniti. In estrema sintesi, un programma di screening neonatale nasce al fine di identificare in una fase pre-sintomatica i neonati affetti da una patologia grave, per i quali sia disponibile una cura efficace che ne riduca la morbilità e mortalità. Tali criteri sono rispettati dalla maggior parte dei difetti congeniti dell'immunità (*Inborn Errors of Immunity*, IEI). Un neonato che nasce con un difetto congenito dell'immunità è apparentemente un bambino sano, non sono presenti quasi mai segni o sintomi suggestivi di malattia, tuttavia, presenta già una maggiore suscettibilità per malattie infettive invasive, manifestazioni infiammatorie, autoimmuni o proliferative potenzialmente fatali o causative di sequele permanenti inficianti la qualità di vita. Il primo progetto pilota di screening neonatale per IEI è stato condotto nel 2008 in Wisconsin per identificare le SCID (*Severe Combined ImmunoDeficiency*), rari e severi disordini monogenici a carico della componente cellulare e umorale (combinata). I pazienti affetti hanno un elevato rischio di esito fatale nel primo anno di vita. Il *gold standard* di trattamento per le SCID è il trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (TCSE) o, per alcuni particolari difetti monogenici (es. ADA-SCID, difetto di adenosin deaminasi), la terapia genica. Relativamente a queste terapie, definite risolutive, esistono studi significativi in letteratura che hanno dimostrato che il trattamento precoce del paziente con SCID modifica in modo favorevole il decorso altrimenti fatale. È recente la pubblicazione di uno studio condotto su 902 bambini affetti da SCID che fornisce per la prima volta in *real-life* la dimostrazione definitiva del successo dello screening per SCID, con una migliore sopravvivenza a 5 anni in bambini trapiantati entro 3,5 mesi di vita e liberi da infezione al momento del trapianto, grazie all'utilizzo della strategia di screening neonatale, rispetto a bambini diagnosticati clinicamente in fase sintomatica (92,5% vs 73%).

## Come?

Per applicare un programma di screening neonatale è fondamentale disporre di una metodica accurata in termini di sensibilità e specificità, ma anche non invasiva ed economica. Ad oggi, lo screening neonatale per IEI si basa su due validate metodiche su goccia di sangue raccolta a 48-72 ore di vita su carta bibula (carta di *Guthrie*) come per gli altri programmi di screening neonatali. La prima metodica è quella molecolare (*Real time* PCR) in cui vengono amplificati e identificati piccoli frammenti circolari di DNA che si formano durante il processo di differenziazione del recettore delle cellule T (TREC) e delle cellule B (KREC). Quando la maturazione delle cellule T o B non avviene normalmente l'espressione di TREC o KREC risulterà ridotta o assente. Tramite il dosaggio di TREC e KREC è pertanto possibile identificare la maggior parte di SCID, CID e di forme di agammaglobulinemia anche nel contesto di forme sindromiche. In un futuro prossimo molto probabilmente sarà diffusamente utilizzato un kit per biologia molecolare che permetterà simultaneamente il dosaggio di TREC/KREC e l'identificazione di soggetti con SMA (*Spinal Muscular Atrophy*), riducendo ulteriormente i costi di esecuzione e pertanto, auspicabilmente, la diffusione del test.

La seconda metodica validata, si basa sull'uso della tandem *mass spectrometry* (MS) che permette di identificare specificatamente due forme di SCID: difetto di adenosin deaminasi (ADA-SCID) e difetto di purina-nucleoside-fosforilasi (PNP-SCID) caratterizzate dall'accumulo rispettivamente di adenosina/desossadenosina e di guanosina, inosina e dei loro deossi-derivati. Dato che è utilizzata la stessa procedura di MS con cui oggi si effettua lo screening neonatale esteso per gli errori congeniti del metabolismo, il costo della metodica è estremamente basso (inferiore a 0.05 €/test). Il difetto di ADA rappresenta una delle forme più frequenti di SCID (10-25%) e beneficia di strategie terapeutiche mirate che possono essere subito messe in atto come la terapia sostitutiva enzimatica e, risolutive, come la terapia genica. Inoltre, si possono avere forme ADA SCID ad esordio più tardivo, progressivo (*delayed e late onset*) che sono identificate solo grazie alla MS. Oggigiorno, alcuni progetti pilota stanno valutando strategie di screening neonatale basate su analisi genetiche estese (NGS, pannelli di geni, esomica o genomica). Tale approccio potrebbe essere l'ideale per l'identificazione di neonati affetti da IEI, e non solo da SCID, che potrebbero essere più facile utilizzando una piattaforma che consente l'analisi simultanea di centinaia di singole mutazioni e relativi difetti dell'immunità. Tuttavia, l'utilizzo di queste metodiche potrebbe essere reso complesso dalla





interpretazione dei dati (VUS, *Variant of Uncertain Significance*), ma anche da problematiche economiche, etiche e legali che dovranno essere risolte prima di adottare questo tipo di approccio.

### **Richiamo da screening: che succede? Considerazioni pratiche**

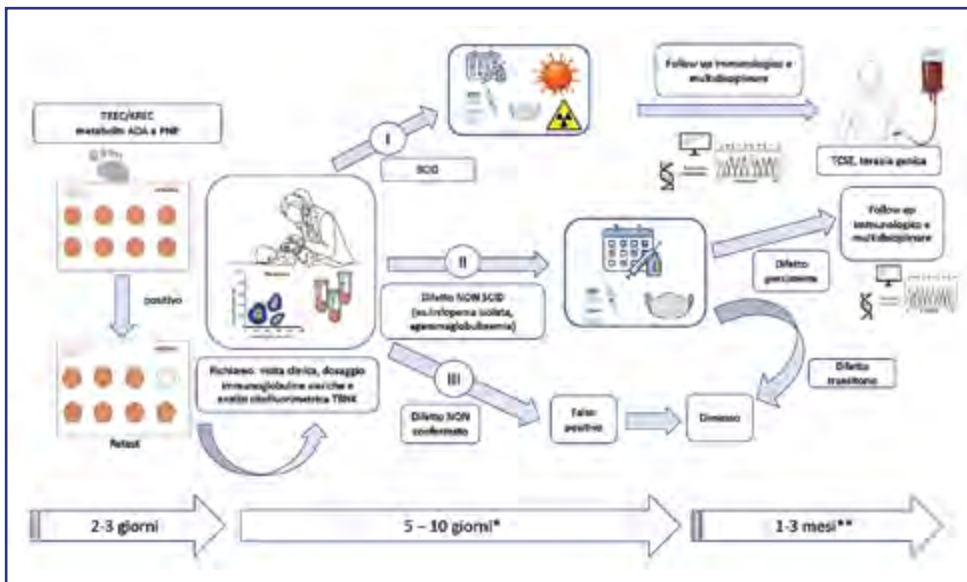
Nella Figura 1 è schematizzato il percorso di esecuzione e di gestione del richiamo per lo screening per IEI.

Non esistono, ad oggi, linee guida univoche sulla gestione del richiamo da screening per IEI. Idealmente in caso di alterata espressione di TREC o KREC o metaboliti ADA/ PNP, il test sarà ripetuto, se confermato anomalo il neonato verrà valutato clinicamente entro 24 ore (in caso di assenza di TREC e/o KREC). Insieme alla visita clinica, in corso di ripetizione del test viene anche eseguito prelievo venoso con dosaggio delle immunoglobuline sieriche e l'analisi citofluorimetrica delle cellule T, B, NK, cellule T naïve/memory. Se l'analisi citofluorimetrica conferma il difetto il soggetto verrà considerato vero positivo. Se viene sospettata una SCID solitamente viene proposto di eseguire un breve ricovero in regime di isolamento per impostare le cure di prevenzione e supporto, fino all'avvio del percorso di terapia risolutiva (TCSE, terapia genica) (Figura 1). Esistono inoltre casi con difetti immunologici transitori, sono tipici ad esempio dei soggetti nati pretermine o in caso di terapia immunosoppressiva assunta durante la gravidanza, ma anche casi definiti idiopatici. Anche in questi casi una presa in carico immunologica fino alla normalizzazione del quadro può essere necessaria perché, anche se solo per un periodo di tempo definito, possono beneficiare di prevenzione e cure di supporto.

### **Considerazioni finali**

Dopo circa 15 anni dai primi studi pilota di screening neonatale per immunodeficienza, l'offerta a livello nazionale e internazionale appare purtroppo ancora fortemente disomogenea. Non esiste ad oggi consensus sul migliore dei programmi di screening per IEI e la scelta dipende dalle risorse economiche investibili in materia di screening, ma è indubbio che la diagnosi precoce per SCID in epoca presintomatica ci permette di abbattere i tassi di mortalità e di morbilità per questi pazienti. Tuttavia, non solo le forme SCID, ma molte altre forme di IEI una volta diagnosticate possono beneficiare di atti di cura precoci – preventivi, di supporto, o target therapy – che possono migliorare la prognosi e la qualità di

vita di questi soggetti. Nel prossimo futuro nuovi programmi di screening estesi potranno essere utilizzati per rivoluzionare la storia naturale di questo tipo di difetti, a partire proprio dalla loro incidenza che ad oggi arriva ad essere stimata anche trenta volte superiore (ca 1:10.000) rispetto a quella riportata nei libri qualche decennio fa.



**Figura 1.** Rappresentazione schematica della strategia di screening neonatale per difetti congeniti dell'immunità.

Se il test per TREC (T-cell receptor excision circles) e/o KREC (Kappa-deleting recombination excision circles) e/o dosaggio metaboliti ADA e PNP risulta alterato viene ripetuto sulla stessa Guthrie Card, se confermato anomalo, la famiglia viene contattata dal medico che programma un appuntamento il prima possibile.

(\*) Se TREC e/o KREC sono assenti solitamente si programma valutazione entro 24 ore. Durante la visita clinica viene eseguito esame obiettivo completo (particolare attenzione per dismorfismi, microcefalia, organomegalia, assenza di tonsille), esami ematochimici. A questo punto, semplificando, sono possibili tre possibili scenari: (I) Sospetto SCID: il bambino solitamente viene ricoverato in regime di isolamento vengono eseguiti esami di approfondimento (es.test di proliferazione linfocitaria), analisi genetica NGS nel tempo più breve possibile, viene offerto supporto psicologico, verrà iniziata prevenzione anti microbica, impostato programma di vaccinazione personalizzato (es. controindicazione assoluta per vaccini vivi attenuati, tra cui anti-rotavirus, raccomandazione profilassi anti-VRS), attuazione di misure di minimizzazione di esposizione a radiazioni ionizzanti (es. per i difetti di riparazione del DNA), potrà essere impostata una terapia sostitutiva con immunoglobuline, prevenzione per CMV (es. trasfusione di emazie lavate, irradiate, allattamento al seno consentito solo previa pastorizzazione) e infine verrà avviato quanto prima il percorso terapeutico più adeguato, con attivazione del percorso per terapia risolutiva TCSE, o terapia genica che sarà eseguito entro il 3 mese di vita. (II) Sospetto difetto NON SCID: si imposta prevenzione e terapie di supporto se necessario, si monitora generalmente per 1-3 mesi ma la normalizzazione del difetto



*può avvenire anche oltre il 6° mese di vita. (\*\*) Se il difetto è transitorio il paziente viene dimesso altrimenti continua follow-up immunologico e multidisciplinare con avvio delle analisi genetiche di approfondimento. (III) Il richiamo NON è confermato dalle analisi ematochimiche gold standard e pertanto viene considerato falso positivo e subito dimesso.*

### **Bibliografia essenziale**

- Wilson J, Jungner G. The Principles and Practice of Screening for Disease; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1968.
- Children UACoHDiNa; Administration HRaS. Committee Approach to Evaluating the Condition Review Report (DecisionMatrix). 2022. <https://www.hrsa.gov/advisory-committees/heritable-disorders/decision-matrix>.
- Pai SY, Logan BR, Griffith LM, et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. *N Engl J Med*. 2014 Jul 31;371(5):434-46.
- Thakar MS, Logan BR, Puck JM, et al. Measuring the effect of newborn screening on survival after haematopoietic cell transplantation for severe combined immunodeficiency: a 36-year longitudinal study from the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. *Lancet*. 2023 Jun 20;S0140-6736(23)00731-6.
- Azzari C, la Marca G, Resti M. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency caused by an adenosine deaminase defect: a reliable and inexpensive method using tandem mass spectrometry. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jun;127(6):1394-9.
- la Marca G, Canessa C, Gicaliere E, et al. Tandem mass spectrometry, but not T-cell receptor excision circle analysis, identifies newborns with late-onset adenosine deaminase deficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Jun;131(6):1604-10.
- King JR, Grill K, Hammarström L. Genomic-Based Newborn Screening for Inborn Errors of Immunity: Practical and Ethical Considerations. *Int J Neonatal Screen*. 2023 Apr 11;9(2):22.
- King JR, Notarangelo LD, Hammarström L. An appraisal of the Wilson & Jungner criteria in the context of genomic-based newborn screening for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2021 Feb;147(2):428-438.
- Lodi L, Ricci S, Romano F, Ghiori F, Canessa C, Lippi F, Bianchi L, Azzari C. Newborn screening for PIDs using both TREC and KREC identifies late occurrence of B cells. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017 Aug;28(5):498-500.
- Mongkonsritragoon W, Huang J, Fredrickson M, Seth D, Poowuttikul P. Positive Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency: What Should the Pediatrician Do? *Clin Med Insights Pediatr*. 2023 Mar 31;17:11795565231162839.

## 4. IL SOSPETTO CLINICO: VECCHI E NUOVI CAMPANELLI DI ALLARME

### 4.1 OLTRE I 10 WARNING SIGNS

**Lucia Leonardi, Michele Fiore, Giovanni Simeone, Maria Carmen Verga**

La diagnosi precoce dei Difetti Congeniti dell'Immunità (*Inborn Errors of Immunity*, IEI) continua a rappresentare una grande sfida per il pediatra. Il **ritardo di diagnosi** (cioè, la differenza temporale tra la comparsa dei sintomi e la definizione di una diagnosi) è, tuttora, di diversi anni anche per gli IEI più comuni e con fenotipo "convenzionale". Di conseguenza, è ancora significativo l'impatto sulla qualità di vita, la morbilità e la mortalità di questi pazienti. È indubbio come il riconoscimento precoce di un IEI, unico strumento per evitare complicanze o compromissione della prognosi, sia una delle sfide più importanti sia per il pediatra immunologo che per il pediatra generalista, perché consente di intervenire con terapie mirate (vedi capitolo 11) e, laddove necessario, di programmare un adeguato counselling genetico (vedi appendice A2)

Nell'ultima decade, la maggiore accessibilità alle tecnologie *Next Generation Sequencing* (NGS, sequenziamento genetico di nuova generazione) e il miglioramento nella interpretazione dei dati genomici, hanno determinato un aumento esponenziale del numero di difetti dell'immunità caratterizzati molecolarmente (oggi circa 500), suggerendo la necessità di sostituire la definizione di immunodeficienza primitiva (IDP o con acronimo inglese, PID, *Primary ImmunoDeficiency*) con quella di difetto congenito dell'immunità (*Inborn Errors of Immunity*, IEI).

La mole di informazioni ottenute da questi dati ha permesso non solo di comprendere in modo sempre più preciso le funzioni del sistema immunitario, ma ha anche chiarito che i disordini del sistema immunitario non possano essere considerati rari, nel loro insieme. Infatti, sebbene l'incidenza per molte categorie di IEI risulti essere bassa (es. 1:250.000 nati vivi per la malattia granulomatoso cronica, 1:75.000 - 1:100.000 nati vivi per le Immunodeficienze Combinate Severe, SCID) di converso, nel loro complesso, per gli IEI è stata riportata una prevalenza complessiva che può arrivare a 1:1200 nati vivi. Questo significa che



ogni pediatra di libera scelta potenzialmente potrebbe avere un caso di IEI fra i suoi pazienti. Alcuni IEI, peraltro, sono tutt'altro che rari; esempi sono il Difetto selettivo assoluto di IgA (vedi capitolo 5.2) e il difetto di *Mannose Binding Lectin* (vedi capitolo 7.2).

I dati e le conoscenze relativi a questo “universo in espansione” sono, inoltre, destinati a crescere in modo direttamente proporzionale al numero di difetti genetici per i quali verrà riconosciuto un ruolo causale nella patogenesi di difetti quantitativi o qualitativi del sistema immunitario.

Al contempo, oggi, è chiaro come la determinazione del fenotipo clinico di un IEI può essere dovuto a un coinvolgimento multigenico; così come, al contrario, una stessa mutazione genica può dare quadri clinici molto differenti con predominante suscettibilità a infezioni o, di converso, a un predominante quadro caratterizzato da immuno-disregolazione. Diverse mutazioni a carico dello stesso gene possono, ad esempio, causare sia una perdita che un guadagno di funzione della relativa proteina.

Infine, abbiamo compreso come le funzioni immunologiche non sono prerogativa solo delle cellule emopoietiche e dei tessuti linfoidei ma anche di altri tipi cellulari. Appare quindi ancora più evidente che la significativa eterogeneità clinica di queste condizioni ha necessitato un notevole cambio di paradigma nell'approccio diagnostico e terapeutico di questi difetti.

A tal proposito, il primo tentativo virtuoso di sistematizzare il riconoscimento precoce di un IEI, fatto nel 1993 dalla Jeffrey Modell Foundation (JMF), una organizzazione americana no-profit, con la collaborazione di una Consensus di esperti, si concretizzò nei cosiddetti 10 segnali di allarme (“*10 Warning Signs*”) riportati nella Figura 1.

## **Segnali di allarme nella diagnosi degli IEI nei bambini e nei giovani adulti: cosa è cambiato**

La recente e sempre più dettagliata caratterizzazione fenotipica degli IEI ha oggi evidenziato che i segnali di allarme della JMF non sono ottimali ai fini diagnostici (un terzo dei pazienti affetto da IEI non soddisfa alcun criterio dell'elenco dei dieci campanelli di allarme). Infatti, i 10 *warning signs* degli JMF, non tengono conto della maggior parte dei sintomi non infettivi degli IEI, dovuti a immunodisregolazione. Oggi sappiamo che gli IEI hanno un ampio spettro di presentazioni cliniche, che prescindono dalla suscettibilità alle infezioni, in cui, per esempio, a una

deficitaria risposta al “*non self*” si associa elevata risposta al “*self*”. Nello specifico, i campanelli di allarme della JMF vanno integrati prendendo in considerazione segni e sintomi ascrivibili a condizioni autoimmuni, soprattutto quando sono ad esordio precoce o grave e refrattario alle terapie standard.

Linfoproliferazione benigna, neoplasie, quadri di allergia grave, quadro sindromico concomitante, autoinfiammazione sono altri aspetti, spesso predominanti nel fenotipo clinico, da considerare sempre nel sospetto di IEI; inoltre, si deve tenere presente che possono rappresentare la manifestazione clinica d'esordio oppure complicare il decorso di malattia.

L'elenco dei campanelli di allarme JMF modificato con segni aggiuntivi o l'utilizzo di altri score non ha migliorato la sensibilità diagnostica, la specificità, i Valori Predittivi Positivo e Negativo nella identificazione di pazienti con IEI. Tuttavia, è stato documentato che i *warning signs* “allargati” rappresentano uno strumento diagnostico più accurato rispetto ai 10 previsti dalla JMF.

**È necessario quindi che il pediatra, nella sua pratica quotidiana, sappia porre maggior attenzione al riconoscimento di sintomi che prescindono dalla (classica) suscettibilità a infezioni e che caratterizzano alcuni IEI.**

Per migliorare l'accuratezza, ai fini di una diagnosi precoce, i segni e sintomi sopracitati e considerati come “nuovi” campanelli di allarme devono essere specificatamente ricercati attraverso l'anamnesi e l'esame obiettivo.

Nei prossimi paragrafi di questo capitolo verranno singolarmente trattati questi aspetti.

Per quanto riguarda invece la suscettibilità alle infezioni, un altro aspetto emerso negli ultimi anni è che, accanto a forme convenzionali (diagnosticabili con indagini immunologiche “standard”), esistono IEI caratterizzati da alterata risposta immunitaria con suscettibilità selettiva ad infezioni dovute a un limitato gruppo di patogeni o persino ad un solo patogeno, anche non opportunista. Questi IEI sfuggono alla diagnostica standard e la diagnostica molecolare di conferma necessita di Centri altamente specializzati (vedi capitolo 7.3).

# 10 CAMPANELLI DI ALLARME

delle Immunodeficienze Primitive



Figura 1. Campanelli di allarme JMF

## Vecchio paradigma

**Rare**

Infezioni multiple

Suscettibilità a più agenti infettivi

Agenti infettivi opportunisti  
(es. Pneumocystis)

Espressione in linee emopoietiche

Malattie monogeniche

Assenza di anticorpi verso self e non self

## Nuovo paradigma

**Comuni**

Infezioni singole

Suscettibilità a singoli agenti infettivi

Agenti infettivi comuni  
(es. Herpes simplex)

Espressione in tessuti non emopoietici

Effetto multigenico per la determinazione del fenotipo

Non risposta al non self, elevata risposta al self

Immunodeficienza

Immuno-disregolazione

Figura 2. Vecchi e nuovi paradigmi nella diagnosi di IEI (Modificata da: Costagliola et al, 2022).

**Bibliografia essenziale**

- Arkwright PD, Gennery AR. Ten warning signs of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann NY Acad Sci.* 2011 Nov;1238:7-14.
- O'Sullivan MD, Cant AJ. The 10 warning signs: a time for a change? *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012 Dec;12(6):588-94.
- Dąbrowska A, Grzešk E, Urbańczyk A, et al. Extended List of Warning Signs in Qualification to Diagnosis and Treatment of Inborn Errors of Immunity in Children and Young Adults. *Clin Med.* 2023 May 11;12(10):3401.
- Bjelac JA, Yonkof JR, Fernandez J. Differing Performance of the Warning Signs for Immunodeficiency in the Diagnosis of Pediatric Versus Adult Patients in a Two-Center Tertiary Referral Population. *J Clin Immunol.* 2019 Jan;39(1):90-98
- O'Keefe, et al. Halbrich M et al. Primary Immunodeficiency for the primary care provider. *Paediatr Child Health* 2016;21:2.
- Notarangelo LD, Bacchetta R, Casanova JL, Su HC. Human inborn errors of immunity: An expanding universe. *Sci Immunol.* 2020 Jul 10;5(49):eabb1662.
- Costagliola G, Peroni DG, Consolini R. Beyond Infections: New Warning Signs for Inborn Errors of Immunity in Children. *Front Pediatr.* 2022 Jun 10;10:855445.





## 4.2 ATOPIA

*Iride Dello Iacono, Riccardo Castagnoli, Daniele Giovanni Ghiglioni, Michele Miraglia del Giudice*

Recenti evidenze suggeriscono che anche i comuni sintomi allergici possono rappresentare l'espressione di una sottostante immunodeficienza e/o disregolazione immunitaria. Il riconoscimento di un IEI nell'ambito di un fenotipo allergico è, pertanto, fondamentale per assicurare una diagnosi appropriata ed un trattamento terapeutico volto a modulare, quando possibile, il meccanismo fisiopatologico sottostante e trattare il paziente attraverso terapie mirate. Infatti, la gestione clinica e gli esiti attesi sono profondamente diversi da quelli riportati per le tipiche condizioni allergiche.

Il sistema immunitario, basandosi su una complessa interazione tra attivazione e regolazione, svolge un ruolo fondamentale nella protezione dell'ospite dalle infezioni patogene, discriminando tra antigeni self e non-self. In questo contesto, la patologia allergica, definita come reazione di ipersensibilità immunomediata, rappresenta una risposta esagerata o non programmata del sistema immunitario contro specifici antigeni "non-self" chiamati allergeni. Le più comuni manifestazioni allergiche includono l'eczema, la rinite allergica, l'asma e l'allergia alimentare. Comuni esami di laboratorio volti a investigare le malattie allergiche, spesso dimostrano un aumento delle IgE ed eosinofilia. Le IgE e gli eosinofili svolgono un ruolo fondamentale nella patogenesi delle malattie atopiche, ma anche nella difesa immunitaria contro le comuni infezioni da parassiti.

Alcuni IEI possono esordire con sintomi allergici, i quali, in certi casi, dominano interamente la presentazione clinica, determinando facilmente un erroneo inquadramento diagnostico di generica allergopatia. In particolare, in alcuni IEI si riscontra classicamente la presenza della triade: i) aumento delle IgE, ii) eosinofilia, iii) eczema; risultando variabilmente associati ad altre comorbidità o potendo manifestarsi nel contesto di quadri sindromici. In alcuni casi di IEI, invece, l'unico o il principale sintomo è rappresentato dalle manifestazioni allergiche

Milner et al. hanno proposto l'espressione "**Disordini Atopici Primari**", **Primary Atopic Disorders, (PAD)**, per definire questo gruppo di disordini monogenici con predominante fenotipo infiammatorio/allergico.

Nell'ambito degli IEI con fenotipo allergico, sulla base della manifestazione clinica prevalente e dei dati di laboratorio, i principali disordini possono essere classificati in sei differenti fenotipi:

1. Sindromi da Iper-IgE (*Hyper-IgE Syndromes*, HIES);
2. Sindrome di Omenn (OS);
3. Sindrome di Wiskott Aldrich (*Wiskott Aldrich Syndrome*, WAS) e le sindromi simil-WAS;
4. Sindrome legata all'X da immunodisregolazione-poliendocrinopatia-enteropatia (*Immune dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked*, IPEX) e le Sindromi simil-IPEX;
5. CBM-patie da mutazioni di geni appartenenti al CBM *complex* (*Caspase Recruitment Domain*, CARD) proteins-B-Cell CLL/Lymphoma 10 (BCL10)-MALT1 paracaspase (MALT1);
6. Miscellanea di altri IEI che si presentano con manifestazioni allergiche.

I pazienti affetti da IEI con fenotipi atopici si presentano solitamente con peculiari manifestazioni cliniche associate a quadri laboratoristici che necessitano di una attenta analisi volta a identificare la malattia di base. Inoltre, è fondamentale valutare la presenza o l'assenza di una storia familiare positiva per immunodeficienze primarie e/o consanguineità, nonché l'esistenza di fattori pre- e perinatali che possano aver influenzato lo sviluppo precoce del sistema immunitario, inclusa un'infezione materna durante la gravidanza.

La Tabella 1 e la Tabella 2 riassumono, rispettivamente, le caratteristiche comuni di IEI con fenotipo atopico e i campanelli d'allarme che i medici dovrebbero considerare nel work-up diagnostico.

**Tabella 1. Caratteristiche comuni nelle PAD (modificata da WAO Journal 2021).**

- Malattia atopica ad esordio precoce, solitamente alla nascita o nei primi mesi di vita
- Malattia atopica grave, solitamente non responsiva alla terapia standard (es. eczema grave e recalcitrante)
- Alti livelli di biomarcatori Th2 (es. aumento delle IgE sieriche totali, eosinofilia)
- Presenza di altri membri della famiglia affetti (pattern di ereditarietà, compresa la storia familiare per immunodeficienze primarie e/o diatesi atopica grave familiare), storia familiare di consanguineità
- Segni clinici associati<sup>a</sup>
- Anomalie immunologiche associate<sup>a</sup>
- Efficacia delle terapie mirate

<sup>a</sup> vedi Tabella 2



**Tabella 2. Campanelli d'allarme per il sospetto di PAD (modificata da WAO Journal 2021).**

- IgE sieriche totali >2000 kU/L, specialmente nei primi 3 mesi di vita
- Eritroderma neonatale
- Ictiosi congenita
- Dermatite atopica + IgE sieriche totali >2.000 kU/l + infezioni cutanee e polmonari ricorrenti ± anomalie scheletriche ± ritardo dello sviluppo neurologico
- Diatesi atopica + Infezioni gravi/ricorrenti (specialmente da patogeni opportunisti e da Herpes virus compresi CMV, EBV, HHV-6)
- Dermatite atopica + autoimmunità ± infezioni ricorrenti
- Diatesi atopica + linfopenia
- Diatesi atopica + citopenia (neutropenia/trombocitopenia/anemia)
- Dermatite atopica + diarrea + endocrinopatia ± calo di peso
- Dermatite atopica + diarrea + sanguinamento ± calo di peso
- Malattia eosinofila gastrointestinale + grave eosinofilia (>1.500 cell/mm <sup>3</sup> ) ± diatesi atopica

La Figura 3 presenta una proposta di algoritmo diagnostico per l'identificazione di PAD.

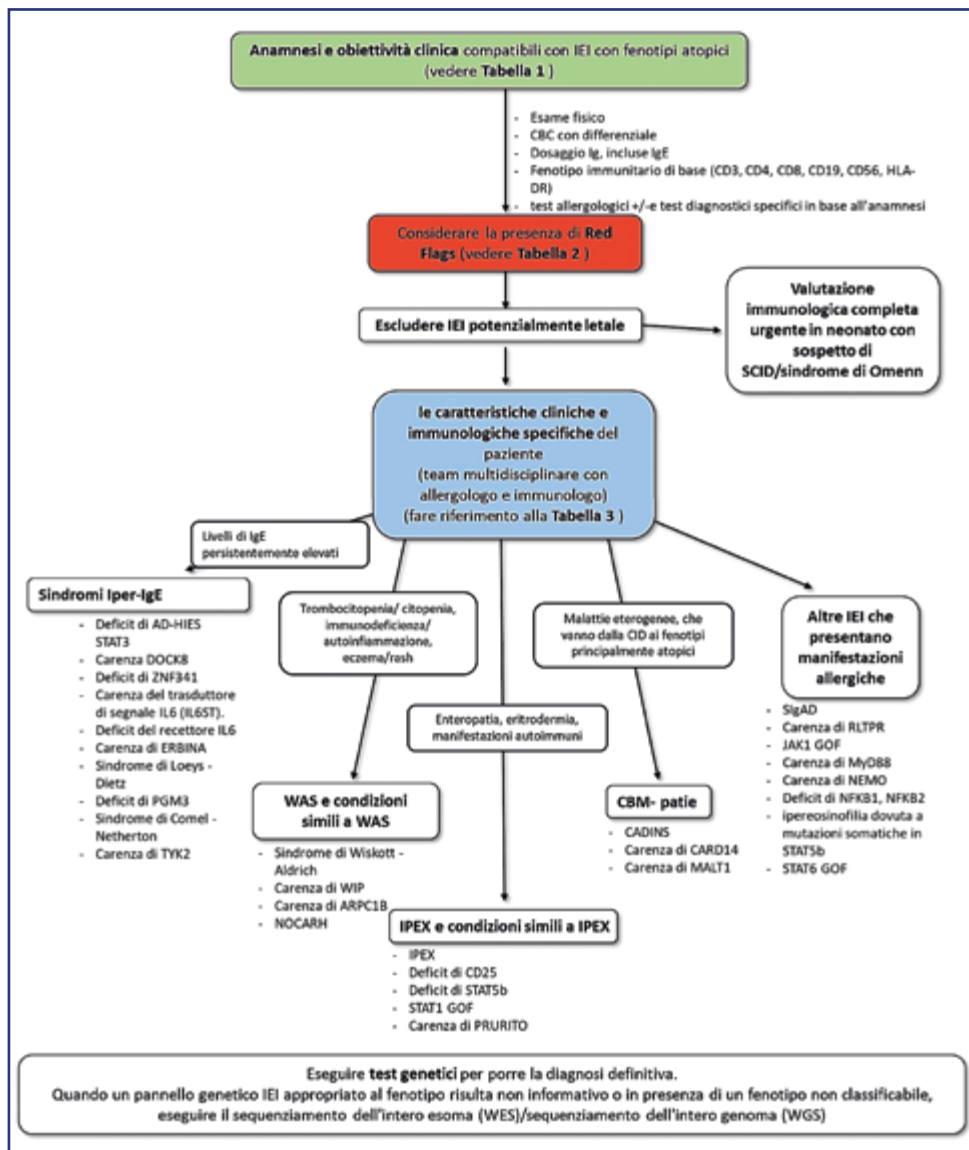


Figura 3. Algoritmo diagnostico (modificato da WAO Journal 2021).



## Focus sulle sindromi da Iper-IgE (*Hyper-IgE syndromes, HIES*)

Numerosi disordini monogenici del sistema immunitario si associano a un aumento delle IgE sieriche.

La prima HIES descritta (chiamata inizialmente sindrome di Job (*Job syndrome*) fu rinominata Sindrome Autosomica Dominante da Iper-IgE (*Autosomal Dominant Hyper-IgE Syndrome, AD-HIES*) quando, nel 2007, in questi pazienti vennero identificate mutazioni dominanti negative nel gene *STAT3* (*Signal Transducer and Activation of Transcription 3*) come causa di malattia. La presentazione clinica della *STAT3-HIES* è caratterizzata da eczema severo e accessi cutanei freddi, ovvero privi di segnali flogistici (*tumor, rubor, calor, dolor e functio laesa*), polmoniti ricorrenti con formazione di bronchiectasie e pneumatoceci, anomalie dello scheletro assiale e del connettivo con fragilità ossea, scoliosi e ritenzione dei denti decidui. Altre manifestazioni riportate in letteratura includono una aumentata incidenza di linfomi (Hodgkin e non-Hodgkin), aneurismi e difetti vascolari delle arterie di medio calibro, in particolare cardiache, reflusso gastroesofageo ed esofagite eosinofila. I *National Institutes of Health* (NIH, Bethesda, USA) hanno validato un sistema per supportare i clinici nel riconoscimento della AD-HIES, il quale associa a una breve lista di segni e sintomi caratteristici della *STAT3-HIES* ad un punteggio da 1 a 10. È interessante notare che, nonostante i livelli delle restanti immunoglobuline siano solitamente normali, la risposta anticorpale specifica contro i patogeni può essere ridotta e spesso i prick test e le IgE specifiche risultano negativi e le manifestazioni allergiche sono rare o assenti. A differenza della dermatite atopica, le manifestazioni cutanee nella AD-HIES compaiono molto precocemente, spesso già dalla nascita o comunque entro i primi tre mesi di vita e sono caratterizzate da un ispessimento peculiare della cute del volto, associato a fissurazioni retroauricolari e quadri gravi di follicolite nelle zone ascellari e inguinali, uniti alla possibile presenza di candidiasi mucocutanea cronica (*Chronic Mucocutaneous Candidiasis, CMC*). Sotto il profilo terapeutico il ruolo del trapianto di midollo allogenico in questi pazienti è ancora di utilità controversa. Il cardine della terapia in molti pazienti è rappresentato dalla profilassi antistafilococcica e antifungina volta a ridurre il rischio di infezioni polmonari e cutanee, che si possono sovrapporre al rash eczematoso.

Successivamente alla scoperta ed alla descrizione della AD-HIES, sono state riportate altre condizioni patologiche che interferiscono con la medesima via biologica di trasmissione del segnale (*STAT3*). Tra queste:

1. mutazioni ipomorfiche e autosomiche dominanti della glicoproteina 130 (gp130) codificata dal gene Interleukin 6 Signal Transducer (*IL6ST*) che fa parte dei recettori per IL-6, IL-11, IL-27;

**II.** mutazioni bialleliche del gene Zinc Finger 341 (ZNF341);

**III.** un fattore di trascrizione che regola l'attività di STAT3;

**IV.** mutazioni bialleliche del recettore dell'Interleuchina

Il fenotipo clinico di queste entità patologiche presenta diversi aspetti in comune con AD-HIES e include anomalie del tessuto connettivo e scheletrico, dismorfismi faciali, scoliosi, ipermobilità delle articolazioni e ritenzione dei denti decidui. Infezioni virali e allergia grave non rappresentano una componente predominante delle malattie dell'asse *STAT3/gp130/ZNF341/IL6R*.

Anche l'immunodeficienza autosomica recessiva combinata da deficit di *DOCK8* (*Dedicator of Cytokines 8 protein*) appartiene al capitolo delle HIES. Questo IEI è di fatto una immunodeficienza combinata con diverse manifestazioni cliniche in comune con STAT3-HIES, tra cui la presenza di eczema, malformazioni vascolari, in questo caso con interessamento prevalentemente cerebrale, elevati livelli di IgE, infezioni polmonari ed eosinofilia. Le due patologie differiscono per la presenza, nell'immunodeficienza combinata da deficit di *DOCK8*, di una aumentata suscettibilità alle infezioni virali cutanee tra cui il Papilloma Virus umano (HPV) causa di manifestazioni gravi e spesso molto diffuse, il mollusco contagioso (Poxvirus) ed l'*Herpes Virus Simplex* (HSV) disseminato, di una maggiore incidenza di manifestazioni allergiche (dermatite atopica, allergie alimentari, asma, esofagite eosinoflica) e di un aumentato rischio di tumori secondari alle infezioni virali (carcinoma a cellule squamose associato ad HPV) o di linfoma a cellule T rapidamente progressivo. In questa patologia, non si riscontrano disordini del tessuto connettivo e scheletrico, né pneumatoceli e bronchiectasie. L'unica opzione terapeutica e definitivamente curativa è rappresentata dal trapianto di midollo osseo, del tutto mandatorio in una patologia rapidamente progressiva e a prognosi spesso infausta.

*STAT3* è anche coinvolto in altre vie di segnale, tra cui quelle implicate nella regolazione del *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) e fortemente dipendente dall'integrità del gene *ERBB2IP*, codificante la proteina ERBB2-interacting (*ERBIN*). La perdita di funzione (*Loss Of Function*, LOF) e difetto in *ERBIN* determinano una patologia con elevate IgE, infezioni respiratorie ricorrenti, esofagite eosinoflica, ipermobilità delle articolazioni e anomalie vascolari. Questi pazienti non mostrano difetti nelle cellule T e B di memoria, diversamente dai pazienti AD-HIES, e non presentano suscettibilità a infezioni fungine. La stessa via molecolare è coinvolta nella sindrome di Loey-Dietz (legata a mutazioni autosomiche dominanti nel recettore del TGF- $\beta$ ) che si presenta con una sindrome simil-Marfan, con aneurismi



dell'aorta toracica associata a manifestazione allergiche come eczema, allergia alimentare, asma, rinite allergica ed eosinofilia gastrointestinale.

Della famiglia delle HIES fa anche parte il deficit di fosfoglucomutasi 3 (*PGM3*), un disordine della glicosilazione con una fisiopatologia non ancora ben definita, associato a livelli ematochimici molto elevati di IgE, atopia grave, infezioni virali gravi soprattutto respiratorie, autoimmunità e manifestazioni sindromiche, come displasia dello scheletro e ritardo dello sviluppo neurologico dovuti ad alterata mielinizzazione con difetto motorio e intellettivo.

Infine, anche i pazienti con difetti nel gene tirosina chinasi 2 (*TYK2*), precedentemente inseriti nel gruppo delle HIES, si caratterizzano per una aumentata suscettibilità ad alcuni patogeni (micobatteri e HSV) e sono solo variabilmente associati a fenotipi da HIES ed elevazione delle IgE nel siero.

### **Bibliografia essenziale**

- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human inborn errors of immunity: 2019 update on the classification from the international union of immunological societies expert committee [published correction appears in J clin immunol. 2020 feb 22;]. J Clin Immunol. 2020;40(1):24–64.
- Delmonte OM, Castagnoli R, Calzoni E, Notarangelo LD. Inborn errors of immunity with immune dysregulation: from bench to bedside. Front Pediatr. 2019 Aug 27;7:353.
- Castagnoli R, Licari A, Manti S, Chiappini E, Marseglia GL. Type-2 inflammatory mediators as targets for precision medicine in children. Pediatr Allergy Immunol. 2020 Nov;31;26:17–19.
- Notarangelo LD, Bacchetta R, Casanova JL, Su HC. Human inborn errors of immunity: an expanding universe. Sci Immunol. 2020;5(49).
- Sokol K, Milner JD. The overlap between allergy and immunodeficiency. Curr Opin Pediatr. 2018;30(6):848–854.
- Milner JD. Primary atopic disorders. Annu Rev Immunol. 2020;38:785–808.
- Lyons JJ, Milner JD. The clinical and mechanistic intersection of primary atopic disorders and inborn errors of growth and metabolism. Immunol Rev. 2019;287(1):135–144.
- Castagnoli R., Lougaris V, Giardino G. et al. On behalf of the Immunology Task Force of the Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology (SIAIP). Inborn errors of immunity with atopic phenotypes: A practical guide for allergists. World Allergy Organization Journal 2021; 14:100513.
- Calzoni E, Castagnoli R, Giardino G, et al. I Disordini Atopici Primari: come riconoscerli e come intervenire. RIAP numero 02 2022 I-XVI.
- Freeman A, Holland S. The hyper-IgE syndromes. Immunol Allergy Clin North Am. 2008;28:277-291.

### 4.3 AUTOIMMUNITÀ: CITOPENIE AUTOIMMUNI, ENDOCRINOPATIE, INFLAMMATORY BOWEL DISEASES EARLY ONSET

**Alessia Scarselli, Davide Montin, Andrea Campana**

La disfunzione del sistema immunitario negli IEI si traduce non solo in un'augmentata suscettibilità alle infezioni ma anche in immuno-disregolazione, ovvero predisposizione a sviluppare autoimmunità, autoinfiammazione e linfoprolifera-zione. **Si definisce autoimmunità** la perdita della tolleranza al self da parte del sistema immunitario adattativo; tale processo conduce spesso alla produ-zione di auto-anticorpi. **Si definisce invece auto-infiammazione** la perdita dei sistemi di controllo da parte del sistema immunitario innato, con conseguente eccessiva produzione di citochine infiammatorie (in particolar modo IL-1). **La linfoprolifera-zione** può essere conseguente sia a fenomeni autoimmuni che autoinfiammatori, può essere contestuale alla formazione di granulomi, e talvol-ta può essere associata a sviluppo di neoplasie linfoidi.

L'immuno-disregolazione può essere la prima (e talvolta unica) manifestazione di un IEI. L'identificazione di un IEI in pazienti con manifestazioni eterogenee può essere ardua e molti specialisti potrebbero non prendere in considerazione una valutazione immunitaria nel work-up diagnostico iniziale di tali pazienti. Una o più manifestazioni autoimmuni o autoinfiammatorie possono essere riscontrate nel 26,2% dei pazienti affetti da IEI, con un rischio di insorgenza omogeneo du-rante tutta la vita. Il rischio di citopenia autoimmune è almeno 120 volte più alto rispetto alla popolazione generale, il rischio di malattie infiammatorie intestinale è 80 volte più alto, e il rischio di altre manifestazioni autoimmuni è approssima-tivamente 10 volte più alto. Sorprendentemente, tutti i tipi di IEI sono associati a un rischio di complicazioni autoimmuni (Tabella 3) e autoinfiammatorie, seb-bene il rischio maggiore sia associato alle immunodeficienze cellulari e all'im-munodeficienza comune variabile (*Common Variable Immunodeficiency, CVID*). L'insorgenza di manifestazioni autoimmuni rappresenta un fattore prognostico negativo per la sopravvivenza.

Alcuni IEI sono noti da tempo per essere associati a immuno-disregolazione. Ad esempio, la sindrome IPEX (*Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropa-thy, X-Linked*) è una rara malattia genetica causata da mutazione del gene *Foxp3*, che causa un deficit numerico o funzionale dei linfociti T regolatori (Tregs), cellule





**Tabella 3.** Immunodeficienze primitive con associata immunodisregolazione

<b>Immunodeficienza primitiva</b>	<b>Altri segni caratteristici</b>	<b>Caratteristiche dell'immunodeficienza</b>	<b>Possibili manifestazioni di autoimmunità e/o disregolazione immunitaria</b>
Deficit selettivo di IgA	Asintomatico/Allergie/ potrebbe precedere CVID	Infezioni batteriche sinu-polmonari ricorrenti	Endocrinopatie; citopenia
Sindrome da delezione di 22q11 (DiGeorge)	Anomalie cardiache; dismorfismi facciali; ipoplasia timica; palatoschisi; ipoparatiroidismo; deficit cognitivo e del linguaggio	Variabili; infezioni opportunistiche	Citopenia; endocrinopatie; artriti
Sindrome di Wiskott Aldrich (WAS)	Microtrombocitopenia; eczema	Infezioni ricorrenti	Cute (eczema, dermatite atopica); citopenia; vasculiti; problematiche renali (nefriti, nefropatia da IgA, glomerulonefriti); artriti; MICI
Immunodeficienza comune variabile (CVID) e CVID-like diseases inclusi i difetti di NFKB1 and NFKB2	Ipogammaglobulinemia	Infezioni ricorrenti	Citopenia; endocrinopatie; MICI; granulomi; artriti; patologie del parenchima polmonare; disordini linfoproliferativi; linfoma; alopecia
Immunodeficienze combinate (CID)*	Dipende dal sottotipo	Severità variabile	Citopenia; endocrinopatie; MICI; Cute (eczema, rash, altri); disordini linfoproliferativi; patologie del parenchima polmonare; linfoma
Sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS)	Aumento delle cellule CD4-CD8- DNT presentanti TCR $\alpha/\beta$ . Elevate Ig sieriche, IL10 e Vit B12	Linfoproiferaazione benigna/maligna	Citopenia; endocrinopatie; problematiche renali (glomerulonefriti); disordini linfoproliferativi; linfoma

<b>Immunodeficienza primitiva</b>	<b>Altri segni caratteristici</b>	<b>Caratteristiche dell'immunodeficienza</b>	<b>Possibili manifestazioni di autoimmunità e/o disregolazione immunitaria</b>
Agammaglobulinemia <i>X-linked</i> (XLA)	Agammaglobulinemia	Infezioni batteriche	Citopenia; endocrinopatie; cute (eczema, rash, vitiligine, alopecia, ulcere orali, candidiasi mucocutanea); MICI
Malattia granulomato-sa cronica (CGD)	Può mimare la malattia di Crohn o disordini linfoproliferativi; HLH	Infezioni batteriche ( <i>Staphylococcus</i> spp.), fungine	Granulomi; MICI; disordini linfoproliferativi
Difetti del complemento		Infezioni da capsulati, infezioni da neisseria, autoimmunità	LES; vasculiti, artriti
Poliendocrinopatia autoimmune tipo 1 (o Sindrome APECED)	Distrofia dell'ectoderma; positività ad anticorpi anti 21-idrossilasi e anti-omega	Candidiasi	Endocrinopatie; cute (eczema, rash, vitiligine, alopecia, ulcere orali, candidiasi mucocutanea)
XLP1 ( <i>linked lymphoproliferative disorder</i> , deficit di SH2D1A)	Disordini linfoproliferativi; ipo- o agammaglobulinemia; HLH; linfoma	Infezioni da EBV possono essere un trigger	Disordini linfoproliferativi; emofagocitosi; linfoma; citopenia
Aploinsufficienza CTLA4	Progressiva perdita di cellule B; ipogammaglobulinemia	Infezioni delle alte e base vie respiratorie	MICI; granulomi; polmoniti; citopenia; LES; endocrinopatie; artriti; problematiche neurologiche (encefaliti, cerebelliti, linfoma del SNC); disordini linfoproliferativi; infiltrazione d'organo; tumori maligni
Sindrome da PI3K-d attivato	linfadenopatia; bronchiectasie; CVID-like	Infezioni del tratto respiratorio; infezioni croniche da EBV e CMV	Polmoniti; citopenia; linfoproliferazione



Immunodeficienza primitiva	Altri segni caratteristici	Caratteristiche dell'immunodeficienza	Possibili manifestazioni di autoimmunità e/o disregolazione immunitaria
Deficit di LRBA ( <i>lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor</i> )	Enteropatia; sindrome da overlap ALPS/CVID	Infezioni batteriche e opportunistiche	MICI; citopenia; artrite; miastenia gravis; problematiche neurologiche (encefalopatie, cerebelliti, linfoma del SNC), disordini linfoproliferativi
Sindrome IPEX ( <i>immune dysregulation, polyendocrinopathy, and enteropathy, X-linked</i> ) and IPEX-like	Enteropatie <i>early-onset</i> ; DM tipo 1	Combinata; severità variabile	MICI; endocrinopatie; citopenia; cute (eczema, rash, vitiligine); epatite autoimmune
Deficit di CD27	Ipogammaglobulinemia; linfoma	L'infezione da EBV potrebbe essere un trigger	Disordini linfoproliferativi; emofagocitosi; linfoma; citopenia
Mutazione di CMC/ STAT1 gain of function	Candidiasi cronica mucocutanea (CMC)	Infezioni fungine, batteriche, micobatteriche, erpetiche	Endocrinopatie; polmoniti; citopenia
Mutazione di STAT3 gain of function	Esordio precoce; IPEX-like		MICI; endocrinopatie; citopenia; polmoniti; epatite autoimmune; disordini linfoproliferativi

CVID: common variable immunodeficiency; CID: combined immunodeficiency; SLE: systemic lupus erythematosus; HLH: hemophagocytic lymphohistiocytosis; CMC: chronic mucocutaneous candidiasis

del sistema immunitario adattativo specificamente deputate al mantenimento della tolleranza immunologica. La sindrome IPEX è caratterizzata da una grave enteropatia ad esordio neonatale e da endocrinopatie multiple (tipicamente diabete mellito di tipo 1), a cui si possono associare dermatite, citopenie, artrite, vasculiti, linfadenopatie, alopecia, nefropatia, vasculite. La sindrome APECED (*Autoimmune Polyendocrinopathy, Candidiasis, Ectodermal Dystrophy*) è associata a mutazioni del gene che codifica per il fattore di trascrizione AIRE, coinvolto nei meccanismi di tolleranza immunologica centrale e indispensabile per il corretto funzionamento dei processi di selezione negativa dei linfociti T autoreattivi nel timo. La sindro-

me APECED si manifesta con endocrinopatie autoimmuni multiple (tipicamente ipoparatiroidismo, insufficienza corticosurrenalica, diabete mellito di tipo 1); altre manifestazioni cliniche sono la candidiasi mucocutanea, la distrofia ungueale e altri tipi di autoimmunità d'organo e sistemica. L'ALPS (*Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome*) è una sindrome causata da difetti genetici dell'apoptosi cellulare mediata dalla via di segnalazione di Fas, che causano linfoproliferazione per accumulo di linfociti attivati. L'ALPS è tipicamente associata a citopenie autoimmuni, in particolare piastrinopenia e anemia emolitica.

Negli ultimi anni, il numero di IEI a causa genetica nota è aumentato in modo esponenziale soprattutto grazie ai nuovi metodi di indagine genetica (*Next Generation Sequencing*, NGS). Molti di questi IEI, come già detto, sono caratterizzate da immunodisregolazione. I meccanismi patogenetici degli IEI spesso influiscono sull'equilibrio tra Treg e Th17, facilitando l'insorgenza di un ambiente proinfiammatorio e aumentando le probabilità di sviluppo di autoimmunità. Inoltre, la suscettibilità ad infezioni croniche e ricorrenti, attraverso meccanismi di mimetismo molecolare e di presentazione di superantigeni, influenza in modo significativo lo sviluppo dell'autoimmunità.

Un esempio paradigmatico è rappresentato dai geni RAG1-2 (*Recombination-Activating Genes*). Mutazioni di tali geni, che ne aboliscono la funzione, sono associate a un fenotipo SCID classico; invece, mutazioni ipomorfiche (che ne riducono solo parzialmente l'attività) sono associati a molteplici fenotipi caratterizzati da autoimmunità e infiammazione, tra cui il più severo è la sindrome di Omenn, malattia infiammatoria ad esordio neonatale che si manifesta con eritrodermia, alopecia, diarrea cronica, linfoproliferazione, eosinofilia.

Nel corso degli anni sono stati scoperti numerosi geni le cui mutazioni (sia *loss of function* che *gain of function*) si associano a un fenotipo IPEX-like: CD25, STAT1, STAT3, IL10, IL10R.

Una ampia varietà di sintomi autoimmuni è stata descritta nel deficit di CTLA4 (*cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4*), inclusi citopenia autoimmune (33%), pneumopatia (21%), enteropatia (17%), diabete mellito di tipo 1 (8%), tiroidite autoimmune (5%); solo il 61% dei pazienti aveva una storia significativa di infezioni. Analoghe caratteristiche cliniche presenta il deficit di LRBA (*lipopolysaccharide LPS-responsive and beige-like anchor protein*): nel 42% dei pazienti la prima manifestazione clinica è stata una manifestazione autoimmune; la prevalenza globale dell'autoimmunità è del 77%, per lo più citopenie, diabete mellito di tipo 1, tiroidite e IBD.



Manifestazioni autoimmuni multiple, episodi ricorrenti o refrattari di citopenia autoimmune (in particolare se bilineare, coinvolgente cioè piastrine e globuli rossi), linfadenopatie o splenomegalia croniche dovranno quindi far sempre emergere il sospetto di IEI. In tali casi l'analisi dell'immunofenotipo linfocitario può indirizzare la diagnosi: ad esempio l'espansione dei linfociti T TCR alfa/beta+CD4-CD8- (linfociti T doppi negativi) nell'ALPS, l'aumento dei linfociti B CD21low nella CVID, la riduzione dei linfociti T regolatori (Treg) nell'IPEX o dei linfociti Th17 nei pazienti con STAT1 GoF, l'espansione dei linfociti T helper follicolari (Tfh) nel deficit di CTLA4 e LRBA. In alcune forme di IEI con autoimmunità sono stati identificati vari tipi di autoanticorpi, di significato clinico ancora incerto ma che possono fungere da biomarker di malattia come gli anti-interferone di tipo I (alfa, beta e omega) nei pazienti con difetto parziale di RAG o in quelli con APECED.

Molti pazienti affetti da autoimmunità associata a PID ricevono una terapia immunosoppressiva prima di una completa valutazione immunologica, rendendo difficile una seguente possibile diagnosi di immunodeficienza. Al contrario, l'identificazione della PID sottostante alle manifestazioni di immunodisregolazione potrebbe essere determinata per avviare un trattamento adeguato. Uno studio su 203 pazienti pediatriche con sindrome di Evans (associazione tra piastrinopenia e anemia emolitica autoimmuni) ha identificato una variante patogenetica sottostante nel 40% dei pazienti sottoposti a test (TNFRSF6, CTLA4, STAT3, PIK3CD, ADAR1, LRBA, RAG). L'identificazione di difetti genetici specifici può condurre all'utilizzo di terapie adeguate al singolo difetto (o gruppo di difetti) che condividono simili meccanismi fisiopatologici: ad esempio l'utilizzo degli inibitori di JAK nelle forme STAT1 GoF; degli anti TNF-alfa nel deficit di ADA2; degli inibitori di mTor (sirolimus) nell'ALPS e ALPS-like.

In conclusione, negli anni la definizione di immunodeficienza primitiva è cambiata grazie alla disponibilità di test genetici e di fenotipizzazione immunitaria avanzati ed è sempre più chiaro come immunodeficienza ed autoimmunità siano due facce della stessa medaglia in un sistema immunitario malfunzionante: i difetti monogenici ci hanno infatti aiutato a capire molti meccanismi immunologici e di autoimmunità. Un approccio multidisciplinare tra pediatra di libera scelta, ematologo, reumatologo, neurologo, immunologo è necessario per una diagnosi tempestiva per ottimizzare l'approccio diagnostico e terapeutico per questi pazienti complessi.

## Meccanismi immunologici associati ad autoimmunità in pazienti con PID

Nel timo il gene AIRE è coinvolto nella presentazione dell'antigene self; il deficit di AIRE impedisce la selezione negativa delle cellule T autoreattive. Questo meccanismo porta al rilascio in circolo di linfociti T reattivi che successivamente si differenziano nei sottotipi Th1, Th2 e Th17, i quali producono citochine proinfiammatorie come IL-6, IL-17 e TNF- $\alpha$ , mentre i livelli di citochine regolatrici come IL-4 e IL-5 sono solitamente ridotti. Anche le mutazioni dei geni RAG 1 e 2 sono associate ad una incompleta selezione negativa delle cellule B e T autoreattive. Gli individui affetti da IEI manifestano un'ampia infezioni. Si possono avere quattro scenari di manifestazioni autoimmuni: 1) agenti infettivi possono avere caratteristiche simili al proteoma umano portando a fenomeni di cross-reattività, 2) le infezioni causano danno cellulare ed espongono "antigeni nascosti" i quali infine verranno presentati dai macrofagi alle cellule T autoreattive, 3) infezioni frequenti e ricorrenti inducono una eccessiva produzione di citochine come IL-23, la quale stimola la differenziazione in sottotipi di cellule T autoreattive (es. Th17), e 4) i superantigeni prodotti dagli agenti infettivi possono indurre l'attivazione dei T autoreattivi. D'altro canto, le cellule T regolatorie possono presentare diversi difetti che inficiano la tolleranza periferica. Altre mutazioni in CTLA4/LRBA inficiano la funzione inibitrice dei Treg. Mutazioni di BTK sono associate a un'aumentata sopravvivenza delle cellule B autoreattive, le quali producono un elevato numero di autoanticorpi. In ultimo alcuni soggetti con deficit del complemento potrebbero mostrare un difetto della clearance di immuno-complessi, i quali potrebbero portare a fenomeni di autoimmuni.

*Tratto da Amaya-Uribe L et al., 2019.*

*AIRE: autoimmune regulator; APRIL: A proliferation-inducing ligand; BAFF: B cell activating factor; BCR: B-cell receptor; BTK: Bruton's tyrosine kinase; CTLA4: cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4; FOXP3: forkhead box P3; LRBA: lipopolysaccharide responsive beige-like anchor; NADPH: nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; PIDs: primary immunodeficiencies; RAG: re[1]combination activating gene; ROS: reactive oxygen species; STAT: signal transducers and activators of transcription TCR: T-cell receptor.*



## Bibliografia essenziale

- Amaya-Urbe L, Rojas M, Azizi G, et al. Primary immunodeficiency and autoimmunity: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2019 May;99:52-72.
- Ballow M, Sánchez-Ramón S, Walter JE. Secondary Immune Deficiency and Primary Immune Deficiency Crossovers: Hematological Malignancies and Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2022 Jul 18;13:928062.
- Chandrakasan S, Chandra S, Davila Saldana BJ, Torgerson TR, Buchbinder D. Primary immune regulatory disorders for the pediatric hematologist and oncologist: A case-based review. *Pediatr Blood Cancer.* 2019 May;66(5):e27619.
- Fischer A, Provot J, Jais JP, et al. Autoimmune and inflammatory manifestations occur frequently in patients with primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Nov;140(5):1388-1393.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2016.12.978. Epub 2017 Feb 10.
- Habibi S, Zaki-Dizaji M, Rafiemanesh H, et al. Clinical, Immunologic, and Molecular Spectrum of Patients with LPS-Responsive Beige-Like Anchor Protein Deficiency: A Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019 Sep-Oct;7(7):2379-2386.
- Hadjadj J, Aladjidi N, Fernandes H, et al. Pediatric Evans syndrome is associated with a high frequency of potentially damaging variants in immune genes. *Blood.* 2019 Jul 4;134(1):9-21.
- Notarangelo LD, Fleisher TA. Targeted strategies directed at the molecular defect: toward precision medicine for select primary immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139:715–723.
- Padron GT, Hernandez-Trujillo VP. Autoimmunity in Primary Immunodeficiencies (PID). *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023; Aug;65(1):1-18
- Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, et al. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects. *J Allergy Clin Immunol.* 2018 Dec;142(6):1932-1946.
- Walter JE, Ayala IA, Milojevic D. Autoimmunity as a continuum in primary immunodeficiency. *Curr Opin Pediatr.* 2019 Dec;31(6):851-862.
- Walter JE, Rosen LB, Csomos K, et al. Broad-spectrum antibodies against self-antigens and cytokines in RAG deficiency. *J Clin Invest.* 2015 Nov 2;125(11):4135-48.

## 4.4 LINFOPROLIFERAZIONE CLONALE, NON CLONALE, LINFONODALE, TISSUTALE, ACUTA, CRONICA, RECIDIVANTE, ASSOCIATA A VIRUS

*Francesca Conti, Mattia Moratti, Beatrice Rivalta, Giorgio Costagliola, Rita Consolini*

Abbiamo visto negli altri paragrafi come lo spettro delle manifestazioni cliniche associate a IEI sia considerevolmente ampliato, non limitandosi alla aumentata suscettibilità alle infezioni, ma comprendendo anche espressioni cliniche di immunodisregolazione, quali fenomeni allergici, infiammatori e/o autoimmuni, disordini linfoproliferativi (DLP) e/o neoplasie maligne. Queste manifestazioni possono rappresentare il sintomo d'esordio o prevalente oppure complicare il decorso di malattia. Esse sono frequentemente innescate o sostenute da infezioni, in particolare virali; Epstein-Barr (EBV) e Citomegalovirus (CMV) sono quelli più frequentemente coinvolti e possono manifestarsi in quasi tutte le categorie di IEI. Tali quadri necessitano spesso l'utilizzo di terapie immunomodulanti e/o immunosoppressive protratte (steroidi, micofenolato, sirolimus, rituximab sono i farmaci maggiormente utilizzati), che non sempre si mostrano efficaci, comportando prognosi grave e una conseguente ridotta qualità di vita dei pazienti. A questo è da aggiungere l'aumentato rischio di degenerazione maligna intrinseco al difetto immune e potenzialmente aggravato da tali trattamenti.

### Definizione

Nell'ambito degli IEI associati a disordini linfoproliferativi si possono distinguere due grandi categorie:

1. La linfoproliferazione non clonale (o benigna), definita dalla presenza di linfoadenopatia e/o coinvolgimento degli organi linfatici (splenomegalia) e/o infiltrazione linfocitaria tissutale persistente o recidivante (per esempio: malattia polmonare interstiziale granulomatosa linfocitica, iperplasia nodulare linfoide intestinale, ecc.)
2. La linfoproliferazione clonale (o maligna), definita dalla replicazione incontrollata di un clone cellulare originato dalla linea linfocitaria con capacità intrinseca di metastatizzare a distanza (leucemia e/o linfoma).

Entrambe le forme possono associarsi o meno a infezione da EBV.

L'infezione da EBV si può presentare come infezione cronica nel caso di viremia persistente/ricorrente di durata superiore a 3 mesi, infezione virale invasiva o replicazione virale non controllata nel caso di viremia superiore a 100.000 copie/ml. Si definisce





linfoproliferazione EB-relata nel caso di positività per i piccoli RNA codificati da EBV (EBER) all'analisi immunoistochimica in un numero rilevante di cellule su biopsia. Le principali caratteristiche cliniche, immunologiche e molecolari degli IEL più comunemente associati a DLP sono riportati in Tabella 4.

**Tabella 4.** Immunodeficienze primitive associate a linfoproliferazione: caratteristiche cliniche, immunologiche, molecolari e terapie

Immunodeficienza primitiva	Clinica	Assetto immunitario	Gene causativo (trasmissione)	Terapia
SINDROME DA IPER-IgM	Autoimmunità, infezioni da opportunisti (Cryptosporidium spp., P. carinii), linfoproliferazione (linfomi), neoplasie epato-biliari	↓ Neutrofili ↑ IgM ↓ IgG, ↓ IgA	CD40L (XL)	(TCSE)
AGAMMAGLOBULINEMIA DI BRUTON	Atrofia linfonodale/ tonsillare, autoimmunità (artriti, malattie infiammatorie intestinali), linfomi, neoplasie gastrointestinali, suscettibilità infettiva (sepsi da piogeni, infezioni respiratorie da capsulati, parassitosi gastrointestinali croniche, infezioni fungine croniche da P. carinii, meningoencefaliti da Enterovirus)	↓ Linfociti B (CD19+) (<2% linfociti totali) ↓ IgG/IgA/IgM o assenti Linfociti B (CD19+) assenti ↓ o assente risposta vaccinale umorale Isoemoagglutinine assenti	BTK (XL)	Infusione di immunoglobuline
SINDROME DI OMENN	Alopecia, diarrea cronica, epatosplenomegalia eritrodermia, suscettibilità infettiva, linfoproliferazione	↓ Linfociti B e plasmacellule	RAG1/2 Ipomorfiche (AR)	TCSE
SINDROME DI WISKOTT-ALDRICH (WAS)	Autoimmunità (citopenie, vasculiti, artriti, nefropatie), eczema, linfoproliferazione (linfomi non-Hodgkin extranodali EBV-relati) trombocitopenia con emorragie, suscettibilità infettiva (capsulati, HSV, HPV, P. carinii)	↓ Linfociti CD8+ progressiva ↑ IgA, ↑ IgE ↓ a vaccini polisaccaridici	WAS (XL)	Terapia genica/TCSE

Immunodeficienza primitiva	Clinica	Assetto immunitario	Gene causativo (trasmissione)	Terapia
IMMUNODEFICIENZA COMUNE VARIABILE (CVID)	Autoimmunità, linfoproliferazione (iperplasia linfoide, granulomi, linfomi), suscettibilità infettiva	↓ Linfociti B <i>memory</i> e <i>memory switched</i> ↓ IgG, ↓ IgA ↓ Risposta vaccinale umorale Isoemoagglutinine assenti		Infusione di immunoglobuline
ATASSIA-TELEANGECTASIA	Atassia cerebellare (oscillazioni tronco, goffaggine, disartria, ipomimia, ipotonia), linfoproliferazione (linfomi), teleangectasie, suscettibilità infettiva (EBV)	↓ Linfociti CD4+ ↓ IgA, ↓ IgE, ↓ IgG2, ↓ IgG4 ↑ IgM ↓ Risposte a vaccini polisaccaridici	<i>ATM</i> (AR)	Infusione di immunoglobuline
SINDROME LINFOPROLIFERATIVA AUTOIMMUNE (ALPS)	Autoimmunità (citopenie), epatosplenomegalia, linfoproliferazione (linfomi)	↓ Neutrofili ↑ Linfociti e eosinofili ↑ Linfociti T doppi negativi (T αβ CD3+CD-CD8-) ↑ IgG/IgA/IgM ↑ Vitamina B12 e Interleuchina-10	<i>FAS, FASL, CASP10</i> (AD/AR)	Sirolimus
DISORDINI LEUCOPROLIFERATIVI ASSOCIATI A RAS (RALD) (ALPS-like)	Autoimmunità, linfoproliferazione, mielodisplasia	↑ Monociti Immunofenotipo ALPS-like	<i>nRAS-kRAS</i> (AD o somatica)	
DIFETTO DI LRBA E CTLA4 (ALPS-like/CVID-like)	Autoimmunità (citopenie, malattie infiammatorie intestinali), linfoproliferazione (sistema nervoso centrale e polmoni), neoplasie	↑ Linfociti T doppi negativi (T αβ CD3+CD-CD8-) ↓ Linfociti T regolatori (CD25+) ↓ Linfociti B progressiva ↓ IgG progressiva ↓ Risposta vaccinale umorale	<i>LRBA, CTLA4</i>	Abatacept/ (TCSE)



Immunodeficienza primitiva	Clinica	Assetto immunitario	Gene causativo (trasmissione)	Terapia
SINDROME DA ATTIVAZIONE PI3K-DELTA (APDS) (ALPS-like)	Autoimmunità (citopenie, artriti, malattie infiammatorie intestinali), linfoproliferazione, suscettibilità infettiva (apparato respiratorio, infezioni croniche da EBV e CMV)	↓ CD4+ e CD8+ naïve ↑ Linfociti CD8+ memory e late effector ↑ Linfociti B (CD19+) transitional e CD21low ↓ IgG progressiva ± ↑ IgM	<i>PI3KCD, PIK3R1</i>	Inibitori della PI3K-delta Sirolimus (TCSE)
SINDROME LINFOPROLIFERATIVA X-LINKED DI TIPO 1 E 2	Anemia aplastica, malattie infiammatorie intestinali, suscettibilità a EBV (linfocitiosi emofagocitica, linfomi, linfoproliferazione non-clonale, epatopatia fulminante), vasculiti del sistema nervoso centrale	↓ Linfociti NK (CD16+CD56+) e B (CD19+) <i>memory</i> ↓ IgG	<i>SAP/XIAP2</i>	TCSE
SINDROME XMEN	Anomalie vascolari neurologiche, citopenie immuni, suscettibilità infettiva a EBV (linfoproliferazione clonale e non) e a HPV (molluschi e verruche)	↓ Linfociti CD4+ ↑ Linfociti T doppi negativi (T αβ CD3+CD-CD8-) ↑ Linfociti B (CD19+) naïve ↓ IgG, ↓ IgA ↓ Risposte a vaccini polisaccaridici	<i>MAGT1</i>	(TCSE)

## Quando sospettare un'immunodeficienza primitiva

All'interno dell'ampio gruppo di pazienti che si presentano all'attenzione clinica per manifestazioni linfoproliferative, è fondamentale l'identificazione di elementi di sospetto per patologia immunologica sottostante. Tra questi:

- Anamnesi positiva per infezioni severe, ricorrenti o da germi atipici;
- Storia personale o familiare di suscettibilità a EBV, in termini di infezione cronica, malattia invasiva, viremia elevata (>100.000 copie/ml), linfoistiocitosi emofagocitica, linfomi/leucemie EBV-relate;
- Associazione con altre manifestazioni di immunodisregolazione quali:
  - Autoimmunità/infiammazione: citopenie immunomediate (massimo rischio in caso di anemia emolitica autoimmune) e altre patologie autoimmuni, quali endocrinopatie, manifestazioni reumatologiche (artrite, patologia renale) ed enteropatia;
  - Allergia: presenza concomitante di disregolazione immunologica cutanea, con eczema severo, psoriasi o vitiligine o diatesi allergica rilevante;
- Storia familiare positiva per patologia immunomediata (immunodeficienza, autoimmunità) o ematologica, comprendente citopenie autoimmuni o ricorrenza familiare di linfoproliferazione benigna o maligna;
- Sede o decorso atipico della linfoproliferazione (ad esempio, localizzazione polmonare o diffusa/recidivante).

## Il ruolo del pediatra

Il pediatra ricopre un ruolo chiave sia nella fase di diagnosi che nella gestione terapeutica e di follow-up dei pazienti con IEI e DLP. In particolare, attraverso:

- il riconoscimento precoce dei pazienti con DLP e sintomi suggestivi di IEI;
- modalità e tempi opportuni di richiesta di esami immunologici e strumentali di I livello;
- modalità e tempi opportuni di richiesta di consulenza immuno-ematologica specialistica, necessaria anche nel caso di fenotipo clinico suggestivo, in assenza di rilevanti alterazioni immunologiche;
- supporto nel *follow-up* del paziente: monitoraggio della malattia, con particolare riguardo alle terapie adottate e coordinamento delle indagini laboratori-

stiche/strumentali e delle valutazioni specialistiche ritenute necessarie;

- 】 coordinamento delle attività che richiedono l'assistenza dei servizi territoriali (es. farmacia territoriale, fisioterapia, infermiere domiciliare).

## Percorsi diagnostici e terapeutici

In presenza di un fenotipo clinico suggestivo (peculiarità della linfoproliferazione associata o meno a una storia infettiva o ad altri sintomi di immunodisregolazione) è necessario approfondire il quadro con indagini che possono essere effettuate anche sul territorio o in strutture ospedaliere non specialistiche.

È importante sottolineare che, pur essendo diffusamente disponibili, alcune di queste indagini richiedono specifiche competenze per la corretta interpretazione e che la diagnosi dovrà essere sempre confermata dal Centro specialistico di riferimento.

- 】 Emocromo con formula leucocitaria e conta piastrinica
- 】 Esame chimico-fisico delle urine
- 】 Tipizzazione linfocitaria *standard* a 5 antigeni (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+CD56+, CD19+)
- 】 IgG/IgA/IgM/IgE
- 】 Titoli vaccinali per Difterite, Tetano, Pertosse, Morbillo, Parotite, Rosolia
- 】 Anticorpi anti-nucleo ANA, C3 e C4
- 】 *Screening* celiachia *reflex* (anti-tTG IgA, con analisi automatica di anti-tTG-IgG, anti-DGP-IgG e anti-EMA-IgG in caso di riscontro di deficit di IgA totali)
- 】 Sierologia per CMV ed EBV con PCR quantitativa
- 】 LDH
- 】 Vitamina B12
- 】 Elettroforesi proteine sieriche
- 】 Ecografia delle stazioni linfonodali interessate
- 】 Ecografia addominale (se riscontro di epatosplenomegalia o in caso di disturbi gastrointestinali persistenti/ricorrenti)
- 】 Radiografia del torace (in caso di infezioni persistenti/ricorrenti a carico delle basse vie aeree)
- 】 Viremia (laddove è possibile effettuarla).

Successivamente, nel corso del follow-up, in considerazione dell'aumentato rischio di neoplasie ematologiche, occorre tenere presente la frequente necessità di ricorrere a esami laboratoristici mirati, di *imaging* e valutazioni specialistiche ricorrenti.

Infine, l'indagine genetica rappresenta un passaggio fondamentale nel percorso diagnostico dei pazienti con DLP associato a IEI, e l'approccio ragionato (analisi di singoli geni, pannelli genetici dedicati, analisi dell'esoma) dipenderà dal fenotipo clinico ed immunologico e dalla presenza o meno di elementi specifici per singola patologia.

L'identificazione diagnostica di IEI associata a linfoproliferazione è di fondamentale importanza per l'impostazione di una corretta terapia e di un follow-up mirato, in particolare sul rischio di sviluppare altre manifestazioni immunodisregolatorie o patologie neoplastiche. Difatti, se l'identificazione dei pazienti con difetti anticorpali permette l'impostazione di un'adeguata terapia sostitutiva, per alcune condizioni (sindrome linfoproliferativa autoimmune [ALPS], disordini delle cellule T regolatorie, Sindrome da attivazione PI3K-delta [APDS]) sono a oggi disponibili o in corso di studio farmaci con azione molecolare specifica, che presentano elevata efficacia clinica sia per quanto riguarda l'aspetto linfoproliferativo sia le manifestazioni autoimmuni associate.

Per chi vuole approfondire

- a)** Sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS): [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=IT&Expert=3261](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=IT&Expert=3261)
- b)** Sindrome da attivazione PI3K-delta (APDS): [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=IT&Expert=397596](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=IT&Expert=397596)

## Conclusioni

La linfoproliferazione, clonale e no, può configurarsi come manifestazione d'esordio o subentrante di un IEI. L'associazione di più manifestazioni di immunodisregolazione, in presenza o meno di suscettibilità infettiva, è suggestiva di un IEI sottostante. Il pediatra ricopre un ruolo fondamentale nel riconoscimento di segni e sintomi suggestivi di DLP e IDP e nella conseguente presa in carico precoce del paziente. Quest'ultimo ha bisogno di un Centro che sia in grado di fornire un team multidisciplinare con competenze immunologiche, ematologiche, anatomopatologiche e genetiche specialistiche, necessarie per un corretto inquadramento diagnostico e un appropriato management terapeutico, anche alla luce della disponibilità di nuove terapie mirate più efficaci e meglio tollerate.



## Bibliografia essenziale

- Forbes LR, Eckstein OS, Gulati N, et al. Genetic errors of immunity distinguish pediatric nonmalignant lymphoproliferative disorders. *J Allergy Clin Immunol.* 2022 Feb;149(2):758-766. doi: 10.1016/j.jaci.2021.07.015. Epub 2021 Jul 28.
- Rivalta B, Moratti M, Conti F. I disordini linfoproliferativi come espressione di immunodeficit primitivi: dalla diagnosi alla terapia mirata. *Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica* 2021;36(01):9-16.
- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol.* 2022 Oct;42(7):1473-1507.
- Bousfiha A, Moundir A, Tangye et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol.* 2022 Oct;42(7):1508-1520.
- Costagliola G, Consolini R. Lymphadenopathy at the crossroad between immunodeficiency and autoinflammation: An intriguing challenge. *Clin Exp Immunol.* 2021 Sep;205(3):288-305.
- Sharma S, Pilania RK, Anjani G, et al. Lymphoproliferation in Inborn Errors of Immunity: The Eye Does Not See What the Mind Does Not Know. *Front Immunol.* 2022 May 4;13:856601.

## 4.5 TUMORI

*Andrea Pession, Silverio Perrotta, Ottavia Maria Delmonte, Maria Carmen Verga*

Si stima che il rischio complessivo di sviluppare un tumore nei pazienti con IEI sia compreso tra il 4 e il 25%, che è circa due volte superiore a quello della popolazione generale.

Attualmente i tumori sono, dopo le infezioni, la seconda causa di morte nei pazienti con IEI.

Caratteristica delle neoplasie nei pazienti affetti da IEI è la maggiore gravità dovuta alla precocità dell'esordio e alla più rapida metastatizzazione che talora è presente già al momento della diagnosi. La prognosi è quindi peggiore rispetto alle popolazioni immunocompetenti, non affette da IEI.

Le neoplasie più comuni nei pazienti con IEI sono il linfoma non Hodgkin – NHL – (50%) e il linfoma di Hodgkin (10%), che insieme rappresentano circa il 60% dei casi di neoplasie nei pazienti con IEI.

A titolo esemplificativo il NHL nei pazienti con IEI tende ad essere di origine cellulare B, ha gradi istologici elevati, è associato a infezione da EBV e coinvolge i tessuti extralinfonodali, in particolare il tratto gastrointestinale e il sistema nervoso centrale, inoltre si associa più spesso a infezione da EBV.

Sia il NHL che il linfoma di Hodgkin vengono diagnosticati in età più giovane nei pazienti con IEI, mentre il NHL è più comune nei maschi. La prognosi per i pazienti con IEI e linfoma di Hodgkin non è buona come quella dei pazienti immunocompetenti.

Tra le altre neoplasie in pazienti con IEI figurano il carcinoma del timo, il carcinoma della tiroide, e quello o dello stomaco e apparato genitourinario. Al contrario, i tumori come il melanoma e il carcinoma a cellule renali, noti per i meccanismi di evasione per eludere e sopprimere il sistema immunitario, non sembrano essere prevalenti negli IEI.

**Gli IEI con la più alta incidenza di tumori** sono l'atassia-teleangectasia (AT) e l'immunodeficienza comune variabile, inoltre un terzo dei casi di neoplasia associata a IEI si riscontra, complessivamente, nella sindrome di Wiskott-Aldrich (Wiskott-Aldrich syndrome, WAS), nell'immunodeficienza combinata grave (*severe Combined Immunodeficiency*, SCID) e nel difetto selettivo isolato di IgA.

I **meccanismi patogenetici** che determinano aumentata suscettibilità ai tumo-





ri negli IEI non sono ben noti, anche se alcuni sono stati descritti per gruppi di pazienti e per tipo di tumore.

Questi includono *fattori intrinseci associati principalmente ai tumori ematologici* (p. es., difetti di riparazione del DNA e predisposizione genetica) e *fattori estrinseci associati principalmente ai carcinomi* (p. es., ridotta eliminazione dei virus oncogeni, infiammazione cronica dei tessuti e cause iatrogene). Questi fattori oncogeni potrebbero agire in sinergia o addirittura dipendere l'uno dall'altro.

Nelle AT, *Nijmegen Breakage Syndrome* (NBS), ma anche WAS ed epidermodisplasia verruciforme, il meccanismo coinvolto è il *difetto di riparazione del DNA* conseguente alla mutazione di geni specifici (es. ATM, NBS, EVER1 o EVER2,)

Una predisposizione genetica è descritta nei *difetti di geni soppressori dei tumori* (deficit di DOCK8 o di P53 protein).

Una *ridotta clearance virale* con conseguente disregolazione immunitaria è un altro meccanismo patogenetico descritto. Infezioni da virus oncogeni come Epstein Barr o papilloma virus quando sono responsabili di un persistente stato infiammatorio, causano proliferazione cellulare. La sopravvivenza cellulare abnorme può favorire mutazioni oncogene.

I tumori possono avere anche cause iatrogene, pur infrequenti: nei 6 mesi successivi a trapianto allogenico di cellule ematopoietiche c'è un aumentato rischio di proliferazione linfoide e/o plasmocitica (*Post-transplant lymphoproliferative disorders* — PTLDs). Anche se più frequentemente associata all'infezione da EBV, la PTLD può costituire una complicanza fatale dei trapianti, con una percentuale di mortalità del 50%.

I pazienti con IEI devono sottoporsi periodicamente a tutte le procedure di **screening oncologico** raccomandate per età agli individui immunocompetenti.

Oltre alle generali **misure di prevenzione oncologica** (ad esempio: evitare le malattie sessualmente trasmissibili, l'eccesso di alcol, l'obesità), i pazienti con IEI devono essere istruiti sui segni e i sintomi delle neoplasie associate in modo specifico al loro IEI e devo sottoporsi a follow-up personalizzato.

Particolare attenzione dovrebbe essere prestata ai segni del linfoma, in quanto tumore maligno più diffuso tra i pazienti con IEI, come perdita di peso, febbre ricorrente, sudorazione notturna, facilità alla formazione di lividi o sanguinamento. La valutazione dei pazienti IEI con sospetto linfoma è la stessa dei pazienti immunocompetenti, così come i test diagnostici (per es. acido urico, LDH, VES).

Nelle culture in cui la consanguineità è diffusa, alle famiglie con un membro affetto da IEI deve essere raccomandato di evitare i matrimoni tra parenti.

I pazienti con difetti di riparazione del DNA devono essere informati rispetto al rischio associato alla loro radiosensibilità di sviluppare tumori maligni. Ai pazienti con atassia-teleangectasia (AT) e ai loro familiari di sesso femminile (mutazione in eterozigosi) è consigliato lo screening precoce per il cancro mammario.

I pazienti affetti da epidermodisplasia verruciforme devono essere informati sulla necessità di una rigorosa protezione solare. Per questi pazienti si raccomandano periodiche valutazioni dermatologiche.

Il **trattamento delle neoplasie nei pazienti con IEI** segue i protocolli standard, ma comporta generalmente un aumentato rischio di eventi avversi correlato alla maggiore suscettibilità alle infezioni ed alla necessità di adottare schemi terapeutici più aggressivi (quindi più tossici) per la maggiore gravità del tumore.

I cicli di chemioterapia dovranno essere possibilmente più brevi e si dovrà fare particolare attenzione al controllo ed alla profilassi dell'infezione da *Pneumocystis carinii*.

La radioterapia dovrà essere limitata ai casi di assoluta necessità ed alla dose di radiazioni minore possibile.

Il trapianto di cellule staminali è la terapia d'elezione per alcuni IEI associati ad aumentato rischio di tumore.

Gli anticorpi monoclonali e le terapie con cellule T virus-specifiche stanno ampliando le opzioni di trattamento per questa popolazione vulnerabile.

È necessario quindi **raccomandare ai pazienti:**

1. di fare molta attenzione ad eventuali segni e sintomi di tumore, soprattutto quelli caratteristici dei linfomi, le neoplasie più comuni nei pazienti con IEI. Essi dovranno riferire al medico anche i sintomi che potrebbero essere giustificati dalla loro patologia di base, come perdita di peso, astenia, sudorazione notturna, sanguinamento, febbri ricorrenti;
2. di evitare fattori di rischio per cancro, come malattie sessualmente trasmissibili, alcool, obesità, esposizione al sole;
3. di valutare con il proprio immunologo l'opportunità di sottoporsi a procedure radiologiche;
4. tener presente che alcune patologie sono autosomiche recessive e che le unioni tra consanguinei aumentano il rischio di avere figli affetti



### **Bibliografia essenziale**

- Aghamohammadi A, Mohammadinejad P. Malignancy in primary immunodeficiency. <http://www.uptodate.com/contents/malignancy-in-primary-immunodeficiency>.
- Shapiro RS. Malignancies in the setting of primary immunodeficiency: Implications for hematologists/oncologists. *Am J Hematol* 2011; 86:48.
- Bode SFN, Ammann S, Al-Herz W, et al. The syndrome of hemophagocytic lymphohistiocytosis in primary immunodeficiencies: implications for differential diagnosis and pathogenesis. *Haematologica* 2015;100(7).

## 4.6 LE IMMUNODEFICIENZE ASSOCIATE A SINDROMI

**Baldassarre Martire, Luigi Tarani, Lucia Diaferio**

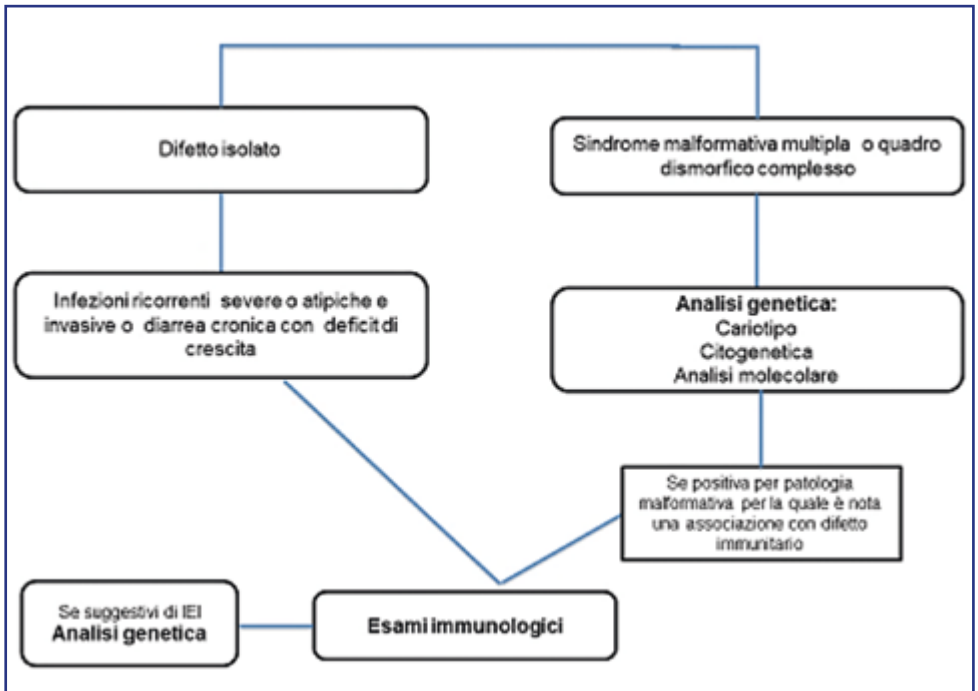
Attualmente le immunodeficienze associate a sindromi, sono state classificate dall'*International Union of Immunological Societies (IUIS) Expert Committee*, in 9 sottogruppi che comprendono in totale 58 forme diverse di IEI (<https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-022-01289-3>) in cui il coinvolgimento del sistema immunitario e di altri organi o apparati comporta espressioni malformative pleomorfe. È da sottolineare tuttavia che questa classificazione descrive le immunodeficienze con prevalente manifestazione fenotipica malformativa ma non esaurisce tutte le forme associate a manifestazioni extraimmunologiche:

- 】 Immunodeficienze sindromiche con piastrinopenia congenita
- 】 Immunodeficienze sindromiche da difetti di riparazione del DNA
- 】 Immunodeficienze sindromiche da anomalie del timo
- 】 Immunodeficienze sindromiche con displasia immuno-ossea
- 】 Sindromi da iper-IgE
- 】 Immunodeficienze sindromiche da difetti del metabolismo della vitamina B12 e dei folati
- 】 Displasia anidrotica ectodermica con immunodeficienza (EDA-ID)
- 】 Immunodeficienze sindromiche da difetti dei canali del calcio ed altri difetti

Secondo recenti dati dell'*European Society for Immunodeficiencies (ESID)* le immunodeficienze sindromiche rappresentano buona parte di tutti gli IEI nella popolazione pediatrica europea, comprendendo fino al 16% di tutti gli IEI.

La maggior parte dei pazienti presenta una aumentata suscettibilità infettiva ai patogeni opportunisti (diarrea cronica, infezioni respiratorie ricorrenti e croniche ad esordio precoce) in una associazione con altre patologie d'organo che può rappresentare la chiave del sospetto diagnostico di ID sindromica.

Un **accurato percorso diagnostico** è necessario per distinguere, nell'ambito della patologia malformativa, le forme che vanno indagate sotto il profilo immunologico e genetico (Figura 4).



**Figura 4.** Iter diagnostico in presenza di patologia malformativa

Il primo atto consiste in una dettagliata raccolta anamnestica personale e familiare che può essere dirimente per la natura monogenica della maggior parte di questi disordini, per quanto anche mutazioni de novo sono descritte in una discreta percentuale di pazienti con IEI. Il counselling genetico svolge un ruolo importante in quelle famiglie in cui è presente una immunodeficienza con mutazione genetica nota. In questi casi, infatti, si può procedere alla diagnosi prenatale.

Le sindromi associate ad immunodeficienze sono causate più comunemente da mutazioni monogeniche che da aberrazioni cromosomiche, come la delezione 4p16.3 della S. di Wolf-Hirschhorn o la delezione 22q11.2 della S. di DiGeorge.

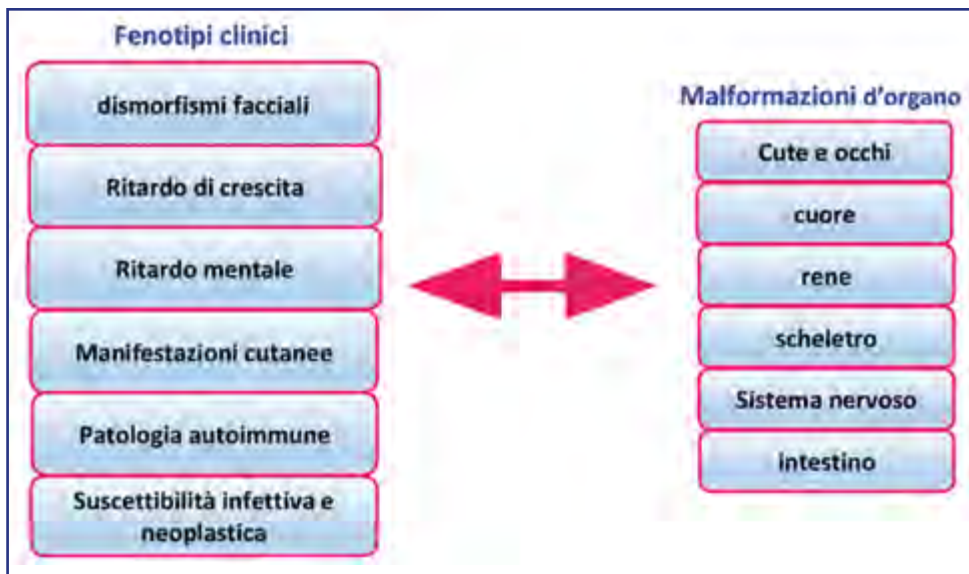
Per il pediatra è fondamentale riconoscere i **segni clinici, isolati o variamente associati, che possono suscitare il sospetto diagnostico di una sindrome** quali:

1. dismorfismi facciali, talvolta associati ad anomalie del cranio (micro o macrocefalia)
2. malformazioni maggiori o minori (orali, cutanee, ano-genitali, cardiache, renali, scheletriche, ecc.)
3. difetti o eccessi di crescita o disarmonie
4. ritardo dello sviluppo psicomotorio e deficit neurologici (atassia, paralisi, epilessia)
5. difetti sensoriali (sordità, anosmia e difetti visivi).

In questi casi non è comune la predisposizione alle infezioni ricorrenti e severe (respiratorie, intestinali, urinarie e muco-cutanee) così come le patologie immuno-mediate (eczema, artriti, teleangectasie), neoplastiche ed ematologiche (anemia, petecchie, epato-splenomegalia) (Figura 5).

Alcuni IEI possono esordire sotto forma di atopia con lesioni cutanee eczemato-se, IgE elevate ed eosinofilia; pertanto, anche i comuni sintomi allergici possono essere talvolta espressione di immunodisregolazione.

Nelle immunodeficienze sindromiche è stato ampiamente riportato un aumento del rischio di patologia neoplastica. In particolare, nei difetti di riparazione del DNA come atassia-teleangectasia (AT), Sindrome da frammentazione cromoso-



**Figura 5.** Immunodeficienze primitive sindromiche



mica di Nijmegen (NBS), sindrome di Bloom è descritto un significativo aumento dell'incidenza di leucemie, linfomi e tumori solidi, rispetto ai dati normativi dei registri nazionali. Risulta pertanto fondamentale una stretta collaborazione tra pediatra, immunologo e genetista clinico nel coordinare gli specialisti delle diverse patologie d'organo al fine di inquadrare le sindromi per poi applicare gli specifici protocolli assistenziali.

A titolo esemplificativo, la sindrome di Down (SD) presenta un rischio 7 volte maggiore di complicanze polmonari da RSV, per la possibile presenza di difetti sia dell'immunità innata (come disfunzioni della fagocitosi e della chemiotassi dei leucociti polimorfonucleati), che adattativa, umorale e cellulare (come i difetti numerici e funzionali dei linfociti B, T e natural killer). Talvolta è presente un'insufficienza di sviluppo del timo, con riduzione dei linfociti B ed alterazioni del pattern delle immunoglobuline, talaltra un profilo pro-infiammatorio sostenuto dall'aumento di citochine come IFN- $\gamma$ , IL-6 e del TNF- $\alpha$  i cui geni sono "over" espressi in quanto localizzati sul cromosoma 21 trisomico. L'immunodisregolazione nella SD può determinare anche patologie autoimmunitarie come la celiachia, la tiroidite ed il diabete mellito di tipo 1.

### **Bibliografia essenziale**

- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2020;40:24-64.
- de Vries E, Driessen G. Educational paper: primary immunodeficiencies in children: a diagnostic challenge. *Eur J Pediatr* 2011;170:169-177.
- Kersseboom R, Brooks A, Weemaes C. Educational paper: Syndromic forms of primary immunodeficiency. *Eur J Pediatr* 2011;170:295-308.
- Schatorje E, van der Flier M, Seppanen M, et al. Primary immunodeficiency associated with chromosomal aberration—An ESID survey. *Orphanet J Rare Dis* 2016;11:110.
- Devriendt K, Kim AS, Mathijs G, et al. Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet* 2001;27:313-317.
- Blundell MP, Worth A, Bouma G, et al. The Wiskott-Aldrich syndrome: the actin cytoskeleton and immune cellfunction. *Dis Markers* 2010;29:157-175.
- Hendaus M, Al-Hammadi A. Failure to thrive in infants. *Georgian Med News*. 2013; 214:48-54.
- Chan SK, Gelfand EW. Primary immunodeficiency masquerading as allergic disease. *Immunol Allergy Clin* 2015;35:767-778.
- Tiziana Lorenzini, Clementina Canessa, Alberto Tommasini, et al. Commissione Immunologia della SIAIP. Le immunodeficienze primitive associate. a patologia malformativa RIAIP 03/2013;14-2
- Luigi Tarani, Debora Rasi, Francesca Tarani, et al.. Pediatrics for Disability: A Comprehensive Approach to Children with Syndromic Psychomotor Delay. *Curr Pediatr Rev*. 2022;18(2):110-120.
- Tarani L, Carito V, Ferraguti G, Petrella C, et al. Neuroinflammatory Markers in the Serum of Prepubertal Children with Down Syndrome. *J Immunol Res*. 2020 Mar 23;2020:6937154.

## 5. FOCUS SUGLI IMMUNODEFICIT COMUNI

---

### 5.1 DALL'IPOGAMMAGLOBULINEMIA DELL'INFANZIA AI DIFETTI UMORALI

*Alessandro Plebani, Vassilios Lougaris*

#### Introduzione

La valutazione dello stato immunologico di base di un bambino si avvale di pochi esami di laboratorio: il dosaggio delle immunoglobuline sieriche (IgG, IgA, IgM ed IgE) ed un emocromo con formula. Una corretta interpretazione di questi due parametri consente di porre diagnosi delle forme più comuni di immunodeficienze primitive (di cui i difetti umorali rappresentano la maggioranza) in circa il 90% dei casi. Questa affermazione può sembrare paradossale in un'epoca nella quale la diagnostica sembra muoversi di più sui binari della genetica molecolare o del sequenziamento genico, esami utili quali esami di terzo livello, ma difficilmente alla portata del pediatra del territorio e di molte pediatrie ospedaliere, il cui compito è quello di porre il sospetto di difetto congenito dell'immunità utilizzando esami facilmente eseguibili e con pronta disponibilità dei risultati. Il dosaggio delle immunoglobuline sieriche ed un emocromo con formula rispondono molto bene a questa esigenza. Posto il sospetto diagnostico il pediatra potrà inviare il paziente presso il centro di riferimento della propria regione per ulteriori approfondimenti e per concordare la gestione clinico-assistenziale in un'ottica di collaborazione Ospedale/Territorio.

#### **Ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia**

Sia il dosaggio delle immunoglobuline sieriche che l'emocromo con formula devono essere correttamente interpretati confrontando i valori del paziente con quelli dei soggetti sani della stessa età. Le immunoglobuline sieriche aumentano gradualmente con l'età raggiungendo i valori simili a quelli dell'adulto attorno ai 10 anni. La maturazione varia da soggetto a soggetto e nei primi anni di vita (fino a 3 anni) possiamo imbatterci in soggetti con valori di immunoglobuline inferiori al valore normale per età, per un semplice ritardo maturativo del tutto fisiologico,





condizione denominata *ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia* (*Transient Hypogammaglobulinemia of Infancy, THI*), destinata quindi a normalizzarsi.

Come distinguere una ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia da una vera e propria immunodeficienza (es. malattia di Bruton o Immunodeficienza Comune Variabile - CVID) La presenza dei linfociti B consentirà di escludere la malattia di Bruton mentre la presenza di una risposta anticorpale alle vaccinazioni e l'aumento graduale delle immunoglobuline sieriche (valutate a distanza di pochi mesi), ci consentirà di confermare la diagnosi di ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia; in caso contrario di pensare a una CVID. La THI è condizione di per sé benigna, si risolve nei primi anni di vita e, in assenza di significativi episodi infettivi, non richiede nessun trattamento specifico. Nei soggetti con ipogammaglobulinemia non vi è controindicazione alle vaccinazioni nel primo anno di vita con vaccini costituiti da proteine purificate, anzi la valutazione della risposta anticorpale acquista anche valore diagnostico.

Superato il periodo temporale del ritardo maturativo di tipo fisiologico, cioè oltre i 3 anni, il riscontro o la persistenza di ipogammaglobulinemia è verosimilmente legato a una condizione di immunodeficienza e i livelli delle immunoglobuline sieriche consentiranno di identificare il tipo di immunodeficienza.

Nel caso la ipogammaglobulinemia si associ ad assenza dei linfociti B si parlerà di agammaglobulinemia X recessiva (malattia di Bruton) o autosomica recessiva. Nel caso i linfociti B siano presenti e non vi siano grossolane alterazioni nel compartimento dei linfociti T, si parlerà di CVID.

Nel caso siano basse le IgG e le IgA mentre le IgM sono normali o aumentate si parlerà di immunodeficienza con Iper IgM e nel caso siano assenti solo le IgA si parlerà di deficit selettivo di IgA.

Solitamente, nelle forme di immunodeficienze umorali sopracitate, l'emocromo risulterà nella norma. Nel caso si riscontrasse una linfopenia è molto probabile che il difetto umorale si associ ad un difetto anche del compartimento dei linfociti T (a volte isolato a volte associato anche ad un difetto del compartimento dei linfociti B). Si parla in questo caso di immunodeficienze combinate: si ponga molta attenzione alla corretta interpretazione della linfopenia tenendo presente che i valori dei linfociti sono fisiologicamente più elevati nei primi anni di vita rispetto alle età successive ed un valore di linfociti nel primo anno di vita  $<3000/\mu\text{microl}$  deve essere sospetto.

Torniamo ora a descrivere con qualche dettaglio in più i difetti dell'immunità umorale sopracitati.

## Agammaglobulinemia

Si caratterizza per bassi/assenti livelli delle Immunoglobuline sieriche con assenza dei linfociti B per blocco differenziativo del precursore linfoide midollare verso la linea dei linfociti B, mentre il compartimento dei linfociti T è pressoché nella norma così come lo è l'emocromo. Si riconoscono una forma X recessiva (malattia di Bruton) e una forma autosomica recessiva, causate da mutazioni di geni differenti. A differenza delle altre forme di immunodeficienze umorali di seguito trattate, la presentazione clinica dell'agammaglobulinemia non è influenzata dal tipo di difetto genetico. Questi pazienti ammalano più frequentemente di infezioni da patogeni capsulati a localizzazione extracellulare (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*), la cui "clearance" è proprio compito delle immunoglobuline sieriche. In loro mancanza questi patogeni non vengono eliminati e danno luogo alle infezioni, tipicamente otiti ricorrenti, sinusiti, bronchiti e broncopolmoniti. Non infrequenti sono le infezioni a localizzazione gastrointestinale da *Campylobacter* e *Giardia*. Con l'eccezione degli enterovirus questi pazienti sono in grado di difendersi adeguatamente dalle infezioni virali disponendo appunto di un compartimento T-cellulare efficiente. Il ricorrere di infezioni delle basse vie respiratorie, o per ritardo diagnostico o per inadeguato trattamento, è frequentemente causa di bronchiectasie e dello sviluppo nel tempo di una broncopneumopatia cronica che rappresenta tuttora una delle maggiori cause di mortalità. Una diagnosi precoce e un trattamento altrettanto precoce e adeguato rappresentano i cardini per garantire una buona qualità di vita. Il trattamento si avvale di terapia sostitutiva con immunoglobuline endovena o sottocutanea, pronta ed aggressiva terapia antibiotica degli episodi infettivi, e, se del caso, antibioticoprofilassi e fisioterapia respiratoria.

## Immunodeficienza Comune Variabile (CVID)

Si caratterizza per bassi livelli di Immunoglobuline sieriche con presenza di linfociti B in numero normale che però non sono in grado di differenziarsi a plasmacellule secernenti i vari isotipi di immunoglobuline, da qui la condizione di ipogammaglobulinemia. La conta delle più comuni sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19) è pressoché nella norma così come la formula leucocitaria all'emocromo. La identificazione di questi pazienti sulla base del fenotipo immunologico e il loro follow-up, ha consentito di mettere in evidenza una significativa variabilità nella espressività clinica di questa immunodeficienza. In particolare, si è visto che, mentre in alcuni pazienti prevalgono le infezioni ricor-



renti sia del tratto respiratorio (es. polmoniti lobari da patogeni capsulati), che gastrointestinale (es. da *Campylobacter*, *Giardia*) in altri prevalgono/coesistono manifestazioni autoimmuni (citopenia autoimmune, enteropatie autoimmuni, polmoniti interstiziali, linfadenopatia, splenomegalia) per iperattivazione del sistema immune. Queste osservazioni cliniche hanno portato ad ampliare il concetto di immunodeficienza primitiva inglobando in questo termine non solo le forme da ipofunzione del sistema immune (forma classica di CVID), ma anche quelle da iperattivazione del sistema immune. La diversa espressività clinica della CVID, diagnosticata semplicemente sulla base dell'immunofenotipo, ha portato a formulare l'ipotesi che questa forma in realtà non sia costituita da una singola malattia ma da diverse malattie a differente espressività clinica pur condividendo lo stesso immunofenotipo. Ipotesi confermata successivamente da tecniche di sequenziamento genico che hanno dimostrato che questa immunodeficienza è causata da mutazioni di geni differenti, e, in particolare, che, nella forma da iperattivazione, sono coinvolti geni (es. *CTLA4*, *LRBA*, *PIK3CD*, *PIK3R1*) che, oltre a essere coinvolti nella difesa contro le infezioni, lo sono anche nelle operazioni di spegnimento del sistema immune dopo attivazione. In altre parole, mutazioni di questi geni determinano una stimolazione continua del sistema immune (es. linfadenopatia, splenomegalia) con aumentato rischio di sviluppare malattie autoimmuni (es. citopenia autoimmune) ma anche tumori. Va detto che una certa percentuale di questi pazienti non presentano una ipogammaglobulinemia, ma anomalie più sofisticate delle sottopopolazioni linfocitarie, compatibili comunque con una condizione di immunodeficienza, ma non evidenziabili dalla semplice valutazione citofluorimetrica delle più comuni sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19).

Pazienti nei quali si riscontrano alterazioni nel compartimento dei linfociti T sono suscettibili anche a infezioni virali. Il trattamento si avvale della terapia sostitutiva con immunoglobuline per via endovenosa o sottocutanea. La fisioterapia respiratoria può rappresentare un'importante misura di supporto per prevenire la broncopneumopatia cronica e ogni episodi infettivo va tempestivamente trattato con antibiotici o, se del caso, con antivirali. Gli steroidi possono trovare indicazione nelle manifestazioni autoimmuni, nell'iperplasia linfoide o nelle complicanze granulomatose o polmonari come le GLLD (*Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease*). La conoscenza del difetto genetico ha consentito lo sviluppo di terapie più efficaci basate sulla medicina di precisione, mirate a correggere il difetto della specifica proteina mutata, attraverso lo sviluppo di farmaci costruiti ad hoc e per le forme più gravi può essere preso in considerazione il trapianto di midollo osseo.

## Immunodeficienza con Iper IgM

Si caratterizza per bassi livelli sierici di IgG e IgA mentre i livelli delle IgM sono normali o aumentati. Si tratta di un difetto dello "switch/commutazione" isotipico/a legato all'incapacità delle plasmacellule che producono IgM (risposta primaria) a "commutare" verso la produzione di IgG e IgA (risposta secondaria). La diagnosi viene quindi facilmente posta sulla base del semplice dosaggio delle immunoglobuline sieriche. Le sottopopolazioni linfocitarie (linfociti T e B) sono numericamente nella norma, così come lo è l'emocromo. I primi studi clinici condotti su questi pazienti hanno dimostrato l'esistenza di una espressività clinica a gravità differente: alcuni presentavano una aumentata suscettibilità a infezioni batteriche da patogeni capsulati associata alla presenza di marcata linfadenomegalia e tumefazione tonsillare, altri una aumentata suscettibilità a patogeni opportunisti (es. *Pneumocystis jiroveci*, *Cytomegalovirus*, *Cryptosporidium*), aumentata frequenza di tumori (es. colangiocarcinoma) ed elevata mortalità. Caratteristica di questi pazienti era una ipoplasia linfoide. Questa eterogeneità clinica ha orientato verso l'esistenza di meccanismi patogenetici differenti. In particolare, la presenza di infezioni da patogeni opportunisti ha fatto pensare ad un difetto funzionale dei linfociti T, nonostante numericamente fossero nella norma. Attraverso studi funzionali e di genetica molecolare ora sappiamo che vi sono almeno 4 forme principali di immunodeficienza con Iper IgM dovute a mutazioni di geni differenti: quelle da mutazioni del gene che codifica rispettivamente per UNG (*uracyl-N-glycosylase*) e AID (*activation-induced cytidine deaminase*) (due proteine coinvolte nei meccanismi della "commutazione isotipica"), corrispondono alle forme da aumentata suscettibilità a infezioni batteriche e quelle da mutazione del gene che codifica per la molecola CD40L (espressa sui linfociti T attivati e che corrisponde al ligando del CD40) o del gene che codifica per la molecola del CD40 (espressa costitutivamente sui linfociti B) corrispondono a quelle a maggiore gravità e mortalità, perché si associano ad un difetto funzionale dei linfociti T. Pertanto, di fronte a valori di immunoglobuline compatibili con una immunodeficienza da Iper IgM è importante identificare di quale forma si tratti. La diagnosi da difetto di UNG e AID si pone sulla base del sequenziamento dei corrispondenti geni, mentre quella da difetto di CD40L o di CD40, prima, mediante analisi citofluorimetrica dell'espressione della molecola del CD40L sui linfociti T attivati o della molecola del CD40 sui linfociti B, e poi per sequenziamento dei corrispondenti geni. L'importanza di una diagnosi precisa è suggerita sia dalla diversa prognosi che dal diverso approccio terapeutico: per le forme da difetto di CD40L e CD40 è indicato il trapianto di midollo osseo mentre



per quelle da difetto di AID e UNG è indicato un trattamento di supporto con immunoglobuline endovena/sottocutaneo e un tempestivo trattamento degli episodi infettivi.

## **Deficit selettivo di IgA**

Si tratta della immunodeficienza più frequente. È trattata nel Capitolo 5.2.

### **Bibliografia essenziale**

- Moschese V, Graziani S, Avanzini MA, et al. A prospective study on children with initial diagnosis of transient hypogammaglobulinemia of infancy: results from the Italian Primary Immunodeficiency Network. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2008;21:343-52.
- Lougaris V, Sorlini A, Monfredini C, et al. Clinical and Laboratory Features of 184 Italian Pediatric Patients Affected with Selective IgA Deficiency (SIgAD): a Longitudinal Single-Center Study. *J Clin Immunol* 2019;39(5):470-75.
- Lougaris V, Soresina A, Baronio, et al. Long-term follow-up of 168 patients with X-linked agammaglobulinemia reveals increased morbidity and mortality. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;146(2):429-37.
- Plebani A, Ugazio A.G., Monafo V et al. Clinical eterogeneity and reversibility of selective immunoglobulin A deficiency in 80 children. *The Lancet* 1986;ii:829-31.
- Quinti I, Soresina AR, Soadaro G, 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.
- Lougaris V, Ravelli A, Villanacci V, et al. Gastrointestinal pathologic abnormalities in pediatric- and adult-onset common variable immunodeficiency. *Dig Dis Sci* 2015;60:2384-89.

## 5.2 IL DIFETTO SELETTIVO DI IgA. PERCHÉ TENERE ALTA L'ATTENZIONE?

*Francesca Conti, Lucia Leonardi, Lucia Pacillo, Mattia Moratti, Andrea Pession*

### Definizione

Il difetto selettivo di IgA (*selective IgA deficiency*, sIgAd) è la forma più frequente di immunodeficienza primitiva, con un'incidenza stimata variabile in base all'etnia tra 1:3000 e 1:150 individui (1:500 nella popolazione caucasica).

Il **sIgAd si definisce assoluto** in presenza di una concentrazione di IgA nel siero uguale o inferiore a 7 mg/dl, con normali valori sierici di IgG e IgM (misurati almeno 2 volte), in pazienti di età maggiore di 4 anni con un assetto immunitario per il resto privo di alterazioni di rilievo, nello specifico con una normale risposta anticorpale alle vaccinazioni.

In caso di livelli sierici di IgA maggiori di 7 mg/dl ma comunque inferiori a 2 deviazioni standard rispetto ai valori normali per età, il **sIgAd è definito parziale**.

In accordo con i criteri dell'*European Society for Immunodeficiencies*, oltre al dato laboratoristico, per la diagnosi è necessaria l'esclusione di cause secondarie di ipogammaglobulinemia.

Il difetto laboratoristico di IgA (parziale e assoluto), è isolato, e totalmente asintomatico nell'80% dei casi o, al più, paucisintomatico; tale riscontro avviene spesso in occasione di approfondimenti in merito ad altre condizioni mediche, quali lo *screening* della celiachia.

**La presenza di pazienti soprattutto asintomatici** comporta che i dati di prevalenza siano **universalmente sottostimati, al contempo l'assenza di un programma di screening e di studi su larga scala non favorisce la comprensione della patogenesi e indicazioni sul management**.

Nei **pazienti sintomatici**, in cui viene posta diagnosi di sIgAd, le manifestazioni cliniche possono includere aumentata suscettibilità alle infezioni, in particolare respiratorie e gastrointestinali, allergie sia inalatorie sia alimentari e/o manifestazioni autoimmuni di cui quelle più comunemente associate sono la celiachia e la tiroidite.

La carenza di IgA nel plasma riflette quella delle IgA secretorie; le IgA sieriche sono il **secondo isotipo per concentrazione e quindi il migliore surrogato nella analisi della loro concentrazione, pur non riflettendo i reali livelli delle IgA sulle mucose. Queste ultime sono** preposte alla prima barriera di difesa a livello delle mucose dell'organismo, soprattutto dell'apparato gastrointestinale e respiratorio.



Ciò da un lato facilita la colonizzazione e penetrazione delle barriere mucose da parte di microrganismi patogeni, predisponendo a infezioni ricorrenti e disbiosi, dall'altro agevola l'esposizione delle cellule del sistema immunitario mucosale ad allergeni respiratori e alimentari, esponendo l'individuo ad una maggiore suscettibilità di sviluppare allergie.

In letteratura è riportata una **potenziale evoluzione del sIgAd in fenotipi più complessi** con caratteristiche clinico-laboratoristiche atipiche: in una piccola percentuale dei casi (circa il 5%), complice anche un verosimile meccanismo fisiopatologico comune legato a varianti più o meno patogenetiche del gene *TNFRSF13B*, il sIgAd può evolvere in Immunodeficienza Comune Variabile o può associarsi a disordini linfoproliferativi: pertanto **nessita di un costante e appropriato follow-up**.

È fondamentale inoltre **verificare la eventuale copresenza di difetto delle sottoclassi IgG**; in tal caso la gestione del paziente sintomatico potrebbe richiedere la terapia sostitutiva con immunoglobuline. Inoltre, in alcuni casi il sIgAd è il quadro di esordio di un IEl più grave che necessita di terapia adeguata, talvolta salvavita; ad esempio, nel caso di difetto di LRBA.

## Il ruolo del pediatra

Il pediatra ricopre un ruolo chiave nella gestione integrata del paziente pediatrico con sIgAd, sia assoluto che parziale, che si declina nei seguenti interventi:

### ► **Riconoscimento precoce di segni e sintomi suggestivi per sIgAd meritevoli di approfondimento:**

I pazienti con sIgAd clinicamente manifesto presentano infezioni ricorrenti a carico delle vie respiratorie (otiti medie, sinusiti, faringotonsilliti, bronchiti e meno frequentemente broncopolmoniti, soprattutto da batteri piogeni quali *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*) e/o infezioni gastrointestinali, sostenute in particolare da *Giardia lamblia*, *Salmonella spp.* e *Helicobacter pylori*, solitamente paucisintomatiche e non risultanti in complicanze gravi.

Una proporzione variabile da un quarto fino a un terzo dei pazienti con sIgAd svilupperà un disordine autoimmune. Le patologie autoimmuni per cui esiste maggior evidenza di associazione con il sIgAd sono celiachia, tiroidite, *lupus* eritematoso sistemico, diabete mellito di tipo 1, malattie infiammatorie croniche intestinali, artrite reumatoide, artrite idiopatica giovanile, spondilite anchilosante e vitiligine, seguite da sclerodermia, epatite autoimmune, trombocitopenia immune e anemia emolitica autoimmune.

Indagini epidemiologiche hanno mostrato una maggiore prevalenza di malattia celiaca tra i pazienti con sIgAd (fino al 10%, con una media del 6%), che si riflette in una più frequente diagnosi di tale deficit nei pazienti celiaci (fino al 17% dei casi, con una media del 0.6%).

L'atopia costituisce la manifestazione d'esordio fin nel 40% dei pazienti con sIgAd che sarà caratterizzata nel corso della sua storia naturale da fenomeni allergici fino all'84% dei casi. Le manifestazioni atopiche più frequentemente descritte sono l'asma allergico, la rinite e la dermatite atopica.

### **» Definizione di modalità e tempi opportuni di esecuzione di esami immunologici di I livello (come da protocollo nazionale IPINet)**

In presenza di uno dei suddetti segni o sintomi suggestivi per sIgAd, è opportuna l'esecuzione di:

- emocromo con formula leucocitaria;
- IgG/IgA/IgM/IgE totali (preferibilmente sopra ai 4 anni di età, o da confermare dopo tale periodo, per la possibile presenza di un'ipogammaglobulinemia transitoria para-fisiologica che si risolve dopo la prima infanzia).

Alla conferma in due determinazioni di difetto laboratoristico di IgA è indicata una valutazione immunologica specialistica in base alla quale verranno richiesti i seguenti esami immunologici:

- tipizzazione linfocitaria *standard* (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+CD56+, CD19+),
- sottoclassi IgG,
- anticorpi antinucleo (ANA),
- screening celiachia (anti-tTG-IgG, anti-DGP-IgG e anti-EMA-IgG),
- TSH, FT4, Ab anti-TPO, Ab anti-TG,
- titoli vaccinali per difterite, tetano, pertosse, pneumococco, *Haemophilus*, morbillo, parotite, rosolia, varicella,
- esame chimico-fisico delle urine.

In caso di sospetto di fenotipi più complessi alla valutazione immunologica specialistica, verranno richiesti eventualmente:

- immunofenotipo esteso T e B,
- test di proliferazione T e B.

### Impostazione di un corretto programma di follow-up presso il proprio Ambulatorio

- »** Nulla osta all'esecuzione di vaccinazioni, obbligatorie e raccomandate, con vaccini sia vivi attenuati sia inattivati, garantendo la copertura vaccinale verso patogeni con particolare tropismo mucosale e respiratorio (vaccinazione antinfluenzale annuale, vaccinazione anti-pneumococcica e antimeningococcica)





- 】 Follow-up clinico annuale, ad eccezione dei casi con comorbidità necessitanti di controlli specialistici

---

- 】 Ripetizione di esami ogni 12-36 mesi in base all'andamento clinico

---

  - Emocromo con formula (12 mesi)
  - IgG/IgA/IgM/IgE totali (12 mesi)
  - Tipizzazione linfocitaria standard a 5 antigeni (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+CD56+, CD19+) (24 mesi)
  - Sottoclassi IgG (24 mesi)
  - Anticorpi antinucleo (ANA) (36 mesi)
  - Screening celiachia (anti-tTG-IgG, anti-DGP-IgG e anti-EMA-IgG) (24 mesi)
  - TSH, FT4, Ab anti-TPO, Ab anti-TG (24 mesi).

### Riconoscimento precoce di decorso clinico peggiorativo meritevole di rivalutazione immunologica specialistica

In caso di maggior ricorrenza e gravità degli eventi infettivi e dei fenomeni di immunodisregolazione, o comparsa di manifestazioni cliniche severe e di difficile controllo.

## **I miti da sfatare**

### slgAd e neoplasie in età pediatrica

In letteratura è riportata l'associazione tra slgAd e rischio di neoplasie, soprattutto linfoproliferative e del tratto gastrointestinale; tuttavia, tale correlazione, statisticamente descritta nei pazienti adulti, non è stata segnalata nella popolazione pediatrica.

L'associazione tra slgAd e neoplasie anche nella fascia di età 0-18 anni è stata indagata nel 2015 da Ludvigsson *et al.* che hanno condotto il più grande studio in merito al rischio di neoplasie slgAd-relato in 2.320 pazienti (487 bambini e 1833 adulti) e 23.130 controlli, confermando l'assenza di tale correlazione nei soggetti pediatrici.

### slgAd e reazioni a emoderivati

Per quanto concerne la possibilità di pazienti con tale disordine di sviluppare anticorpi anti-IgA con conseguente rischio di reazioni anafilattiche in seguito a trasfusioni di emoderivati, uno studio americano risalente al 2015, effettuato su 6 milioni di individui, e uno studio francese, risalente al 2017 su 21 milioni di

trasfusioni, hanno dimostrato che la presenza di anticorpi anti-IgA non è causa necessaria né sufficiente di anafilassi da trasfusione di emoderivati.

## Conclusioni

L'importanza di un appropriato follow-up deriva dal fatto che tale disordine, sebbene asintomatico nella maggior parte dei casi, è la immunodeficienza primitiva più comune, tutt'altro che rara, caratterizzata da manifestazioni cliniche, non necessariamente all'esordio, che beneficiano di diagnosi precoce e adeguata terapia. Inoltre, in relazione al remoto rischio di evoluzione in forme più severe/sintomatiche, di cui non sono noti ad oggi *biomarkers* predittivi, è meritevole di una gestione integrata tra ospedale e territorio finalizzata a garantire la migliore qualità di vita ai pazienti, ottimizzando nel contempo l'economia sanitaria.

### Bibliografia essenziale

- Zhang J, van Oostrom D, Li J, Savelkoul HFJ. Innate Mechanisms in Selective IgA Deficiency. *Front. Immunol.* 2021;12:649112.
- Di Tola M, Bizzaro N, Gaudio M, et al. Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine. Diagnosing and Monitoring Celiac Patients with Selective IgA Deficiency: Still an Open Issue. *Dig Dis Sci.* 2021 Oct;66(10):3234-3241.
- Odineal DD, Gershwin ME. The Epidemiology and Clinical Manifestations of Autoimmunity in Selective IgA Deficiency. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020 Feb;58(1):107-133.
- Cinicola, BL, Pulvirenti, F, Capponi P, et al. Selective IgA Deficiency and Allergy: A Fresh Look to an Old Story. *Medicina* 2022;58:129.
- Pulvirenti F, Zuntini R, Milito C, et al. Clinical Associations of Biallelic and Monoallelic TNFRSF13B Variants in Italian Primary Antibody Deficiency Syndromes. *J Immunol Res.* 2016;2016:8390356.
- Moschese V, Chini L, Graziani S, et al. Follow-up and outcome of symptomatic partial or absolute IgA deficiency in children. *Eur J Pediatr.* 2019 Jan;178(1):51-60.
- Lougaris V, Sorlini A, Monfredini C, et al. Clinical and Laboratory Features of 184 Italian Pediatric Patients Affected with Selective IgA Deficiency (SIgAD): a Longitudinal Single-Center Study. *J Clin Immunol.* 2019 Jul;39(5):470-475.
- Ludvigsson JF, Neovius M, Ye W, Hammarström L. IgA deficiency and risk of cancer: a population-based matched cohort study. *J Clin Immunol.* 2015 Feb;35(2):182-8.
- Sandler SG, Eder AF, Goldman M, et al. The entity of immunoglobulin A-related anaphylactic transfusion reactions is not evidence based. *Transfusion.* 2015 Jan;55(1):199-204.
- Tacquard C, Boudjedir K, Carlier M, et al. Hypersensitivity transfusion reactions due to IgA deficiency are rare according to French hemovigilance data. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Sep;140(3):884-885.



## 6. AUTOINFIAMMAZIONE E IPERINFIAMMAZIONE. LE FEBBRI PERIODICHE/LE SINDROMI AUTO-INFIAMMATORIE

---

**Riccardo Papa, Roberta Caorsi, Stefano Volpi, Marco Gattorno**

Le malattie autoinfiammatorie (*Autoinflammatory Diseases*, AID) sono un gruppo eterogeneo di disordini del sistema immunitario caratterizzati da infiammazione sistemica secondaria a mutazioni di geni dell'immunità innata. Nel 1997 è stato identificato il gene MEFV associato alla febbre mediterranea familiare (FMF). Negli anni successivi, lo sviluppo delle nuove tecniche genetiche (*Next Generation Sequencing*, NGS) ha aumentato in modo esponenziale la identificazione di geni e relative condizioni cliniche classificate come AID. D'altra parte, esiste un ampio numero di condizioni infiammatorie, simili alle AID monogeniche, ma non associate a varianti genetiche che sono raggruppate sotto il termine di AID multifattoriali.

### **Approccio alla diagnosi delle AID**

Il sospetto clinico di una possibile AID inizia dalla valutazione attenta della storia personale e familiare del paziente al fine di valutare il possibile pattern di trasmissione, unitamente all'analisi del fenotipo clinico. L'identificazione del fenotipo prevalente, degli organi e dei tessuti principalmente coinvolti rappresenta il primo passo fondamentale per un corretto approccio diagnostico (Figure 1-4).

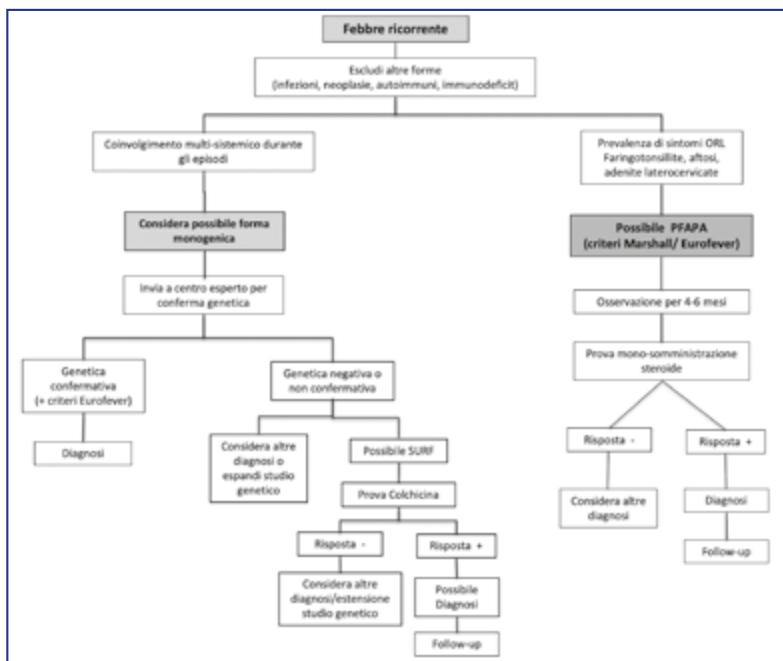


Figura 1. Flow chart diagnostica in pazienti con febbre ricorrente

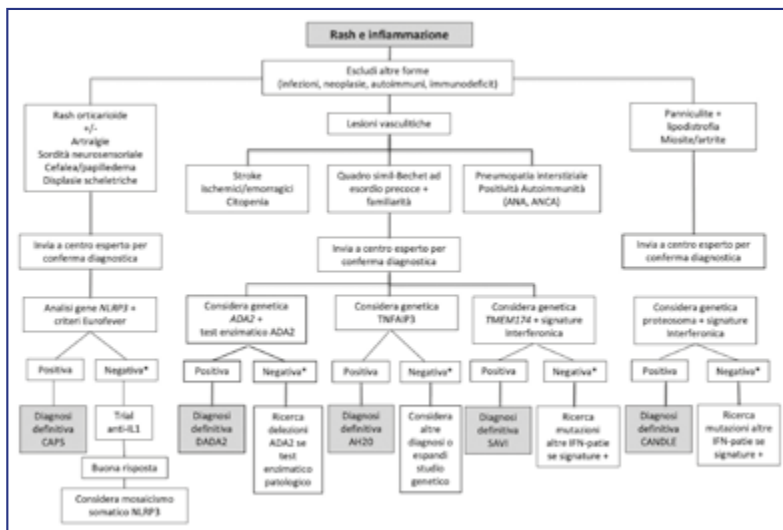
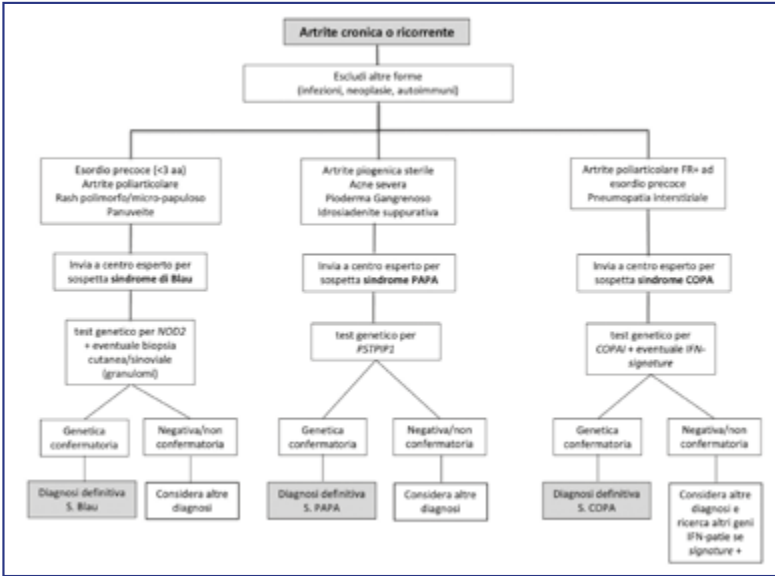
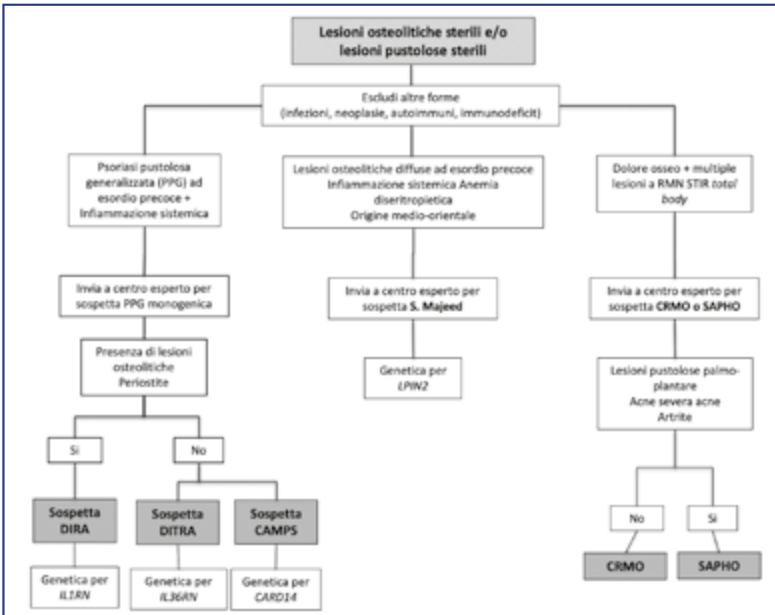


Figura 2. Flow chart diagnostica per identificare le AID con rash cutaneo e infiammazione



**Figura 3.** Flow chart diagnostica per identificare le AID monogeniche con artrite



**Figura 4.** Flow chart diagnostica per identificare le AID monogeniche e multifattoriali associate a infiammazione ossee a lesioni pustolose generalizzate

## AID con febbre ricorrente

La febbre ricorrente è la manifestazione classica associata alle prime AID monogeniche, ovvero FMF, deficit di mevalonato chinasi (MKD) e TRAPS (*TNF- Receptor Associated Periodic Syndrome*). Gli episodi sono solitamente stereotipati con lo stesso insieme di sintomi. Tipicamente, sono intervallati da periodi di assoluto benessere. Gli episodi più brevi (1-2 giorni) sono di solito osservati in FMF, mentre episodi più lunghi (1-2 settimane) sono evocativi per TRAPS. Gli episodi si risolvono spontaneamente. L'insorgenza è improvvisa, talvolta con brividi. Le manifestazioni associate includono: artralgie/artrite, rash cutaneo, dolori addominali o toracici, diarrea. Le forme monogeniche devono distinguersi dalla più comune sindrome PFAPA, che è caratterizzata da un prevalente interessamento faringo-tonsillare e da un minore coinvolgimento di altri organi. Gli episodi sono spesso molto regolari ogni 21-28 giorni e durano 4-6 giorni. La PFAPA è in genere una condizione benigna che colpisce i bambini nei primi anni dell'infanzia, spesso con risoluzione spontanea.

Da alcuni anni sono a disposizione nuovi criteri classificativi *evidence-based* per la differenziazione delle febbri ricorrenti monogeniche principali e della sindrome PFAPA. I bambini con febbre ricorrente che non soddisfano i criteri PFAPA e non sono portatori di mutazioni genetiche causali, costituiscono un gruppo distinto, noto come sindrome da febbre ricorrente indifferenziata (SURF). I pazienti spesso condividono caratteristiche cliniche con la FMF e mostrano una ottima risposta alla colchicina (Figura 1).


## AID con coinvolgimento prevalente di organi e tessuti

La maggior parte delle AID non è caratterizzata da episodi febbrili ricorrenti, ma da manifestazioni infiammatorie che possono interessare specifici organi e tessuti con un andamento cronico o sub-cronico.

### AID con rash e infiammazione

#### ► Eruzione orticarioide associata a infiammazione sistemica

Le AID associate a mutazioni del gene NLRP3 (criopirinopatie, o CAPS) sono caratterizzate da lesioni orticarioide associate a infiammazione sistemica. Le lesioni sono simili ad una orticaria palpabile e transitoria, non pruriginosa, associata a febbre, malessere generale, congiuntivite e artralgie. L'esposizione al freddo può essere scatenante ma, al contrario dell'orticaria da freddo, la prova del cubetto da ghiaccio è negativa. La forma più grave (denominata CINCA) è caratterizzata da un'infiammazione cronica con meningite asettica, sordi-



tà neurosensoriale. In questa condizione, possono essere osservate displasie scheletriche (bozze frontali, ipertrofia bilaterale della rotula) (Figura 2).

### ▮ Vasculite/panniculite

Il difetto di adenosina deaminasi 2 (DADA2) è un esempio di vasculite monogenica, clinicamente indistinguibile dalla poliarterite nodosa, ma associata a stroke ischemici/emorragici precoci e alla possibile presenza di una citopenia grave. I pazienti con aploinsufficienza della proteina A20 (HA20, gene TNFAIP3), si caratterizzano per un quadro simile alla malattia di Behçet con una distribuzione familiare.

Nella sindrome SAVI (*STING-associated vasculopathy with onset in infancy*), è invece presente una vasculite alle estremità associata a importante pneumopatia. Questa forma è caratterizzata da una iper-espressione di Interferone (IFN) di tipo I che può essere misurato in alcuni laboratori con un esame specifico: la *IFN-signature*.

Lo stesso esame è alterato nella sindrome CANDLE (dermatosi neutrofila cronica atipica e lipodistrofia e temperatura elevata), caratterizzata da una importante panniculite lipoatrofica (Figura 2).

### AID con Artrite

Le articolazioni sono frequentemente coinvolte nelle AID monogeniche e devono essere sospettate in pazienti con presentazione e decorso atipico, erroneamente diagnosticati con artrite idiopatica giovanile. La triade di panuveite granulomatosa, dermatite e poliartrite ed entesite simmetrica è tipico della sindrome di Blau (gene CARD15/NOD2). La sindrome PAPA (*Pyoderma gangrenosum, pyogenic arthritis, acne*; gene PSTPIP1) è caratterizzata da episodi ricorrenti di monoartrite purulenta simil-settica e sterile, specie dopo traumatismi. I pazienti con esordio molto precoce (< 5 anni) di artrite poliarticolare progressiva e simmetrica FR+ devono essere indagati per una possibile sindrome COPA e studiati con TC polmonare per la possibile presenza di una pneumopatia interstiziale cronica (Figura 3).

### AID con lesioni ossee infiammatorie sterili associate o meno a psoriasi pustolosa generalizzata

La osteomielite multifocale ricorrente (CRMO), caratterizzata da intensi dolori ossei e riscontro di multiple lesioni ossee alla RMN-STIR *total body*, è la forma multifattoriale più comune di AID ad interessamento osseo.

Le forme monogeniche di CRMO sono la sindrome di Majeed (gene LPIN1), spesso associata a febbre ricorrente e anemia diseritropoietica e la sindrome DIRA (*Deficiency of IL-1 Receptor Antagonist*). La DIRA ha un esordio neonatale e le lesioni ossee sono associate ad un quadro grave di psoriasi pustolosa gene-

ralizzata (PPG), con episodi ricorrenti di lesioni pustolose multiple, sterili, su una pelle eritematosa, squamosa e spesso dolorosa. Le infezioni batteriche possono complicare la gestione clinica.

La presenza di pustolosi palmo-plantare e acne grave caratterizza la sindrome SAPHO, specie nell'adolescente.

Altre AID monogeniche caratterizzate da PPG senza coinvolgimento osseo sono il difetto dell'antagonista recettoriale di IL-36 (DITRA) e il difetto del gene CARD14 (CAMPS) (Figura 4).

#### *AID con sindrome di attivazione macrofagica (MAS) /citopenia*

Caratteristiche ematologiche, come la citopenia e gli episodi ricorrenti di sindrome di attivazione dei macrofagi, caratterizzano diverse AID multifattoriali come la artrite idiopatica giovanile sistemica (o malattia di Still). Episodi ricorrenti di MAS sono presenti in pazienti con mutazioni del gene NLRC4. Una citopenia mono o multilineare può essere presente nel difetto di ADA2. I pazienti portatori delle varianti p.E250K e p.E257K del gene PSTPIP1 presentano una grave citopenia con epato-splenomegalia (nota anche come PAMI).

## Il ruolo degli esami di laboratorio e dei test funzionali

Gli esami di primo livello (emocromo, dosaggio Ig sieriche, LDH) sono fondamentali nella prima fase di diagnostica differenziale con forme infettive o neoplastiche. Tipicamente nelle AID gli indici di flogosi (PCR, VES e sieroamiloidi A) sono elevati in corrispondenza delle manifestazioni cliniche, mentre sono negativi i marcatori infettivi (procalcitonina, colture). In alcuni centri specializzati sono disponibili alcuni test di seconda linea che possono aiutare a indirizzare o escludere alcune condizioni prima dell'analisi genetica: il test enzimatico per l'attività di ADA2 è in grado di rilevare una completa carenza dell'enzima in poche ore. L'analisi della concentrazione di acido mevalonico durante episodio febbrile consente una diagnosi rapida di MKD. L'IFN-*signature* identifica i pazienti con alta probabilità di avere una disregolazione delle vie dell'interferone di tipo I.

## L'analisi genetica e la sua interpretazione

Una volta identificato il sospetto clinico sulla base della clinica, il paziente deve venire inviato a centro specialistico per la conferma diagnostica tramite studio genetico. I pannelli NGS orientati alle AID o lo studio dell'intero esoma (o il genoma) con analisi in silico dei geni sospettati, sono le metodiche più usate. L'analisi potrà essere **confermatoria** (presenza di varianti patogeniche o probabilmente





patogeniche) o **non confermatoria** per varianti di significato sconosciuto (VUS) o benigne. Il risultato deve quindi essere discusso con genetisti o esperti del settore, per evitare errori nella loro corretta interpretazione, specie nel caso di VUS. Per le varianti già descritte come associate alle AID, il sito INFEVERS (<https://infevers.umai-montpellier.fr/web/index.php>) fornisce gratuitamente l'elenco di tutte le varianti descritte nei geni associati ad AID con un giudizio sulla loro patogenicità o meno.

### **Bibliografia essenziale**

- Ozen S, et al. EULAR recommendations for the management of familial Mediterranean fever. *Ann Rheum Dis.* 2016 Apr;75(4):644-51.
- Gattorno M, et al. Classification criteria for autoinflammatory recurrent fevers. *Ann Rheum Dis.* 2019 Aug;78(8):1025-1032.
- Shinar Y, et al. ISSAID/EMQN Best Practice Guidelines for the Genetic Diagnosis of Monogenic Autoinflammatory Diseases in the Next-Generation Sequencing Era. *Clin Chem.* 2020 Apr 1;66(4):525-536.
- Cetin Gedik K. The 2021 European Alliance of Associations for Rheumatology/American College of Rheumatology points to consider for diagnosis and management of autoinflammatory type I interferonopathies: CANDLE/PRAAS, SAVI and AGS. *Ann Rheum Dis.* 2022 May;81(5):601-613.
- Romano M, et al. The 2021 EULAR/American College of Rheumatology points to consider for diagnosis, management, and monitoring of the interleukin-1 mediated autoinflammatory diseases: cryopyrin-associated periodic syndromes, tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome, mevalonate kinase deficiency, and deficiency of the interleukin-1 receptor antagonist. *Ann Rheum Dis.* 2022 Jul;81(7):907-921.

## 7. I DIFETTI DELL'IMMUNITÀ INNATA

### 7.1 DIFETTI PRIMITIVI DEI FAGOCITI

**Lorenzo Lodi, Francesca Lippi, Antonio Marzollo, Linda Rossini**

"Se il paziente ha un'infezione da un batterio o un fungo dal nome impronunciabile, pensa prima di tutto ad un difetto dei fagociti".

*Anonimi*

I fagociti (granulociti neutrofili, monociti/macrofagi e cellule dendritiche) rappresentano una componente essenziale del sistema immunitario innato e incarnano in modo paradigmatico due delle funzioni chiave di questo comparto:

- prima linea di difesa verso i patogeni;
- avvio della risposta immune adattativa tramite la presentazione dell'antigene al sistema linfocitario.

Queste cellule della linea mieloide esistono in numerose declinazioni funzionali e tissutali specifiche: dalle cellule di Langerhans della cute, alle cellule di Kupffer nel fegato, dall'osteoclasta del tessuto osseo, alla microglia del sistema nervoso centrale. La presenza tissutale capillare e differenziata rende conto della loro importanza sia a livello immunologico che extra-immunologico in funzioni come il rimodellamento osseo o la cicatrizzazione delle ferite.

I difetti primitivi dei fagociti sono difetti congeniti dell'immunità storicamente suddivisi in difetti di numero e funzione. Ad oggi, la classificazione dell'Unione Internazionale delle Società Immunologiche (IUIS) riconosce oltre quaranta geni responsabili di difetti primitivi dei fagociti suddivisi in quattro categorie principali:

1. neutropenie (o difetti di numero),
2. difetti di motilità,
3. difetti del burst ossidativo,
4. altri difetti non linfoidi.

Ogni condizione specifica presenta alterazioni caratteristiche distintive. Il pe-



diatra, pur non dovendo conoscere le peculiarità di ogni singolo difetto, deve mantenere un alto grado di sospetto verso gli aspetti comuni tipici dei difetti dei fagociti come l'aumentata suscettibilità alle infezioni batteriche e fungine e la spiccata tendenza all'invasività e alla cronicizzazione. I cardini terapeutici trasversali sono rappresentati dalla profilassi antimicrobica (si veda Capitolo 11.4) e dalla diagnosi e trattamento precoce delle infezioni. Inoltre, alcune condizioni presentano opzioni terapeutiche specifiche e nella maggior parte dei casi il trattamento definitivo è il trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

A scopo esemplificativo esamineremo tre condizioni paradigmatiche dei difetti dei fagociti: le neutropenie, i difetti di adesione leucocitaria e la malattia granulomatosa cronica.

### **Difetto del numero dei neutrofil: neutropenia**

La neutropenia è una riduzione della concentrazione dei granulociti neutrofil nel sangue, normalmente superiore a  $1,5 \times 10^9/l$  sopra l'anno di vita; nel bambino di età inferiore a 1 anno, invece, il cut-off è  $1,0 \times 10^9/l$ . In base alla gravità della riduzione rispetto ai valori normali, la neutropenia si definisce lieve ( $1-1,5 \times 10^9/l$ ), moderata ( $0,5-1 \times 10^9/l$ ) o grave ( $<0,5 \times 10^9/l$ ).

La neutropenia è un reperto comune nei bambini, in particolare nei neonati prematuri o di basso peso, in corrispondenza di infezioni virali, secondaria a terapia farmacologica. Una neutropenia lieve senza correlato clinico può essere una caratteristica costituzionale in bambini di origine medio-orientale o africana, una condizione transitoria post-infettiva o iatrogena. Solamente una piccola porzione di pazienti ha una neutropenia congenita, ma questi devono essere identificati per assicurare una presa in carico adeguata.

La neutropenia congenita o geneticamente determinata deve essere sospettata soprattutto se:

1. Il riscontro persiste in prelievi ripetuti
2. Non è presente una chiara causa della neutropenia (ad es. chemioterapia, altri farmaci)
3. Vi sono familiari affetti
4. Sono presenti infezioni gravi e prolungate di origine batterica o fungina, o febbri inspiegate e ripetute
5. Si associano ulcere orali o gengiviti ricorrenti

6. Sono presenti anomalie congenite o coinvolgimento d'organo (ad es. insufficienza pancreatica)
7. È presente monocitosi persistente associata

La neutropenia su base genetica può essere isolata oppure associata ad altre manifestazioni d'organo che possono fornire importanti indizi diagnostici (Tabella 1). Nelle forme più gravi, è indicato il trattamento con filgrastim (G-CSF). Nella maggior parte di queste patologie, i pazienti sono a rischio di evoluzione verso mielodisplasia o leucemia mieloide. L'unico trattamento definitivo ad ora disponibile è il trapianto di cellule staminali ematopoietiche che viene proposto in una parte dei pazienti.

**Tabella 1.** Esempi selezionati di malattie genetiche associate a neutropenia congenita

	Gene più frequentemente implicati	Particolarità e manifestazioni extra immunologiche
<b>Neutropenia congenita grave</b>	ELANE	/
<b>Neutropenia ciclica</b>	ELANE	oscillazioni periodiche dei valori di neutrofili e monociti, con intervalli di circa 21 giorni
<b>Sindrome di Shwachman-Diamond</b>	SBDS	insufficienza pancreatica, anomalie scheletriche
<b>Malattia di Barth</b>	TAZ	cardiomiopatia congenita ad esordio precoce, ritardo di crescita e dello sviluppo, acidosi metabolica
<b>Sindrome WHIM (Warts, Hypogammaglobulinemia, Infection, Myelokathexis)</b>	CXCR4	linfopenia, ipogammaglobulinemia, quadro midollare di mielocatessi, suscettibilità a sviluppare infezioni batteriche e verruche

## Difetti della funzione dei granulociti neutrofili

Manifestazioni cliniche tipiche dei difetti dei fagociti (infezioni batteriche e fungine, difetto dell'integrità di barriera mucosale e cutanea) possono essere osservate anche in pazienti con numero di granulociti neutrofili normale o persino aumentato. In tal caso, deve essere sospettato un difetto della funzione dei neutrofili. I più comuni sono la malattia granulomatosa cronica e il difetto di adesione leucocitario.



## 】 *Difetti di adesione leucocitaria (Leukocyte Adhesion Deficiency, LAD)*

---

Si tratta di difetti correlati all'incapacità dei leucociti, pur presenti in numero normale, di raggiungere i siti di infezione.

La ritardata caduta del moncone ombelicale, oltre 14 giorni dalla nascita, è il segno più precoce e tipico, cui si associa difficoltà di guarigione delle ferite con scarsa produzione di pus. In corso di infezione è tipico osservare una leucocitosi neutrofila molto marcata, che può normalizzarsi tra i vari episodi.

Il più comune difetto è LAD I, dovuto a varianti in ITGB2 (*gene Integrin beta chain-2*), mentre nelle forme più rare si associano a disabilità intellettiva e gruppo sanguigno Bombay (LAD II), oppure a disordini scheletrici e dell'attività piastrinica (LAD III).

La diagnosi si basa sull'analisi citofluorimetrica mirata delle proteine di membrana responsabili del quadro di alterata motricità, e sul sequenziamento genetico. Il trapianto è salvavita nella LAD I e III, mentre solo raramente può essere proposto nella LAD II, in considerazione della grave disabilità neurologica dei pazienti.

## 】 *Difetti del burst ossidativo: malattia granulomatosa cronica (Chronic Granulomatous Disease, CGD)*

---

Difetti congeniti in geni codificanti le subunità del complesso NADPH ossidasi causano una ridotta produzione di specie reattive dell'ossigeno, inibendo la normale capacità di eliminazione dei microbi da parte dei fagociti. Questo meccanismo è alla base della CGD, caratterizzata clinicamente da suscettibilità a gravi infezioni batteriche e fungine, sia da infiammazione disregolata con manifestazioni intestinali Crohn-like e formazione di granulomi potenzialmente in tutti gli organi e tessuti. Gli accertamenti microbiologici possono rilevare batteri piogeni comuni e patogeni inusuali, come *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Nocardia spp.*, e specie fungine come *Aspergillus spp.* e *Candida spp.*

La forma X-linked, legata al gene CYBB (Xp21.1), è responsabile del 60-70% dei casi, mentre le forme autosomiche recessive sono più frequenti in popolazioni con alto tasso di consanguineità. I restanti casi sono a trasmissione autosomica recessiva e sono causati dalle mutazioni dei geni CYBA (16q24), NCF1 (7q11.23), NCF2 (1q25), e NCF4 (22q13.1).

I test diagnostici (NBT test o test alla deidrorodamina) si basano sulla quantificazione della capacità dei neutrofili di produrre ROS in seguito a stimolazione.

Il trattamento prevede profilassi antibatterica e antifungina, e gli episodi infettivi devono essere gestiti in maniera aggressiva, anche con trattamento chirurgico. Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche viene proposto a tutti i pazienti con donatore disponibile e la terapia genica è attualmente in studio per alcune forme di CGD.

### **Bibliografia essenziale**

- Bousfhia A, Moundir A et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol.* 2022 Oct;42(7):1508-1520.
- Dinuer MC. Disorders of neutrophil function: an overview. *Methods Mol Biol.* 2014;1124:501-15.
- Cardinale F, Baldassarre M et al. I difetti primitivi dei fagociti: dal sospetto diagnostico alla terapia. *Rivista di Immunologia e Allergologia pediatrica.* 2010 May. [https://www.siaip.it/upload/\\_Deficit%20primitivi%20dei%20fagociti.pdf](https://www.siaip.it/upload/_Deficit%20primitivi%20dei%20fagociti.pdf)
- Lanini LL, Prader S et al. Modern management of phagocyte defects. *Pediatr Allergy Immunol.* 2017;28(2):124.
- Dale D, How I manage children with neutropenia, *Br J Haematol* 2017 Aug;178(3):351-363.
- Fioreda F, Calvillo M et al. Congenital and acquired neutropenia consensus guidelines on diagnosis from the Neutropenia Committee of the Marrow Failure Syndrome Group of the AIEOP (Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica), *Pediatr Blood Cancer* 2011 Jul 15;57(1):10-7.
- Fioreda F, Calvillo M et al. Congenital and acquired neutropenias consensus guidelines on therapy and follow-up in childhood from the Neutropenia Committee of the Marrow Failure Syndrome Group of the AIEOP (Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica). *Am J Hematol* 2012 Feb;87(2):238-43.
- Etzioni A. Genetic etiologies of leukocyte adhesion defects. *Curr Opin Immunol.* 2009 Oct;21(5):481-6. doi: 10.1016/j.coi.2009.07.005. Epub 2009 Aug 3.
- Rider NL, Jameson MB, Creech CB. Chronic Granulomatous Disease: Epidemiology, Pathophysiology, and Genetic Basis of Disease. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018 May 9;7(suppl\_1):S2-S5.
- Dinuer MC. Inflammatory consequences of inherited disorders affecting neutrophil function. *Blood.* 2019 May 16;133(20):2130-2139. doi: 10.1182/blood-2018-11-844563. Epub 2019 Mar 21.



## 7.2. DIFETTI DEL COMPLEMENTO E ANGIOEDEMA

**Lucia Leonardi, Andrea Zanichelli**

Il sistema del complemento (SC) comprende oltre 50 proteine plasmatiche, solubili e trans-membrana, che complementano le funzioni dell'immunità adattativa e innata.

Le funzioni principali del SC includono la eliminazione di micorganismi, cellule apoptotiche e immunocomplessi attraverso i processi di opsonizzazione, chemiotassi e lisi delle cellule target. Inoltre, il SC promuove la produzione anticorpale e la memoria immunologica favorendo il cross-talk tra immunità innata e adattativa.

Anche diverse funzioni fisiopatologiche extraimmunologiche del SC sono state recentemente descritte.

Il SC è in grado di svolgere tutte le sue funzioni tramite l'attivazione di tre diverse vie enzimatiche (storicamente note come classica, alternativa e della lectina) con meccanismo di proteolisi enzimatica sequenziale (a cascata) di precursori inattivi che convergono nella scissione e attivazione di C3 e C5, i due fattori principali del CS, con conseguente rilascio di frammenti attivi (C3a e C5a, C3b e C5b) che fungono rispettivamente da anafilotossine o favoriscono l'opsonizzazione. L'attivazione di C3 e C5, infine, induce la formazione del complesso di attacco alla membrana (*Membrane Attack Complex, MAC*) composto dall'assemblaggio sequenziale di C5b, C6, C7, C8 e molte copie di C9, il cui ruolo è quello di indurre la lisi di cellule batteriche o di cellule umane atipiche (ad esempio le cellule cancerose).

Tali meccanismi a cascata sono strettamente controllati da parte di una estesa gamma di proteine regolatrici sia solubili che legate alla membrana con l'obiettivo di limitare il danno immunomediato dal sistema del complemento all'ospite. L'attivazione delle tre vie del complemento avviene in modo distinto:

- ▶ **La via classica (C1q, C1r, C1s, C2, C4)** viene innescata dall'attivazione delle subunità della proteina plasmatica C1 (*q, r e s*) dopo il legame di C1q a immunocomplessi (anticorpi IgG, IgM legati ad antigeni virali, batterici o autoantigeni) a cellule apoptotiche o a micorganismi.
- ▶ **La via della lectina** è attivata dall'interazione della proteina MBL (*Mannose-Binding-Lectin*) che riconosce residui di mannosio terminali su glicoproteine e glicolipidi esposti sulla superficie delle cellule batteriche.

► **La via alternativa (fattori D, B, properdina)** è attivata dall'idrolisi spontanea e continua del fattore C3 o secondaria al riconoscimento di strutture microbiche di superficie come l'LPS dei batteri Gram negativi.

È quindi lecito sospettare un difetto del sistema complemento in pazienti con infezioni ricorrenti da parte di batteri capsulati, infezione invasiva da *Neisseria meningitidis*, autoimmunità. I difetti dei regolatori del complemento sono responsabili di un quadro di iper-attivazione immunologica con conseguenti disordini specifici. Particolare importanza in età pediatrica rivestono la sindrome emolitico-uremica atipica e il difetto di C1 inibitore.

I difetti congeniti del complemento hanno una prevalenza dello 0,03% nella popolazione generale, rappresentando il 5% di tutti gli errori congeniti del sistema immunitario, ad eccezione del deficit di MBL che si riscontra nel 10% della popolazione generale. La trasmissione è prevalentemente autosomica recessiva e sono associati ad un ampio spettro di condizioni cliniche che esordiscono frequentemente durante l'infanzia.

Sono stati descritti difetti congeniti, riportati in modo esemplificativo in Tabella 2, per quasi tutti i fattori complementari delle tre vie enzimatiche e dei fattori regolatori.

Le conseguenze cliniche di questi difetti si esprimono come aumentata suscettibilità alle infezioni ricorrenti ed invasive causate da microrganismi capsulati, manifestazioni autoimmuni (in particolare il lupus eritematoso sistemico).

I principali difetti del Sistema del Complemento e le relative manifestazioni cliniche sono riassunti nella Tabella 2.

Nello specifico, i **difetti dei fattori complementari precoci della via classica** (C1q, C1r, C1s, C2, C4) aumentano significativamente il rischio di malattie autoimmuni, soprattutto LES, spesso a esordio precoce, con predominante coinvolgimento cutaneo e talvolta basso titolo anti-DNA ed elevati anti-Ro (SSA). Sono anche descritte forme Lupus like, dermatomiosite, glomerulonefrite, artrite idiopatica giovanile e porpora di Shonlein-Henoch. La patogenesi è dovuta al deposito di immunocomplessi nei vasi capillari e successiva infiammazione tissutale.

Il 50% dei pazienti con deficit della via classica può anche presentare infezioni batteriche gravi, tra cui meningite, polmonite, osteomielite o setticemia, causate in particolare da batteri capsulati, più comunemente *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*.





**Tabella 2.** Principali difetti ereditari del sistema del complemento e sintomatologia clinica

Difetti ereditari del Sistema del Complemento (ICDS)		
Fattori deficitari	Trasmissione	Principali segni e sintomi
Via classica (C1a, C1r, C1s, C2, C4)	AR	Malattie autoimmuni del connettivo (es. LES); infezioni batteriche gravi da batteri capsulati (es. <i>Streptococcus Pneumoniae</i> ); otiti e bronchiti ricorrenti
C3/C3 Gof	AR/AD	Deficit C3: infezioni gravi da batteri capsulati ( <i>Haemophilus influenzae</i> e <i>Neisseria meningitidis</i> ) C3 Gof: sindrome emolitico uremica atipica (aHUS)
Via terminale (C5, C6, C7, C8, C9)	AR	Infezioni ricorrenti sistemiche da <i>Neisseria meningitidis</i>
Via della lectina (MBL, M-ficolina, L-ficolina, H-ficolina, CL-11, MASP)	AR	Disturbi autoimmunitari; infezioni batteriche e virali ricorrenti
Via alternativa (fattore D, fattore B, properdina)	AR (Properdina X-linked)	Infezioni piogeniche gravi e ricorrenti Deficit di Properdina: meningite meningococcica severa
C1 inibitore (C1-INH)	AD	Angioedema ereditario (HAE)

## Difetti dei componenti della via terminale

I difetti di uno dei componenti della via terminale (C5-C9) predispongono prevalentemente ad infezioni ricorrenti sistemiche da *Neisseria*, il cui quadro clinico in genere si differenzia rispetto a quello del soggetto sano per l'insorgenza più tardiva dell'infezione e per il decorso più lieve della malattia. Inoltre, peculiarità delle infezioni meningococciche di questi pazienti è il coinvolgimento di sierotipi di *Neisseria meningitidis* meno frequenti nei soggetti sani (W-135, X, Y o Z). Per tali motivi, si ritiene che probabilmente i difetti della via terminale siano sottostimati nella maggior parte dei soggetti affetti.

## Deficit di C3

Il deficit di C3 predispone ad infezioni gravi da batteri capsulati, soprattutto *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis* con prognosi grave in assenza di tempestivo trattamento. Il quadro clinico tipico del deficit di C3, si può avere anche in caso di carenza di uno dei componenti precoci del complemento o in caso di deficit di C3 secondario a carenze nei regolatori della via alternativa (fH o fI).

## **Deficit della via lectinica (MBL, M-ficolina, L-ficolina, H-ficolina, CL-11, MASP)**

Tutti i deficit della via lectinica sono piuttosto rari fatta eccezione del deficit di MBL (di scarso significato clinico negli adulti se non associato a altri difetti immunitari), ma che solitamente nei bambini predispone invece a frequenti infezioni batteriche e virali.

## **Difetti della via alternativa (fattori D, B, Properdina)**

I deficit di fB o fD sono rari, ma responsabili di infezioni piogeniche gravi e ricorrenti, il che rende imperativa la più precoce possibile identificazione dei soggetti affetti. Il deficit di Properdina, unico regolatore positivo nel sistema del complemento, è anche l'unico difetto del SC ereditario legato all'X la cui presentazione clinica tipica è la meningite meningococcica grave, spesso con setticemia all'esordio. La prima infezione meningococcica invasiva è spesso fatale, al contrario, in caso di sopravvivenza, le infezioni ricorrenti sono infrequenti grazie allo sviluppo di una adeguata risposta anticorpale antimeningococcica.

## **Difetti dei regolatori**

### Difetto fattore H o I

Una particolare menzione per il pediatra merita il difetto dei fattori H o I, regolatori della cascata alternativa che sono responsabile di SEU atipica. Solitamente causata, nella sua forma tipica, dalla tossina Shiga dell'*Escherichia coli*, la sindrome emolitico-uremica atipica è una microangiopatia trombotica che colpisce principalmente i reni, in cui i depositi di C5b-C9 danneggiano l'endotelio glomerulare.

### Deficit di C1 inibitore (C1-INH)

Il deficit di C1 inibitore (C1-INH) è responsabile dell'angioedema ereditario (*hereditary angioedema*, HAE), malattia genetica, dovuta ad una mutazione sul gene per il C1-INH, a trasmissione autosomica dominante, con una prevalenza nella popolazione generale di 1:50.0000. Nella maggior parte dei casi (75%) è presente una storia familiare di angioedema anche se il 25% dei pazienti può presentare una mutazione *de novo* e quindi la storia familiare è assente.

Il C1-INH oltre ad essere il principale inibitore della via classica e delle lectine, è il principale inibitore dell'attivazione del sistema di contatto e delle chinine. In



caso di deficit di C1 INH, quindi, il sistema di contatto e delle chinine si attivano con conseguente produzione di bradichinina che è il mediatore dell'aumento della vasopermeabilità e della formazione dell'edema nell'angioedema ereditario. Per tale motivo, l'HAE non può essere considerato un difetto del SC in senso stretto, in quanto il deficit di C1 INH non sembra avere un effetto sul SC. Da segnalare che i pazienti con HAE oltre ad avere bassi valori di C1 inibitore hanno nella maggior parte dei casi bassi valori di C4 e ciò è dovuto all'attivazione della via classica del SC e al consumo di C4. Anche se viene classificato come un'immunodeficienza i pazienti con HAE non hanno un deficit del SC e del sistema immunitario.

Nella maggior parte dei casi (85%) l'HAE è causato da deficit quantitativo di C1-INH (HAE tipo I), mentre solo nel 15% dei pazienti si ha produzione di una proteina quantitativamente normale ma non funzionante (HAE tipo II).

Gli episodi di angioedema esordiscono nella maggior parte dei casi intorno alla pubertà. Anche se è possibile che i pazienti inizino ad essere sintomatici già dall'infanzia.

Il quadro clinico è caratterizzato da episodi ricorrenti di edema sottocutaneo e/o sottomucoso non pruriginoso, non associato ad orticaria (come invece nel caso dell'angioedema istaminergico che si associa solitamente a orticaria) della durata di solito di 24-72 ore ma in alcuni casi anche fino a 5 giorni. In alcuni casi gli episodi di angioedema possono essere preceduti dalla comparsa di eritema marginato che poi tende a regredire una volta che si manifesta l'angioedema. Dal momento che l'HAE non è mediato dall'istamina ma dalla bradichinina i sintomi rispondono al trattamento con cortisonici ed antistaminici ma devono essere impiegati farmaci specifici per questa forma di angioedema.

Gli edemi si localizzano:

- 1) alla cute (labbra, volto, mani, piedi, arti superiori e inferiori, genitali),
- 2) all'addome con edema della mucosa del tratto gastroenterico che determina crisi di dolori addominali a volte molto intensi accompagnati anche da vomito e/o diarrea, e che possono mimare un addome acuto ed entrare in diagnosi differenziale con un quadro di peritonite o di occlusione addominale,
- 3) alla mucosa oro-faringo-laringea determinando edemi della mucosa orale, della lingua, del palato molle o dell'uvula e nei casi più gravi edema della faringe con rischio di soffocamento se non trattato prontamente con i farmaci specifici.

Gli episodi di edema possono verificarsi spontaneamente o essere scatenati da alcuni trigger quali infezioni, traumi, stress psicofisici. Non essendo una forma di

angioedema allergico i farmaci non sono un fattore scatenante a parte gli estrogeni e gli ACE-inibitori che quindi sono da evitare. Per il resto i pazienti con HAE possono assumere qualunque tipo di farmaco.

La diagnosi dell'HAE prevede il dosaggio del C1 inibitore funzionale che risulta sempre al di sotto del 50% del valore di normalità in tutti i pazienti con HAE tipo I e tipo II. Anche il C1 inibitore quantitativo risulta ridotto nei pazienti con il tipo I mentre nei pazienti con il tipo II è normale ed è ridotto solo il C1 inibitore funzionale. Nella maggior parte dei pazienti, sia con tipo I che con tipo II, i valori di C4 sono ridotti mentre quelli di C3 sono nella norma.

### Highlight box

- L'angioedema ereditario da deficit di C1 inibitore può essere scambiato con altre forme di angioedema come, per esempio, un angioedema allergico o un angioedema nel contesto di un'orticaria cronica istaminergica.
- Un criterio clinico utile per distinguere l'angioedema ereditario dalle altre forme di angioedema è che non si accompagna ad orticaria
- Nell'angioedema ereditario sono spesso presenti episodi di addominalgia (dovuti a edema della mucosa gastrointestinale) e che non riconoscono una chiara causa
- L'angioedema ereditario non risponde alla terapia standard con cortisone ed antistaminici in quanto non è mediato dall'istamina ma dalla bradichinina e deve quindi essere trattato con farmaci specifici, quali icatibant o il derivato plasmatico di C1 inibitore
- Nella maggior parte dei pazienti è presente una familiarità per angioedema
- Per fare una diagnosi di angioedema da deficit di C1 inibitore è necessario dosare il C1 inibitore

### Strategie diagnostiche

La diagnosi dei difetti del complemento è limitata a causa di una scarsa conoscenza dei **campanelli d'allarme** di questi disordini che si possono riassumere in:

- ▶ episodio di meningite meningococcica in bambini di età >5 anni,
- ▶ infezioni batteriche sistemiche ricorrenti da batteri capsulati (in particolare *Streptococcus pneumoniae* e, più raramente, malattia gonococcica),



- 】 malattie autoimmuni (in particolare LES) a esordio precoce,
- 】 angioedema senza orticaria,
- 】 disturbi infiammatori a coinvolgimento renale o oculare,
- 】 Infezioni insolite (ad es. epiglottite nonostante la vaccinazione contro *Haemophilus influenzae* di tipo b e/o infezioni gravi e ricorrenti da batteri capsulati).

La conferma diagnostica di un difetto del SC prevede l'analisi dello stato di attivazione delle diverse vie mediante saggi antigenici e funzionali. I fattori complementari più comunemente dosati sono C3 e C4, mentre lo studio funzionale più comune è il complemento emolitico totale (CH50) che quando basso o nullo può derivare da un deficit genetico di una o più fattori della via classica del complemento. Riduzioni meno significative di CH50 si osservano nei processi patologici secondari alla formazione di immunocomplessi, nelle infezioni e nei bambini di età inferiori ai 18 mesi. Il dosaggio del CH50 richiede un'appropriata raccolta, elaborazione e conservazione dei campioni, a causa dell'instabilità di diverse proteine del complemento.

La misura dell'attività funzionale della via alternativa è data invece dal dosaggio dell'**AH50**, che è indicato nello studio di alcune malattie renali nell'infanzia (microangiopatia trombotica o glomerulonefrite). Inoltre, un AH50 molto basso o non rilevabile si verifica in pazienti con deficit di fattore B o fattore D. Valori molto bassi sia di AH50 che CH50 sono suggestivi invece di deficit della via terminale. La determinazione della concentrazione di singoli fattori con l'analisi citometrica a flusso e l'analisi molecolare forniranno informazioni sullo specifico difetto del complemento coinvolto. Per valutare la funzione del complemento in modo indiretto si possono impiegare i test di attività opsoninica, chemiotattica o battericida del siero. Tuttavia, la maggior parte di questi esami può essere eseguita solo in Centri altamente specializzati.

## Gestione e trattamento

La diagnosi precoce di molti difetti del complemento consente sia la prevenzione delle infezioni, anche potenzialmente fatali, sia l'identificazione di eventuali familiari portatori del deficit prima dell'insorgenza dei sintomi.

La prevenzione delle infezioni si attua con:

- 】 profilassi antibiotica;
- 】 somministrazione del vaccino antimeningococcico e antipneumococcico (con schemi personalizzati); i soggetti a rischio devono inoltre essere sottoposti a tutte le vaccinazioni di routine e non hanno alcuna controindicazione alla somministrazione di vaccini vivi attenuati;
- 】 sensibilizzazione sui sintomi da riconoscere tempestivamente per prevenire decorso più grave ed infausto.

Alcuni difetti possono inoltre beneficiare di terapie specifiche: nel caso di SEU atipica è indicato l'utilizzo di eculizumab, anticorpo monoclonale umanizzato che si lega al componente C5 del complemento in grado di inibire l'attivazione della cascata terminale.

Sono inoltre disponibili terapie sia per il trattamento che la profilassi degli attacchi di angioedema ereditario.

Il trattamento di HAE prevede sia trattamenti profilattici che di emergenza:

- 】 trattamenti on demand, al bisogno in caso di attacco per risolvere i sintomi di angioedema il prima possibile
- 】 trattamenti di profilassi per ridurre il numero e la gravità delle recidive di angioedema nei pazienti con frequenti attacchi e quindi per ridurre il peso della malattia e migliorare la qualità di vita.

Tra i farmaci al bisogno da utilizzare in caso di attacco ci sono:

- 】 icatibant per via sottocutanea, un antagonista del recettore della bradichinina, che blocca quindi l'azione della bradichinina e la formazione dell'edema;
- 】 il concentrato plasmatico di C1 inibitore da somministrare per via endovenosa.

I pazienti con HAE devono avere sempre a disposizione due trattamenti per gli attacchi acuti. L'efficacia dei farmaci nel far regredire velocemente i sintomi è maggior se utilizzati subito all'inizio dei sintomi. Tali farmaci devono essere sempre somministrati prontamente in caso di edema della laringe per il rischio di soffocamento.

Per i farmaci per la profilassi a lungo termine al momento per i pazienti pediatrici è approvato solo il C1 inibitore plasmatico da somministrare in maniera programmata 2 volte alla settimana. A breve dovrebbe essere approvato anche il lanadelumab, un farmaco biologico, un anticorpo anti-kallikraina attivata, molto efficace nel prevenire le recidive di angioedema, già approvato per gli adolescenti dai 12 aa, da somministrare per via sottocutanea ogni 2 o 4 settimane.



## Bibliografia essenziale

- Leonardi L, La Torre F, Soresina A, et al. Inherited defects in the complement system. *Pediatric Allergy and Immunology*;2022;33(27):73-76.
- Romano R, Giardino G, Cirillo E, Prencipe R, Pignata C. Complement system network in cell physiology and in human diseases. *Int Rev Immunol*. 2021;40(3):159-170.
- Grumach AS, Kirschfink M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance, and modern diagnostic approach. *Mol Immunol*. 2014;61(2):110–7.
- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Immunologia cellulare e molecolare*. Settima edizione.
- Liszewski MK, Atkinson JP, Schur PH, Marsh R. Overview and clinical assessment of the complement system. Uptodate. Jun 02, 2023.
- Busse PJ, Christiansen SC. Hereditary angioedema. *N Engl J Med* 2020;382(12):1136–1148
- Farkas H, Martinez-Saguer I, Bork K, et al. International consensus on the diagnosis and management of pediatric patients with hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency. *Allergy* 2017;72(2):300–313.
- Zanichelli A, Arcoletto F, Barca M, et al. A nationwide survey of hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency in Italy. *Orphanet J Rare Dis* 2015;10:11.
- Zanichelli A, Longhurst HJ, Maurer M, et al. Misdiagnosis trends in patients with hereditary angioedema from the real-world clinical setting. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016;117:394– 8.
- Maurer M, Magerl M, Betschel S, et al. The international WAO/ EAACI guideline for the management of hereditary angioedema: the 2021 revision and update. *Allergy* 2022 Jul;77(7):1961-1990.

### 7.3. IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE SUSCETTIBILI A UNO SPETTRO RISTRETTO DI PATOGENI

**Caterina Cancrini, Francesca Conti, Beatrice Rivalta, Alberto Tommasini**

Grazie a studi clinici, epidemiologici e su modelli biologici *in vitro*, individuando una suscettibilità ristretta solo ad alcune specifiche infezioni in soggetti che non presentavano un quadro di immunodeficienza classica, si è consolidata la teoria della genetica delle malattie infettive che ha gradualmente rivoluzionato il panorama delle conoscenze scientifiche. Secondo questa teoria, la suscettibilità ad infezioni causate da un ristretto spettro di patogeni, con carattere di invasività e/o che minacciano la sopravvivenza del paziente per la loro gravità, in individui altrimenti sani, costituisce un elemento di allarme per sospettare forme di suscettibilità genetica a tali infezioni.

La **suscettibilità specifica** ad alcuni germi, inoltre, ha permesso di delucidare molti meccanismi cruciali dell'immunità innata ed in alcuni casi di evidenziare il ruolo essenziale di alcune molecole coinvolte specificatamente nel controllo delle varie infezioni (Tabella 3).

#### **Infezioni dovute a uno spettro ristretto di patogeni/ad un solo microrganismo**

Negli ultimi 25 anni sono state individuate immunodeficienze "non convenzionali", caratterizzate dalla suscettibilità ad un patogeno specifico o ad un numero ristretto di patogeni, in assenza di alterazioni immunologiche maggiori; un esempio è la sindrome mendeliana di suscettibilità alle infezioni micobatteriche (MSMD) caratterizzata dallo sviluppo di forme gravi, disseminate, ricorrenti, da parte di micobatteri tubercolari e/o non tubercolari. Ad oggi sono stati descritti più di 11 deficit genetici responsabili della MSMD, coinvolti nella pathway IL-12/IFN $\gamma$  e/o nel burst ossidativo dei fagociti, cruciali nella risposta ai micobatteri.

Alcuni IEI sono alla base di un'aumentata *suscettibilità specifica alle infezioni da EBV*. L'incapacità di risolvere l'infezione, per alterata funzione dei linfociti T e/o NK (es. sindrome di Chédiak-Higashi e difetto del gene LYST, deficit della perforina, etc.), possono portare ad una protratta iperattivazione con una conseguente tempesta citochinica e a gravi forme di linfocitiosi emofagocitica (HLH), o come nel caso di X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP1/2), a forme proliferative gravi e fulminanti o a forme di attivazione macrofagica. In altri casi, il difetto di attivazione dei linfociti T ed





NK (es. *immunodeficienza legata all'X con deficit di magnesio, infezione da virus di Epstein-Barr e neoplasia* [MAGT1], immunodeficienza combinata da deficit di ITK, CD27/70) e il conseguente mancato controllo dell'infezione dei linfociti B determinano il persistere di una proliferazione delle cellule B incontrollata con alto rischio di sviluppare proliferazioni policlonali o a forme monoclonali.

Recentemente sono stati identificati, in altre forme di immunodeficienza, diversi meccanismi che contribuiscono all'instaurarsi di infezioni ricorrenti e croniche, inclusa quella da EBV, che nel tempo possono favorire l'insorgenza di malattie linfoproliferative e linfomi. Questo accade ad esempio nella Sindrome da attivazione PI3K-delta (APDS1/2), una rara immunodeficienza combinata (vedi anche Capitolo 4.4) dovuta ad una iperattivazione della chinasi PI3K. Nei soggetti con APDS, l'esaurimento della funzione dei linfociti T associata all'alterata maturazione delle cellule B target dell'EBV, contribuiscono all'insorgenza di infezioni croniche da EBV e al rischio di linfoproliferazione.

Tra gli IEI caratterizzati da suscettibilità a un solo microrganismo abbiamo anche i difetti di produzione o di attività degli interferoni di tipo I e III, che sono responsabili di quadri di polmonite grave in corso di infezioni da influenza o SARS-CoV-2 oppure di quadri di encefalite da Herpes simplex (HSV). Gli *interferoni* sono un gruppo di citochine prodotte da linfociti e macrofagi ma anche da cellule tissutali in risposta a differenti agenti infettivi, tra cui virus e batteri.

L'IL-17 è una citochina con ruolo centrale nel controllo dell'infezione da Candida. Difetti nella pathway dell'IL-17 sono responsabili di specifiche infezioni mucocutanee ed ungueali croniche da Candida.

In alcuni disordini autoimmuni e in IEI associati ad autoimmunità, la produzione di autoanticorpi contro l'INF-1 o l'IL-17 può determinare la suscettibilità a queste infezioni in quadri clinici più complessi come nella APECED (*Autoimmune Polyendocrinopathy, Candidiasis and Ectodermal Dystrophy*; poliendocrinopatia autoimmune con candidosi) o in forme definite "fenocopie". Questi disordini, indistinguibili dalle immunodeficienze geneticamente determinate, si caratterizzano per la produzione di autoanticorpi che rendono quel soggetto più suscettibile a quel tipo di infezione (es. presenza di autoanticorpi anti INF-1 nei soggetti con forme gravi da infezione da SARS-CoV2).

Infine, difetti nei geni che codificano per il complesso EVER1/EVER2/CIB1 espresso nei cheratinociti e coinvolto nel trasporto intracellulare dello zinco rendono permissiva la cellula epiteliale all'infezione da alcuni tipi di HPV con infezioni estese e croniche da b-HPV ed alto rischio di carcinoma (per approfondire <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30068544/>).

## Il ruolo del pediatra

Seguendo il paziente e il nucleo familiare nel tempo il pediatra può riconoscere le caratteristiche di ricorrenza, cronicità e/o gravità delle infezioni potenzialmente suggestive per IEI.

Il riconoscimento di questi pazienti si può tradurre in una precoce e adeguata terapia delle infezioni acute, nell'applicazione di una corretta profilassi, riducendo il carico di comorbidità correlate alle infezioni e alla disregolazione immunitaria IEI-relata che può associarsi in queste condizioni.

Gli elementi clinici indicativi di suscettibilità a batteri piogeni IEI-relata sono:

- Almeno un'infezione da piogeni grave, critica, potenzialmente letale, sia sistemica (batteriemia) sia focale (meningite, polmonite, ascessi cerebrali profondi, peritoneali, epato-splenici o muscolari, artrite, osteomielite).
- Almeno due episodi di infezioni mucocutanee stafilococciche diffuse/gravi (follicolite decalvante, blefarite, pustole, foruncolosi, cellulite, ascessi e linfadenite suppurativa).

### Elementi clinici indicativi di suscettibilità ai funghi IDP-relata

- Candidosi mucocutanea cronica (CMC)
- Candidosi invasiva o fungemia non correlate a cateteri centrali
- Infezioni micotiche invasive del sistema nervoso centrale, respiratorie, addominali, osteo-articolari e/o mucocutanee
- Coltura fungina persistentemente positiva nonostante terapia antimicotica appropriata
- Dermatofitosi dermiche e linfonodali profonde/estese
- Infezione da lieviti e muffe rare.

### Elementi clinici suggestivi di MSMD

- Verificarsi di infezioni gravi, persistenti, ricorrenti da micobatteri tubercolari/non tubercolari, compresi i ceppi vaccinali di bacillo di Calmette-Guérin (BCG-osi/-ite).

### Elementi clinici indicativi di suscettibilità ai virus IDP-relata

- Infezione grave del sistema nervoso centrale da HSV o varicella
- Infezione disseminata da CMV
- Emofagocitosi e/o linfoproliferazione persistente/maligna da EBV



- Sarcoma di Kaposi correlato all'Herpes virus umano 8 (HHV8)
- Rombencefalite infantile grave da enterovirus
- Sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) secondaria a infezione primaria da influenza A
- Infezioni ricorrenti da enterovirus, rhinovirus e virus respiratorio sinciziale (VRS) del tratto respiratorio/gastro-intestinale che richiedono ricovero prolungato e supporto avanzato delle funzioni vitali
- ARDS e/o sindrome infiammatoria multisistemica (MIS-C) correlata a SARS-CoV-2
- Epatite A fulminante
- Infezioni gravi da ceppi vaccinali vivi attenuati
- Sindrome dell'uomo-albero, carcinoma mucocutaneo, verruche cutanee e/o condilomi/papillomatosi diffusi/ricorrenti correlati all'infezione da b-HPV.

In caso di infezioni gravi o ricorrenti, in particolare quando causate da uno spettro ristretto di agenti patogeni, anche in bambini altrimenti sani, indipendentemente dall'età, dalla storia infettiva familiare, è opportuno uno screening immunologico (emocromo, dosaggio IgG, IgA, IgM, IgE totali, sottopopolazioni linfocitarie, dosaggio elettroliti con calcio e fosforo, screening autoimmunità con funzionalità tiroidea, celiachia e ANA).

In presenza di anamnesi suggestiva, anche con esami normali è opportuna una valutazione immunologica approfondita ed eventualmente genetica.

## Conclusioni

La suscettibilità specifica ad alcuni germi (virus, batteri, funghi), in termini di cronicità o gravità dell'infezione, può sottendere specifici difetti del sistema immunitario, non sempre evidenti ad una valutazione immunologica standard. La mancanza di biomarcatori che indirizzino il clinico verso il sospetto diagnostico costituisce uno degli elementi principali che contribuiscono al ritardo diagnostico insieme all'assenza di percorsi clinici standardizzati che codifichino i criteri di selezione dei pazienti. La diagnosi definitiva di questi disordini sfugge alla diagnostica standard ed è possibile nella pratica clinica, solamente attraverso l'utilizzo di indagini molecolari e/o di ricerca di autoanticorpi anti-citochine, valutazioni attualmente disponibili solo in pochi centri in Italia e all'estero.

Lo studio di questi IEL permette di indentificare meccanismi essenziali nel controllo di queste infezioni.

Diagnosticare questi disordini è fondamentale per garantire profilassi antimicrobiche e ove possibile trattamenti mirati evitando lo sviluppo di complicanze.

**Tabella 3.** Principali difetti genetici responsabili di suscettibilità specifica a differenti infezioni e relative manifestazioni cliniche


Spettro di suscettibilità	Germe	Difetto genetico	Via del segnale	Presentazione clinica
Virus	<b>β-HPV</b>	EVER1, EVER2, CIB1	Complesso che interferisce con la replicazione virale nel cheratinocita	Epidermodisplasia verruciforme: infezione cronica e disseminata con alto rischio di carcinoma
	<b>CMV</b>	NOS2	Sintesi dell'ossido nitrico	Infezione da CMV disseminata
	<b>EBV</b>	XLP1/2, perforin/PERF deficiency, LYST, UNC13D (Munc13-4), RAB27A, RASGRP1	Funzione T/NK	Linfoistiocitosi emofagocitica
		Deficit MAGT1, ITK, CTPS1, CD70, CD27, TNFSFR9	Funzione T/NK	Linfoproliferazione e linfoma
	<b>Enterovirus, Rhinovirus e VRS</b>	DBR1, IFIH1, TLR3	Immunità innata e intrinseca	Rombencefalite grave Infezioni respiratorie/gastrointestinali ricorrenti severe
	<b>HHV8</b>	TNFRSF4	Replicazione virale	Sarcoma di Kaposi
	<b>HSV</b>	TLR3	INF- $\alpha/\beta$ (tipo I)	Encefalite
	<b>Influenza A</b>	IRF7/9	INF- $\alpha/\beta/\gamma$ (tipo I e III)	Polmonite grave
	<b>Morbillo, Parotite, Rosolia</b>	IFNAR1, IFNAR2, IRF9, STAT2	INF- $\alpha/\beta/\gamma$ (tipo I e III)	Infezioni gravi da ceppi vaccinali
	<b>SARS-CoV-2</b>	TLR3, IRF7	INF- $\alpha/\beta/\gamma$ (tipo I e III)	Polmonite grave
	<b>VZV</b>	POLR3A, POLR3C, POLR3F, FCGR3A	Sintesi RNA Amplificazione dell'infezione virale anticorpo-dipendente	Infezioni gravi del SNC



Spettro di suscettibilità	Germe	Difetto genetico	Via del segnale	Presentazione clinica
<b>Micobatteri</b>	<b>Micobatteri tubercolari e non tubercolari, BCG</b>	FNGR1, IFNGR2, IFNG, IL12RB1, IL12RB2, IL23R, IL12B, ISG15, USP18, ZNFX1, TBX21, STAT1, TYK2, IRF8, CYBB, JAK1, RORC, NEMO, SPPL2A	Asse IL-12/INF-g (tipo II)	BCG-ite, BCG-osi e infezioni gravi da micobatteri poco virulenti
<b>Funghi</b>	<b>Candida</b>			Candidosi mucocutanea cronica  Candidosi invasiva
	<b><i>Coccidioides, Paracoccidioides, Cryptococcus, Histoplasma, Pneumocystis, Aspergillus, Talaromyces, Mucormycetes, Blastomyces</i></b>	IL-17F, IL-17RA, IL-17RC, TRAF3IP2, MAPK8, RORC, STAT1, STAT3, IRF8, CARD9	Asse IL-17/IL-22  Asse IL-12/INF-γ (tipo II)	Infezioni fungine invasive (seni nasali, polmoni, SNC, ossa, articolazioni, fegato, milza)
<b>Batteri piogeni</b>	<b><i>Staphylococcus, Streptococcus, Haemophilus, Moraxella, Salmonella, Pseudomonas, Nocardia, Serratia, Burkholderia</i></b>	RPSA, HMOX, GJA1, ZIC3, IRAK1, IRAK4, MYD88, TIRAP, IL-17RA, STAT1, TLR8, OTULIN, IRF4	Toll-like receptor (immunità innata)  IL-6/STAT3/IL-17 (immunità adattativa)  Sistema ubiquitina-proteosoma	Infezione piogeniche gravi, critiche, potenzialmente letali, sia sistemiche sia focali  Infezioni stafilococche mucocutanee diffuse/gravi

**Bibliografia essenziale**

- Tangye SG, Latour S. Primary immunodeficiencies reveal the molecular requirements for effective host defense against EBV infection. *Blood* 2020;135(9):644–655.
- Latour S, Fischer A. Signaling pathways involved in the T-cell-mediated immunity against Epstein-Barr virus: Lessons from genetic diseases. *Immunol Rev* 2019;291(1):174–189.
- Carpiert JM and Lucas CL (2018) Epstein–Barr Virus Susceptibility in Activated PI3Kδ Syndrome (APDS) Immunodeficiency. *Front. Immunol.* 8:2005.
- Casanova JL, Abel L. From rare disorders of immunity to common determinants of infection: Following the mechanistic thread. *Cell* 2022;185(17):3086–3103.
- de Jong SJ, Créquer A, Matos I, et al. The human CIB1–EVER1–EVER2 complex governs keratinocyte-intrinsic immunity to β-papillomaviruses. *J Exp Med* 2018;215(9):2289–2310.
- Casanova JL. Severe infectious diseases of childhood as monogenic inborn errors of immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(51):E7128–E7137.
- Notarangelo LD, Bacchetta R, Casanova J-L, Su HC. Human inborn errors of immunity: An expanding universe. *Sci Immunol* 2020;5(49):eabb1662.
- Hernandez N, Melki I, Jing H, et al. Life-threatening influenza pneumonitis in a child with inherited IRF9 deficiency. *J Exp Med* 2018;215(10):2567–2585.
- Moratti M, Conti F, Giannella M, et al. How to: Diagnose inborn errors of intrinsic and innate immunity to viral, bacterial, mycobacterial, and fungal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2022 Nov;28(11):1441-1448.
- Moratti M, Zama D, Conti F. Molecular pathways involved in human genetic susceptibility to infections: from the bedside to the bench: Genetic susceptibility to infections. *Rivista Di Immunologia E Allergologia Pediatrica* 2023;37(1).



## 8. LE IMMUNODEFICIENZE PER PROBLEMI. L'APPROCCIO PER PROBLEMI AL PAZIENTE E IL SOSPETTO DIAGNOSTICO NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA

---

**Michele Fiore**

Nei capitoli precedenti gli autori hanno messo in luce... un pezzetto della faccia nascosta della luna: la presentazione "anomala", meno nota tra i non addetti ai lavori, degli IEI.

Tutti ci aspettiamo che un bambino affetto da IEI soffra di infezioni, più o meno gravi, da anni ormai però sappiamo che questa tipologia di presentazione non è l'unica (e forse ... neanche la più comune, considerando globalmente la frequenza degli IEI cosiddetti "atipici" o "non convenzionali"). Nel 2008 Pignata e collaboratori hanno scritto un articolo – già dal titolo "I quattro paradossi delle nuove immunodeficienze congenite" - molto esemplificativo per il pediatra generalista, da questo punto di vista. Allo stesso tempo, esperti del settore, immunologi pediatri sottolineano da anni l'importanza del riconoscimento precoce dei segni di presentazione espressione di immunodisregolazione, che ci devono portare a sospettare un IEI. Si va dalle, oramai note, manifestazioni autoimmuni e/o autoinfiammatorie (ad es. citopenie autoimmuni, artriti idiopatiche, tiroidopatia autoimmune, forme cutanee come psoriasi o vitiligine) a forme caratterizzate da alterazione dei meccanismi di apoptosi (morte cellulare programmata) che possono portare allo sviluppo di forme di replicazione cellulare incontrollata (es. tumori, leucemie, forme linfoproliferative).

Questo capitolo ha lo scopo di riassumere i segni e sintomi degli IEI considerando i vecchi e nuovi campanelli di allarme ma soprattutto offrendo un taglio pratico, fruibile sia per il pediatra generalista che per il pediatra specialista in varie discipline. La trattazione dei vari quadri clinici per ogni IEI verrà infatti riferita a specifici organi e/o apparati.

## 8.1 IL BAMBINO CON INFEZIONI RESPIRATORIE RICORRENTI

**Nicola Principi, Fabio Cardinale**

Un approccio appropriato alle Infezioni Respiratorie Recidivanti (IRR) del bambino non è sempre facile né definitivamente codificato. La mancanza di una definizione di IRR che sia accettata da tutti gli esperti può rendere difficile differenziare i casi a prognosi naturalmente benigna da quelli che possono avere evoluzione negativa.

### Definizione di bambino con IRR

Definire chi sia il bambino con IRR sembrerebbe facile sulla base del significato della parola *ricorrente*. In realtà, cosa vuol dire ricorrente nel caso delle IRR del bambino non è ben chiaro agli esperti del settore che si dividono ampiamente sul numero di infezioni che giustifica la definizione di ricorrenza, sull'importanza dell'età nel condizionare questo numero e, infine, sul tipo di infezione respiratoria da considerare. Nella massima parte dei casi si propende per mantenere a sé stanti le IRR che riguardano sistematicamente un unico distretto respiratorio, come nel caso dell'otite media acuta ricorrente (OMAR), della faringite streptococcica ricorrente, della sinusite ricorrente e delle infezioni delle basse vie aeree ricorrenti (IVAIR), per le quali esistono, almeno in certi casi, specifiche ragioni patogenetiche e ben definiti interventi diagnostico-terapeutici. Vengono tenute separate anche le IRR che si realizzano in soggetti portatori di una patologia di per sé capace di favorirle. Rientrano tra questi, per esempio, le IRR che si manifestano nei bambini che soffrono di una delle diverse forme di immunodeficienza congenita od acquisita, che hanno anomalie strutturali o funzionali del sistema respiratorio, cardiovascolare e neuromotorio, fibrosi cistica e sindromi da discinesia ciliare per le quali l'approccio alle IRR dipende principalmente da quello che è riconosciuto utile per far fronte alla malattia di base.

In un recente documento, sono definiti soggetti con IRR "benigne" coloro che presentano le caratteristiche riportate nella Tabella 1, ripartite principalmente in funzione dell'età e della presenza di un numero definito di infezioni delle vie aeree superiori (IVAS) e/o inferiori (IVAI).

La Tabella 2 riporta la definizione di ricorrenza per le specifiche patologie.





**Tabella 1. Criteri per definire il bambino affetto da infezioni respiratorie ricorrenti**  
(Modificato da: Chiappini et al, 2022)

<b>Età</b>	<b>Definizione</b>
1-3 anni	a. 6 o più infezioni delle vie respiratorie (delle quali una può essere polmonite, anche grave) in un anno o b. 2 polmoniti non gravi confermate da criteri clinici e/o radiologici in un anno
3-6 anni	a. 5 o più infezioni delle vie respiratorie (delle quali 1 può essere polmonite, anche grave) in un anno o b. 2 polmoniti non gravi confermate da criteri clinici e/o radiologici in un anno
6-12 anni	a. 3 o più infezioni delle vie respiratorie (delle quali 1 può essere polmonite, anche grave) in un anno o b. 2 polmoniti non gravi confermate da criteri clinici e/o radiologici in un anno

**Tabella 2. Criteri per definire "ricorrenti" le principali patologie delle vie aeree**

<b>Patologia</b>	<b>Definizione</b>
Otite Media Acuta Ricorrente (OMAR)	Almeno 3 episodi documentati di OMA in 6 mesi o 4 in un anno, con almeno uno di questi negli ultimi 6 mesi
Sinusite ricorrente	Almeno 4 episodi all'anno, della durata inferiore ai 30 giorni ma con ripetizione ciclica, con almeno 10 giorni tra la risoluzione completa dei sintomi e l'inizio di un nuovo episodio.
Faringotonsillite ricorrente	Non vi è accordo unanime su quando si possa parlare di FT streptococcica ricorrente. Alcuni indicano la ricorrenza come la presenza di almeno 3 episodi in un anno, altri di 5 in un anno, altri ancora di 3 all'anno per 3 anni consecutivi
Polmonite ricorrente	Vedi Tabella 1 per fasce di età

## **Le infezioni respiratorie ricorrenti: quando sospettare un IEI**

Sul piano clinico, i singoli episodi di IRR hanno le stesse caratteristiche eziologiche, sintomatologiche, di gravità e durata degli omologhi episodi di infezioni delle vie aeree (IVA) che si verificano nei soggetti senza ripetute ricorrenze. Sul piano clinico gli episodi di IVA sono, in assoluta maggioranza, forme di rinofaringite febbrile di durata limitata, che non hanno alcuna tendenza a complicarsi, che tendono a risolversi spontaneamente in pochi giorni senza necessità di terapia diversa da quella volta a contenere l'iperpiressia e a favorire l'eliminazione delle secrezioni. In genere, i bambini con queste forme di IRR, al di là dell'impe-

gno assistenziale creato dai singoli episodi, non hanno problemi a distanza. La crescita e la funzione dei vari organi ed apparati, incluso quello respiratorio, non ne risente e, con il raggiungimento di un normale sviluppo della funzione del sistema immunitario, l'aumentato rischio infettivo scompare e il bambino cessa di avere un numero di infezioni respiratorie superiore alla norma. Una volta etichettati come sofferenti di IRR "benigne" questi bambini non necessitano di particolari approfondimenti diagnostici, e debbono essere semplicemente assistiti al sorgere dei singoli episodi, tranquillizzando la famiglia sulla relativa importanza del problema e la sua risoluzione spontanea in età scolare.

Solo nei casi nei quali

- 】 il numero delle IRR sia di gran lunga superiore a quello medio per l'età
- 】 i singoli episodi assumano un andamento clinico particolarmente protratto o grave
- 】 non esista alcuna risposta alla rimozione dei fattori favorenti ambientali
- 】 vi siano casi di deficit immunitario in famiglia

è possibile considerare l'esecuzione di esami volti principalmente a valutare la funzionalità del sistema immunitario per individuare i soggetti nei quali esiste un problema sottostante non ancora individuato e a rischio di creare grossi problemi a distanza.

In sintesi, *Severe infection, Persistent infection and failure of expected recovery, Unusual organisms, Recurrent infection* (noto con l'acronimo SPUR) sono le caratteristiche che devono indirizzare verso un approfondimento diagnostico nelle IRR.

Lo stesso discorso deve essere fatto qualora i bambini presentino oltre alle IRR, anche infezioni gravi in altre sedi o sia presente diarrea cronica e/o un disturbo dell'accrescimento.

In pratica, si può suggerire di eseguire in prima battuta la determinazione dell'emocromo, delle immunoglobuline sieriche comprese le IgE, lasciando altri esami ai casi più particolari (sottoclassi IgG, il dosaggio della vitamina D, i prick test per inalanti, il test del sudore, la determinazione degli anticorpi antitetano, antidifterite e le isoemoagglutinine per testare la risposta verso antigeni di recall e una Rx grafia del torace). In caso di positività è d'obbligo l'approfondimento diagnostico nella direzione indicata dai dati patologici. In particolare, in caso di alterazioni maggiori dell'emocromo, dei livelli di immu-



noglobuline o della risposta ai vaccini è tassativo pensare ad una immunodeficienza ed eseguire quanto serve ad escludere quadri di IEI.

## **Il bambino con IRR che interessano sempre lo stesso distretto respiratorio**

Gli IEI non sono le uniche patologie che entrano in diagnosi differenziale nelle IRR, soprattutto quando è interessato sempre lo stesso distretto respiratorio. Una parte di questi bambini ha forme di IRR secondarie alla presenza di alterazioni anatomiche o funzionali delle vie aeree che debbono essere rimosse se si vogliono evitare gravi alterazioni permanenti della funzione respiratoria. Senza entrare nel merito della trattazione di tutte le patologie respiratorie, per esempio, tra le patologie d'organo o sistemiche più frequentemente causa di IVAI, oltre agli IEI, vanno ricordati la fibrosi cistica, la sindrome da discinesia ciliare primitiva, le bronchiectasie non FC.

Distinguere questi casi da quelli che possono rientrare nelle IRR "benigne" non è facile.

Un certo supporto orientativo può essere dato da una attenta considerazione della sede ove si localizza il processo infettivo secondo quanto riportato nella Tabella 3. Tutti i bambini con queste problematiche devono effettuare una TAC toracica e, sulla base dei risultati di questa, una broncoscopia associata ad esami di laboratorio, con decisioni terapeutiche adeguate alla diagnosi finale.

**Tabella 3.** Possibili cause di IRR delle basse vie

<b>IRR che interessano un singolo lobo o la stessa area polmonare</b>	<b>IRR che interessano più di un lobo o area polmonare</b>
Ostruzione intraluminale a. Corpo estraneo b. Tumore endobronchiale	Rinosinusiti <i>Post-nasal drip</i>
Compressione esterna a) adenomegalia (infezione, tumore, sarcoidosi) b) vasi aberranti o dilatati	Immunodeficit
Anomalie strutturali delle vie aeree o del parenchima polmonare	Reflusso gastroesofageo
Sindrome del lobo medio	Sindrome delle ciglia immobili
Bronchiectasie	Fibrosi cistica

**Bibliografia essenziale**

- Cardinale F, Capristo C, Fiore M, Commissione Immunologia SIAIP. La suscettibilità genetica alle infezioni. Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 5/2011 35-45
- Winkelstein JA, Childs B. Why Do Some Individuals Have More Infections Than Others? JAMA, 2001;285(10):1348.
- Koch A, Melbye M, Sørensen P, et al. Acute Respiratory Tract Infections and Mannose-Binding Lectin Insufficiency During Early Childhood. JAMA 2001; 285(10):1316.
- Patria MF, Esposito S. Recurrent lower respiratory tract infections in children: a practical approach to diagnosis. Paediatr Respir Rev. 2013;14:53-60.
- Chiappini E, Santamaria F, Marseglia GL, et al. Prevention of recurrent respiratory infections: Inter-society Consensus. Ital J Pediatr. 2021;47:211.



## 8.2 QUADRI POLMONARI NON INFETTIVI

*Giuliana Giardino, Lorenzo Lodi, Caterina Cancrini*

La patologia polmonare rappresenta una delle complicanze più frequenti, che influiscono maggiormente sulla qualità e sull'aspettativa di vita delle persone affette da IEI.

Negli ultimi anni i progressi in ambito diagnostico-terapeutico hanno garantito un netto miglioramento del profilo infettivo di questi pazienti. Un ruolo cruciale ha avuto il trattamento specifico degli episodi, la profilassi con immunoglobuline e antibiotici e la fisiochinesiterapia respiratoria, tuttavia la persistenza/insorgenza di patologia polmonare, anche in soggetti sostanzialmente scevri da ricorrenza infettiva, evidenzia una quota significativa di malattia polmonare attribuibile a meccanismi patogenetici extra-infettivi. Va sottolineato che in questi casi prima di escludere una componente infettiva è fondamentale eseguire approfonditi accertamenti diagnostici, infettivologici e virologici e può essere necessaria l'esecuzione di un lavaggio broncoalveolare o un esame istologico previa biopsia polmonare.

Il pediatra deve essere consapevole dell'esistenza di queste condizioni "non infettive" che possono rappresentare sia la manifestazione d'esordio, sia la complicanza di immunodeficit noti in cui l'identificazione precoce anche in fase presintomatica ha importanti ricadute cliniche.

I quadri polmonari non infettivi degli IEI possono essere classificati come segue.

### 1. Linfoadenopatie toraciche

- 】 flogosi granulomatosa
- 】 linfoproliferazione benigna/maligna (più rara)

### 2. Quadri polmonari ostruttivi

- 】 Bronchiolite obliterante (BO)
- 】 Bronchiectasie (strutturali e infiammatorie ma prevalentemente secondarie ad infezioni)

### 3. Quadri polmonari restrittivi

- 】 Patologia interstiziale
- 】 Polmonite organizzativa

» Patologia granulomatosa

» Proteinosi alveolare.

---

**Specifici difetti immunologici** mostrano una maggiore propensione allo sviluppo di specifiche complicanze polmonari: bronchiectasie nei difetti anticorpali, malattia polmonare interstiziale granulomatosa-linfocitaria (GLILD) nell'immunodeficienza comune variabile (CVID), interstiziopatie nei difetti di LRBA, CTLA4, nella sindrome da STAT3-gain-of-function o in alcune interferonopatie di tipo I come la sindrome COPA, per altro caratterizzata da quadri radiologici tipici ed episodi di emorragia alveolare. Tuttavia, nella pratica clinica i vari componenti di questa suddivisione didattica sono spesso sovrapposti e partecipano alla genesi di condizioni complesse a loro volta intersecate con la patologia infettiva. Le stesse terapie, come il trapianto di cellule staminali, possono rappresentare una concausa patogenetica del danno polmonare.

La presenza di **sintomi polmonari** come tosse, dispnea, secrezioni catarrali, ridotta tolleranza all'esercizio fisico devono portare a valutazione broncopneumologica immediata. Al contempo, una valutazione periodica della condizione polmonare è indispensabile in tutti i pazienti affetti da immunodeficit anche se asintomatici. A questo scopo, la gestione integrata con lo specialista pneumologo e la conoscenza dei limiti e dei vantaggi delle metodiche diagnostiche utilizzate nella valutazione polmonare è fondamentale nella scelta degli accertamenti necessari, dai test di funzionalità respiratoria all'*imaging*. Il pediatra dovrà quindi essere consapevole della ridotta sensibilità della radiografia del torace nell'identificazione di anomalie strutturali come le bronchiectasie o la BO, che vengono invece adeguatamente evidenziate dalla tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) il cui uso va però limitato in presenza o nel sospetto un difetto immunologico con radiosensibilità (per esempio nel caso della atassia teleangectasia) in cui preferire un approccio diagnostico con risonanza magnetica polmonare.

Il **follow-up periodico** è raccomandato in questi pazienti così come la pronta valutazione in caso di insorgenza di nuovi sintomi respiratori con i test funzionali e/o altre indagini.

A scopo esemplificativo esamineremo due condizioni paradigmatiche, la bronchiolite obliterante e la *Interstitial Lung Disease* (ILD), al fine di fornire una comprensione più dettagliata dell'eterogeneità delle manifestazioni cliniche, della diagnosi e delle opzioni terapeutiche associate.



La **bronchiolite obliterante (BO)** è un disordine polmonare ostruttivo derivante dal coinvolgimento delle piccole vie aeree, caratterizzato da fibrosi dei bronchioli terminali e distali e reperto alla spirometria di ostruzione irreversibile del flusso aereo. Rappresenta spesso una sequela del trapianto di cellule staminali ematopoietiche, del trapianto polmonare o dell'esposizione a differenti stimoli nocivi (tossine inalatorie e gas). La BO può anche essere osservata in pazienti con differenti tipi di disordine congenito dell'immunità, inclusi immunodeficienze combinate e umorali. Il fattore che più comunemente causa la BO nel bambino è rappresentato dalle infezioni respiratorie virali, in particolar modo da Adenovirus. Dal punto di vista clinico i pazienti presentano dispnea e tosse persistente e progressiva. Alcuni pazienti presentano wheezing. I sintomi generalmente si sviluppano nel corso di settimane o mesi e sono costanti, differentemente dall'asma. All'esame obiettivo si riscontra un'attenuazione del murmure vescicolare e una fase espiratoria prolungata con o senza sibilo. Possono essere anche repertati rantoli. L'imaging polmonare in questa condizione mostra delle aree di *air trapping*, con attenuazione a mosaico nelle scansioni HRCT inspiratorie ed espiratorie. L'*air trapping* e il pattern a mosaico nei disordini congeniti dell'immunità possono anche essere suggestivi di bronchiolite follicolare, causata da una proliferazione linfoide peribronchiale.

Le **malattie interstiziali polmonari** (in inglese **Interstitial Lung Disease – ILD**) sono un gruppo ampio ed eterogeneo di patologie del polmone caratterizzate da un'estesa alterazione dell'architettura degli alveoli e delle vie aeree.

I termini "malattia interstiziale polmonare" (ILD) e "polmonite interstiziale" sono utilizzati per descrivere il coinvolgimento diffuso del parenchima polmonare distale. I bambini con ILD diffusa si presentano con ipossiemia, crepitii all'auscultazione toracica, tachipnea e scarso incremento ponderale. I reperti radiologici della ILD mostrano pattern diffusi nodulari, reticolari o reticolonodulari. Un esempio di pattern reticolonodulare è quello che si osserva nella ILD granulomatosa-linfocitaria (*Granulomatous-Lymphocytic Interstitial Lung Disease, GLILD*), una grave complicanza non infettiva dell'immunodeficienza comune variabile (8-20% dei casi) e di altri disordini di immunodisregolazione. La GLILD viene definita come un quadro clinico-radiologico-patologico di ILD che si verifica in pazienti con CVID, associata ad infiltrazione linfocitaria e/o formazione di granulomi nel polmone, e in cui altre condizioni sono state escluse. Il pattern nodulare spesso rappresenta la formazione di granulomi o deriva da un'infiltrazione linfocitica follicolare. Tuttavia, è importante tenere in considerazione che anche i tumori (es. linfomi polmonari) possono presentare un pattern nodulare

e pertanto andrebbero considerati nella diagnosi differenziale. La GLILD rappresenta un'importante causa di danno polmonare a lungo termine e determina alterazione della funzione respiratoria che si associa ad uno scadimento dell'outcome clinico. Ad oggi la patogenesi della GLILD non è ben definita. Tuttavia, essa può essere considerata come una manifestazione di immunodisregolazione come anche suggerito dall'aumentata frequenza di altre complicanze immunomediate della CVID in pazienti con GLILD. Sulla base delle raccomandazioni della UK-PID Network Consensus le indagini diagnostiche da effettuare nel sospetto di GLILD includono TAC torace, test di funzionalità polmonare, broncoscopia e biopsia polmonare, quest'ultima necessaria per la conferma diagnostica definitiva.

Altri tipi di ILD si possono manifestare con danno polmonare e fibrosi dei setti interlobulari diffusa che nel tempo determina un pattern *honey-comb*. La fibrosi polmonare è meccanismo di malattia comune a molte immunodeficienze combinate, disordini di immunodisregolazione, disordini congeniti dei fagociti, sindromi autoinfiammatorie, alcuni difetti del complemento e sindromi da insufficienza midollare (es. discheratosi congenita).

#### **Bibliografia essenziale**

- Jesenak M, Banovcin P et al. Pulmonary manifestations of primary immunodeficiency disorders in children. *Front Pediatr*. 2014 Jul 25;2:77.
- Soler-Palacin P, de Gracia J et al. Primary immunodeficiency diseases in lung disease: warning signs, diagnosis and management. *Respir Res* 19, 219 (2018).
- Buckley RH. Pulmonary complications of primary immunodeficiencies. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5 Suppl A:S225.
- Bousfhia A, Moundir A et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2022 Oct;42(7):1508-1520.





## 8.3 INFEZIONI IN ALTRE SEDI

**Guido Castelli Gattinara, Lavinia Perciasepe, Elena Chiappini**

I pazienti immunocompromessi presentano un aumentato rischio di infezioni in sedi cosiddette “tipiche”, quali le vie respiratorie (polmoniti, sinusiti e otiti), che, soprattutto quando si manifestano in età precoce o con quadri gravi o numerose recidive, possono rappresentare un campanello di allarme per queste patologie. Altra caratteristica di immunodeficit sono le infezioni politopiche o in sedi particolari, spesso inusuali, specie se in età molto precoce.

I segni e sintomi che devono far sospettare un IEI suddivise per sede di infezione extrapolmonare (cute, ossa ed articolazioni, sistema nervoso centrale, occhio e retina) e distinte in base al deficit immunologico sottostante sono riportate nella Tabella 4.

**Tabella 4.** Esempi di infezioni in sedi diverse dalle vie respiratorie negli IEI

Infezioni in altre sedi				
Sede	Manifestazione clinica	Segni e sintomi di sospetto	Agente eziologico	Esempio difetto immunologico
Cute e mucose	Candidosi mucocutanea	Cronica Ricorrente Estesa (anche laringea, faringea o disseminata) Età ≥12 mesi in assenza di un fattore predisponente	Candida	SCID, CID APECED STAT1 GOF
	Ascessi cutanei	Ascessi freddi Scarsa crescita Fistole anali Diarrea	Stafilococco Streptococco	CGD
		Ritardo della caduta del cordone ombelicale		LAD
		Ascessi ricorrenti a carico della cute e grave dermatite eosinofila deficit di crescita, infezioni polmonari, dismorfismi	Stafilococco	Sindrome da iper-IgE

Infezioni in altre sedi				
Sede	Manifestazione clinica	Segni e sintomi di sospetto	Agente eziologico	Esempio difetto immunologico
Cute e mucose	Infezioni cutanee batteriche	infezioni batteriche gravi	<i>S. aureus</i>	Immunodeficienza umana acquisita
		Piodermiti	Streptococco Stafilococco <i>H. influenzae</i>	Agammaglobulinemia legata all'X e l'immunodeficienza variabile comune
	Infezioni cutanee virali	-Decorso più aggressivo -Lesioni ulcerative -Lesioni verrucose croniche -Infezioni ricorrenti e disseminate -Infezioni croniche -In alcuni casi, resistenza ai farmaci antivirali	<i>Herpes Virus</i> <i>Varicella Zoster Virus</i>	Soprattutto nelle ID secondarie
	Malattia cutanea disseminata		Criptococco Histoplasma <i>Coccidioides spp</i>	SCID
Ossa ed articolazioni	Osteomieliti, artriti Infezioni osteoarticolari	Frequente e ricorrente, con aumentato rischio di esiti gravi Coinvolgimento multiplo, poliartrite infettiva. Esordio precoce, 6-12 mesi di vita	Streptococco Stafilococco <i>H. influenzae</i>	Agammaglobulinemia legata all'X e l'immunodeficienza variabile comune
		Frequente e ricorrente, con aumentato rischio di esiti gravi Agenti patogeni non comuni	Micoplasma, Ureaplasma, <i>Echovirus</i>	Deficit delle sottoclassi IgG
			<i>Aspergillus</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Candida spp</i> , <i>Serratia spp</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Salmonella</i>	CGD

SCID, severe combined immunodeficiency; CID, combined immunodeficiency; APECED, Autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis-Ectodermal-Dystrophy; STAT1 GOF: Severe Early-Onset Combined Immunodeficiency due to Heterozygous Gain-of-Function Mutations in STAT1; CGD: Chronic Granulomatous Disease; LAD: Leukocyte Adhesion Deficiency



Infezioni in altre sedi				
Sede	Manifestazione clinica	Segni e sintomi di sospetto	Agente eziologico	Esempio difetto immunologico
Ossa ed articolazioni	Osteomieliti, artriti Infezioni osteoarticolari	Artriti infiammatorie	Non infettive	Malattie autoinfiammatorie
Sistema nervoso centrale	Infezioni sistema nervoso centrale	Ricorrenza	<i>N. meningitidis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>S. pneumoniae</i> e <i>H. influenzae</i>	Carenze dei componenti terminali del complemento (C5-C9) o della properdina
		Associata ad asplenia	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> Meningococco	agammaglobulinemia e le carenze dei componenti precoci del complemento (C3-C4)
		Gravi infezioni del sistema nervoso centrale e del sistema neuromuscolare, fino a quadri di encefalomielite progressivamente invalidante	- <i>Enterovirus</i> ( <i>Echovirus</i> , <i>Coxsackievirus</i> e <i>Poliovirus</i> ) - <i>S. pneumoniae</i> - <i>Haemophilus influenzae</i> di tipo b ( <i>Hib</i> ).	Agammaglobulinemia legata all' X
	Meningiti fungine		<i>Cryptococcus spp</i>	Immunodeficienza umana acquisita
	Meningiti micobatteriche e batteriche	Asplenia Età neonatale o primo anno di vita	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Immunodeficienza umana acquisita
Occhio e retina	Retinite	Retinite necrotizzante diffusa multifocale	<i>Citomegalovirus</i>	Immunodeficienza umana acquisita
	Uveite Corioretinite	Vitreite grave	<i>Toxoplasma gondii</i>	

## Candidosi orale ed esofagea

La candidosi orale-faringea, frequente nel prematuro e nei neonati sani, quando diventa persistente o ricorrente e appare di notevole intensità può costituire il primo segno di una immunocompromissione più o meno grave. La valutazione di una sospetta immunodeficienza cellulare è ancor più giustificata per i bambini di età  $\geq 12$  mesi che sviluppano una importante candidosi orofaringea in assenza di un fattore predisponente (quale ad esempio una recente somministrazione di antibiotici o di glucocorticoidi per via inalatoria, la presenza di tumori, ecc.). Nei pazienti immunocompromessi, alla candidosi orale segue spesso quella esofagea e laringea, fino alla candidosi disseminata, che può coinvolgere virtualmente qualsiasi organo o sito anatomico e può essere rapidamente fatale in caso di grave disfunzione dei linfociti T e di altre IEI non convenzionali o caratterizzate da immunodisregolazione. La candidosi esofagea si manifesta prevalentemente con il dolore retrosternale durante la deglutizione, che ne è la caratteristica clinica principale. La diagnosi viene solitamente effettuata tramite una endoscopia esofagea.

Queste manifestazioni di micosi invasive sono sostenute prevalentemente da *Candida albicans* anche se le specie di *Candida* non *albicans* (*Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida auris*) rappresentano oggi più della metà delle micosi invasive nei bambini immunodepressi.

Nei bambini con candidosi orofaringea ricorrente o estesa, si suggerisce in primis di valutare la possibilità di un deficit dell'immunità cellulare, includendo anche il test per HIV e, a seguire, di indagare altri difetti caratterizzati prevalentemente da suscettibilità specifica ai funghi o da immunodisregolazione (per esempio APECED o STAT1 GOF).

Anche la candidosi mucocutanea cronica, infezione da candida persistente o ricorrente, è prevalentemente dovuta a **difetti ereditari di linfociti T** che esitano in anergia cutanea alla *Candida*, quindi in una risposta proliferativa assente nei confronti dell'antigene della *Candida*.

Il fluconazolo per via orale è il trattamento di prima scelta per questi pazienti con candidosi orofaringea. Per la malattia refrattaria al fluconazolo, le alternative sono itraconazolo, voriconazolo, posaconazolo, amfotericina B desossicolato in sospensione orale o, in casi particolari di resistenza o invasività, le echinocandine per via endovenosa (caspofungina, micafungina).



## Infezioni cutanee

La cute rappresenta frequentemente un bersaglio delle infezioni in soggetti affetti da immunodeficienza, sia essa primitiva o acquisita (vedi paragrafo 8.8). Sono numerose, infatti, le patologie del sistema immunitario che si manifestano con coinvolgimento cutaneo, con quadri di dermatite, eritrodermia, ascessi, atopia, infezioni croniche della cute. Tali manifestazioni possono sottendere una infezione ad eziologia batterica, virale o fungina.

Un grave deficit dell'immunità umorale, come si verifica nella **agammaglobulinemia di Bruton**, è causa di infezioni batteriche gravi, tra cui piodermiti.

Alcune immunodeficienze comportano un maggior rischio di sviluppare ascessi cutanei e ascessi profondi, come nel caso della **malattia granulomatosa cronica e nella sindrome da Iper IgE** caratterizzata da ascessi stafilococcici ricorrenti a carico della cute e grave dermatite eosinofila pruriginosa, per cui è necessaria una profilassi antibiotica antistafilococcica continua.

In alcune immunodeficienze le manifestazioni cutanee sono presenti sin dalla nascita, come nel caso della sindrome di Omenn: una rara forma di immunodeficienza combinata grave ad esordio neonatale caratterizzata da un quadro cutaneo complesso con dermatite esfoliativa, eritrodermia, infezioni ricorrenti ed eosinofilia.

I pazienti affetti da **HIV** risultano, rispetto alla popolazione generale, essere più frequentemente portatori di *S. aureus* meticillino-resistente (MRSA) con colonizzazione nasale e cutanea, presentando un aumentato rischio di infezioni cutanee ed extracutanee da MRSA.

Quadri cutanei indicativi di **sindrome dell'immunodeficienza acquisita grave**, (segni di malattia disseminata), sono la criptococcosi cutanea, l'istoplasmosi e la coccidiomicosi.

Per quanto riguarda le infezioni cutanee ad eziologia virale nel paziente immunodepresso, in particolare se secondariamente ad infezione da HIV, si manifestano con un quadro clinico tendenzialmente più grave rispetto alla popolazione generale. Ad esempio, le infezioni cutanee da *Herpes Virus 1* e *Varicella Zoster Virus* presentano un decorso più aggressivo potendo provocare lesioni ulcerative, infezioni ricorrenti e disseminate ed infezioni croniche. In alcuni casi può svilupparsi un quadro di resistenza ai farmaci antivirali, come nel caso delle lesioni verrucose croniche da *Varicella Zoster Virus*.

## Infezioni del sistema nervoso centrale

Nei bambini che presentano meningite batterica, acuta o ricorrente, ed accessi cerebrali è necessario ricercare una condizione di immunodeficienza congenita o acquisita, basandosi sull'eziologia, l'epidemiologia, la clinica, lo stato vaccinale e la presenza di altri fattori di rischio, quali l'asplenia. Alcuni difetti congeniti dell'immunità come quelli del complemento o i deficit anticorpali o una condizione di asplenia possono essere riconosciuti per la prima volta in occasione dell'insorgenza di meningite batterica, in particolare nel neonato e nel lattante. I pazienti immunodepressi sono inoltre a rischio di recidive, pertanto tutti i soggetti con meningite batterica ricorrente, in assenza di storia evidente o riscontro clinico indicativo di un difetto anatomico, dovrebbero eseguire una valutazione immunologica.

L'infezione da HIV tipicamente predispone chi ne è affetto a meningiti fungine da *Cryptococcus spp.*, e meningiti batteriche e micobatteriche, nonché a infezioni pneumococciche invasive.

Nei difetti umorali sono descritti gravi infezioni del SNC da parte di enterovirus. Più recentemente sono state descritte in pazienti altrimenti immunocompetenti, infezioni del SNC esclusivamente da virus erpetici (vedi capitolo 7.2) dovuti a **deficit dell'immunità innata**.

## Infezioni dell'occhio e della retina

Nei soggetti con deficit immunitario le infezioni da microrganismi opportunisti colpiscono spesso gli occhi e in particolare la retina. Una retinite, infatti, può essere manifestazione di una infezione da Cytomegalovirus (CMV o human Herpes virus 5) oppure da *Toxoplasma gondii* (toxoplasmosi).

In condizioni di immunosoppressione il CMV latente si riattiva e provoca la malattia – una retinite necrotizzante diffusa multifocale – in particolare quando l'immunosoppressione è grave. Questa infezione opportunistica può colpire anche i riceventi di trapianti di organi solidi o di cellule staminali ematopoietiche. Il trattamento della corioretinite citomegalica si basa sull'uso di antivirali che inibendo la sintesi del DNA del Cytomegalovirus, bloccano la crescita e riproduzione del virus: sono il ganciclovir per via endovenosa e il valganciclovir, il profarmaco per via orale del ganciclovir.

Anche l'infezione da *Toxoplasma gondii* può determinare lesioni all'occhio quali uveite e corioretinite, sia nell'infezione congenita – che coinvolge l'occhio nel 14% dei casi – sia nei deficit immunitari, congeniti o iatrogeni (trapianto di mi-



dollo). Le lesioni retiniche interessano di solito il polo posteriore, ma possono interessare la macula con perdita della vista: i reperti clinici caratteristici consistono in una retino-coroidite focale, una cicatrice retino-coroidale associata e un'infiammazione del vitreo da moderata a grave (vitrite) - il cosiddetto aspetto di "faro nella nebbia" del fundus oculi.

La diagnosi, sospettata dall'oculista in un controllo del bambino piccolo o per un difetto visivo in quello più grande, viene confermata con lo studio del fondo dell'occhio dalla fluorangiografia.

La terapia antiparassitaria specifica, indispensabile in questi casi, si basa sull'associazione pirimetamina + sulfadiazina e acido folico oppure, secondo alcuni autori, sulla combinazione di trimetoprim e sulfametossazolo per un adeguato periodo di tempo. Quest'ultima costituisce inoltre una terapia di proflassi di questa infezione opportunistica in coloro che presentano un importante deficit dell'immunità cellulare.

## **Infezioni ossee e articolari**

Il coinvolgimento osteoarticolare nel bambino con deficit dell'immunità è una evenienza frequente e ricorrente, con aumentato rischio di esiti gravi, tali da compromettere la simmetria dei segmenti scheletrici e la crescita staturale. Differentemente da quanto avviene nel paziente immunocompetente, in cui l'artrite infettiva si presenta come monoartrite, nei pazienti con immunodeficienza il coinvolgimento articolare può essere multiplo configurando una poliartrite infettiva.

Nei difetti umorali i bambini possono presentare osteomieliti gravi e ricorrenti generalmente a partire dai primi 6-12 mesi di vita (prima i bambini risultano ancora protetti dagli anticorpi materni acquisiti per passaggio transplacentare). Gli agenti patogeni sono spesso non comuni, come *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Echovirus*, *Aspergillus*, *Burkholderia cepacia*, *Candida* spp, *Serratia* spp, *Klebsiella* e *Salmonelle*.

**Bibliografia essenziale**

- Mather MW, Powell S, Talks B, et al. Dysregulation of immune response in otitis media. *Expert Rev Mol Med*. 2021 Aug 18;23: e10.
- Pichichero ME. Immunologic dysfunction contributes to the otitis prone condition. *J Infect*. 2020 Jun;80(6):614-622.
- Thalhammer J, Kindle G, Nieters A, et al. Initial presenting manifestations in 16,486 patients with inborn errors of immunity include infections and noninfectious manifestations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2021;148(5): 1332-41.
- Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al . Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1-e50.
- Goins RA, Ascher D, Waecker N, et al. Comparison of fluconazole and nystatin oral suspensions for treatment of oral candidiasis in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(12):1165.
- Panel on Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children. Department of Health and Human Services.
- Bollani L, Auriti C, Achille C, et al. Congenital Toxoplasmosis: The State of the Art. *Front Pediatr*. 2022 Jul 6; 10:894573.
- Silveira C, Nussenblatt R, Belfort R., Jr. The effect of long-term intermittent trimethoprim/sulfamethoxazole treatment on recurrences of toxoplasmic retinochoroiditis: 10 years of follow-up. *Ocul Immunol Inflamm*. 2015;23:246-7.
- Bloom KA, Chung D, Cunningham-Rundles C. Osteoarticular infectious complications in patient with primary immunodeficiencies. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 Jul;20(4):480-5.
- Altman K, Vanness E, Westergaard RP. Cutaneous Manifestations of Human Immunodeficiency Virus: a Clinical Update. *Curr Infect Dis Rep*. 2015 Mar;17(3):464.
- Bloom KA, Chung D, Cunningham-Rundles C. Osteoarticular infectious complications in patients with primary immunodeficiencies. *Curr Opin Rheumatol*. 2008 Jul;20(4):480-5.
- Antachopoulos C, Walsh TJ, Roilides E. Fungal infections in primary immunodeficiencies. *ur J Pediatr*. 2007 Nov;166(11):1099-117.
- Goldstein EJC, Overturf GD. Indications for the Immunological Evaluation of Patients with Meningitis. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2003 Jan 15;36(2):189-94.





## 8.4 RITARDO DI CRESCITA

Vito Leonardo Miniello, Giuseppe Saggese

Il deficit di crescita, conosciuto in letteratura con il termine anglosassone **“failure to thrive” (FTT)**, rientra tra i segni clinici comuni e di sospetto per IEL. Il FTT non è una diagnosi, ma è un anomalo pattern di crescita di comune riscontro nei bambini (5% -10% dei pazienti visitati in ambito ambulatoriale). Il deficit antropometrico è la manifestazione predominante della FTT, ma può essere compromesso anche lo sviluppo delle capacità cognitive e la funzione immunitaria, con conseguente mancato raggiungimento delle tappe fondamentali dello sviluppo e di buona salute.

La definizione più recente di **“crescita stentata” (FG - *faltering growth*) associata a malnutrizione** esprime lo squilibrio tra apporti nutrizionali e fabbisogni, in grado di ostacolare la crescita complessiva, incidendo prima sul peso, successivamente su lunghezza ed eventualmente sulla circonferenza cranica. I criteri antropometrici per la diagnosi di FTT sono riportati nella Tabella 5: una valutazione auxologica che combini più criteri risulta decisamente più accurata.

**Tabella 5. Criteri antropometrici per la diagnosi di FTT**

- 
- Peso per età <5° centile
  - BMI per età <5° centile
  - Altezza per età <5° centile
  - Decelerazione del peso che attraversi più di 2 centili maggiori (5°, 10°, 25°, 50°, 75°, 90°)
  - Incremento del peso (mensile) <5° centile
  - Peso <75% del 50° centile sulla curva peso per età (Criterio di Gomez)
  - Peso <80% del 50° centile sulla curva peso per altezza (Criterio di Waterlow)
- 

Negli Stati Uniti il deficit di crescita è stato riscontrato nel 3-5% di bambini ospedalizzati e nel 5-10% dei soggetti in setting di cure primarie.

È bene accertare se l'esordio del FTT (o FG) è prenatale o postnatale e successivamente distinguere se coinvolge peso, lunghezza e circonferenza della testa (simmetrico) o solo uno o due parametri (asimmetrico) (Tabella 6).

Nei primi mesi di vita, caratterizzati da una velocità di accrescimento ragguardevole, il peso costituisce il primo parametro di riferimento in quanto aumenta in maniera consistente e regolare. Pertanto, ogni arresto o flessione costante del-

la sua curva deve essere prontamente riconosciuto dal pediatra di libera scelta durante i bilanci di salute. I bambini geneticamente piccoli, presentano curve di crescita parallele al limite inferiore. Circa il 3% di lattanti normali, con lunghezza e circonferenza cranica costantemente nella norma, hanno un peso inferiore al 5° percentile, ma sempre parallelo ad esso. L'esordio post-natale di un problema di crescita si manifesta con un andamento verso il basso della curva precedentemente stabile.

L'eziologia della FTT è comunemente classificata associata a malattie organiche, non organiche e casi misti.

Nonostante il FTT da cause organiche abbia una bassa prevalenza, è importante che il pediatra possa sospettarne le probabili patologie di base, soprattutto in presenza di *red flags* (Tabella 6).

**Tabella 6.** Cause organiche di FTT

• <b>Cardiache</b>	- Cardiopatie cianogene
• <b>Respiratorie</b>	- Fibrosi cistica - Bronchiectasia
• <b>Allergiche (non IgE mediate)</b>	- Enteropatia indotta da proteine alimentari - FPIES cronica - Celiachia
• <b>Infettive</b>	- Infezione perinatale (TORCH) - TBC - HIV
• <b>Immunologiche</b>	- Immunodeficienza primitiva - Immunodeficienza acquisita
• <b>Neurologiche</b>	- Paralisi cerebrale infantile
• <b>Urinarie</b>	- IVU - Acidosi tubulare
• <b>Endocrine</b>	- Diabete mellito di tipo 1 - Iperteroidismo
• <b>Neoplastiche</b>	
• <b>Metaboliche/Genetiche</b>	- Sidrome feto-alcolica - Anemia falciforme
• <b>Gastro-intestinali</b>	- Malattia da reflusso gastro-esofageo - Fibrosi cistica



Per il FTT sostenuto da cause organiche risultano cruciali particolari segni e sintomi (Tabella 7).

**Tabella 7.** Segni e sintomi che suggeriscono cause organiche di FTT

- 
- **Distrofia**
  - **Obiettività cutanea** (disidratazione, pallore, ittero, linfadenomegalia)
  - **Dismorfismi** (microcefalia, facies dismorfica, attaccatura dei capelli, attaccatura bassa delle orecchie, ipertelorismo, cubito valgo, dita corte, alterazione dei genitali)
  - **Peso o velocità di crescita significativamente al di sotto dell'atteso**, nonostante un adeguato intake calorico
  - **Obiettività addominale** (addome globoso, diastasi dei muscoli retti addominali, epato-splenomegalia)
  - **Infezioni ricorrenti e severe** (respiratorie, urinarie e muco-cutanee)
  - **Riscontri cardiaci suggestivi per cardiopatie congenite** (soffio, edema, ectasia delle vene giugulari)
  - **Vomito ricorrente, diarrea cronica**
- 

Risulta pertanto essenziale raccogliere un'anamnesi accurata ed eseguire un esame clinico completo.

Le misurazioni vanno effettuate con strumenti adatti, nelle modalità corrette e i parametri ottenuti devono essere riportati su curve di crescita aggiornate.

Nei difetti congeniti dell'immunità il ritardo di crescita presenta spesso i segni e i sintomi riassunti nella Tabella 7 e può associarsi o a un fenotipo clinico caratterizzato prettamente da maggiore suscettibilità alle infezioni (spesso con un quadro di diarrea cronica associata) oppure a quadri immunodisregolatori. Tra questi merita menzione l'autoimmunità. Tali manifestazioni possono complicare un quadro caratterizzato prevalentemente da suscettibilità alle infezioni o rappresentarne un sintomo di esordio.

Durante la raccolta dell'anamnesi sarà pertanto importante indagare anche sulla crescita staturponderale del paziente. Infatti, come ogni malattia cronica, anche le immunodeficienze possono associarsi a ritardo di crescita staturponderale. Tuttavia, recentemente sono stati scoperti deficit immunitari caratterizzati da esordio tardivo (fenotipo *mild*), non associati a crescita stentata.

Alterazioni della crescita sono di più comune riscontro nell'ambito dei seguenti IEI.

**Immunodeficienze combinate:** le immunodeficienze gravi combinate (SCID-*Severe Combined Immunodeficiency*) sono disordini congeniti del sistema immunitario caratterizzati da grave linfopenia T associata o meno a difetto di sviluppo dei linfociti B e delle cellule natural killer.

I pazienti presentano gravi infezioni polmonari, diarrea cronica, ritardo di crescita e altre manifestazioni infettive gravi che si sviluppano nei primi mesi di vita. La sindrome di Omenn a titolo esemplificativo esordisce nel primo anno di vita con eritrodermia, infezioni ricorrenti, epatosplenomegalia, diarrea cronica, alopecia e ritardo della crescita.

**Malattia granulomatosa cronica:** deve essere sospettata nei pazienti con colite granulomatosa, infezioni batteriche e fungine ricorrenti a carico di cute e polmoni. Il quadro clinico può inoltre essere caratterizzato da ascessi epatici (*Stafilococco aureo*), osteomielite, adenite suppurativa, infezioni gastrointestinali e ritardo della crescita.

Difetti congeniti del metabolismo associati a immunodeficit; a titolo esemplificativo si riporta: ADA- SCID, LAD tipo II, galattosemia.

### Bibliografia essenziale

- Lezo A, Baldini L, Asteggiano M. Failure to Thrive in the Outpatient Clinic: A New Insight. *Nutrients*. 2020;12: 2202.
- Franceschi R, Rizzardi C, Maines E, et al. Failure to thrive in infant and toddlers: a practical flowchart-based approach in a hospital setting. *Ital J Pediatr*. 2021; 47(1):62.
- Larson-Nath C, Biank VF. Clinical Review of Failure to Thrive in Pediatric Patients. *Pediatr Ann*. 2016; 45: e46-9.
- WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr*. 2006; 450: 576-85.
- Chinn IK, Orange JS. Immunodeficiency Disorders. *Pediatr Rev*. 2019; 40: 229-242.
- Selbuz S, Kırışçaloğlu CT, Kuloğlu Z, et al. Diagnostic Workup and Micronutrient Deficiencies in Children With Failure to Thrive Without Underlying Diseases. *Nutr Clin Pract*. 2019; 34:581-588.
- Larson-Nath C, Mavis A, Duesing L, et al. Defining Pediatric Failure to Thrive in the Developed World: Validation of a Semi-Objective Diagnosis Tool. *Clin Pediatr*. 2019; 58: 446-452.



## 8.5 ENDOCRINOLOGIA

*Gianni Bona, Francesca Aiello, Emanuele Miraglia Del Giudice*

Le endocrinopatie rappresentano una manifestazione clinica frequente dei disordini innati dell'immunità (IEI) e ne possono rappresentare il sintomo d'esordio. L'**eziopatogenesi** è di natura squisitamente multifattoriale.

La disregolazione endocrina si può manifestare in tutte le epoche di vita e derivare da uno o più dei seguenti meccanismi:

1. direttamente derivanti dal difetto molecolare alla base della immunodeficienza (es. mutazioni di STAT1, STAT5b, SAMD9, ATM, HAX1)
2. su base autoimmunitaria, per perdita di tolleranza verso il self (es. FOXP3, difetti dei Treg e AIRE).
3. Secondaria a stati infiammatori cronici/infezzivi
4. Conseguente a proliferazione cellulare anomala/carcinogenesi nell'ambito di specifiche immunodeficienze
5. Effetti collaterali endocrini delle terapie.

### **Segni e sintomi di sospetto che devono indurre un pediatra a pensare che un'endocrinopatia possa nascondere una diagnosi di IEI**

- 】 Esordio molto precoce
- 】 Origine autoimmunitaria: spesso si tratta di endocrinopatie da ipofunzione
- 】 Coesistenza di due o più endocrinopatie (pensare a una Sindrome poliendocrina autoimmune, APS)
- 】 Anamnesi personale positiva per infezioni ricorrenti e/o gravi.
- 】 Associazione con altre manifestazioni su base immunodisregolatoria: sintomi e segni gastroenterici, cutanei, ematologici.

### **Endocrinopatie più frequentemente riscontrate**

Di seguito l'elenco per ordine decrescente di frequenza e brevi cenni di gestione. Dati più specifici sono riportati nelle Tabelle 8 (Diabete mellito tipo 1), 9 (tiroidite), 10 (insufficienza surrenalica), 11 (ipoparatiroidismo), 12 (ipogonadismo).

1. **Diabete mellito (DM)**, *solitamente di tipo 1* da meccanismo autoimmunitario, il genotipo HLA (in particolare gli alleli DR e DQ) conferisce circa il 30-50% di rischio. Il picco di incidenza spesso è nella prima infanzia o anche nell'epoca neonatale, prima dei 6 mesi di vita (più precoce rispetto ai 5-7 anni della popolazione generale).

*Intolleranza glucidica o franco DM tipo 2* si riscontra, invece, nei difetti di riparazione del DNA quali la Sindrome di Bloom e l'atassia-teleangectasia (AT), per una incrementata resistenza insulinica con normale secrezione di insulina. In questi pazienti, solitamente il BMI è basso a differenza del classico fenotipo DM2. Nella AT anche la lipodistrofia sembra essere una causa.

**Tabella 8. IEl associati a DM1**

<b>DIABETE MELLITO TIPO 1</b>	
<b>Principali IEl associati</b>	APS-1 APDS 2 Difetti dei linfociti T regolatori (mutazione di FOXP3, CLTA4, STAT3, LRBA) Candidiasi mucocutanea (STAT1 Gain of function) Deficit di POLE2 Deficit di ITCH
<b>Segni e sintomi</b>	Poliuria, polidipsia, perdita di peso, chetoacidosi
<b>Indagini laboratoristiche</b>	Glicemia a digiuno >126 mg/dl o >200 mg/dl dopo OGTT o random HbA1c 6,5%
<b>markers anticorpali</b>	Anti GAD, Anti IA2, Anti-insulina, Anti-ICA, Anti ZnT8
<b>terapia</b>	Insulina s.c.
<b>Follow-up</b>	Glicemia a digiuno, HbA1c ogni 3 mesi all'inizio quindi ogni 6 mesi Consigliare sistemi di monitoraggio della glicemia capillare Sorveglianza di altre forme di autoimmunità (Profilo tiroideo una volta all'anno, ricerca anticorpi per celiachia etc.)

2. **Tireopatie autoimmunitarie** con quadro clinico tipico della tiroidite di Hashimoto che può manifestarsi in assenza di alterazione della funzione tiroidea o associata a ipotiroidismo subclinico o franco. Il rischio è maggiore in pazienti con varianti nel gene della tireoglobulina e di CTLA-4.

Più raramente, un'autoimmunità organo-specifica può determinare morbo di Graves per produzione di autoanticorpi attivanti il TSH-R (TRABs). Il rischio maggiore, in questo caso, sembra essere dato dall'assetto HLA.



**Tabella 9. IEl associati a tiroidite**

<b>TIROIDITE</b>		
	<b>TIROIDITE DI HASHIMOTO</b>	<b>MORBO DI GRAVES</b>
<b>Principali IEl associati</b>	Deficit selettivo di IgA, Deficit di POLE2 Deficit di NFKB1 Difetti della funzione dei T reg (mutazione di CLTA4, STAT3, LRBA) Deficit di ITCH JAK1 GOF Sindrome da Delezione 22q Candidiasi mucocutanea (STAT1)	Deficit selettivo di IgA,
<b>Segni e sintomi</b>	Astenia, aumento ponderale con ipofagia, stipsi, rallentamento della crescita, bradipsichia, annessi cutanei fragili con lenta crescita.	Tachicardia, ipertensione, perdita di peso con iperfagia, diarrea, tremori, insonnia, esoftalmo con retrazione palpebrale, perdita di capelli
<b>Indagini laboratoristiche</b>	Per diagnosi → Dosaggio anticorpi anti-tiroide + ecografia tiroidea  Per valutazione funzione tiroidea → dosaggio TSH, fT4. normali → eutiroidismo; TSH > 5 + fT4 normale → ipotiroidismo subclinico; TSH > 5 + fT4 basso → ipotiroidismo franco	TRABs positivi + TSH soppresso e FT4 e FT3 elevato  Indagini aggiuntive: emocromo + formula, glicemia, AST, ALT, GGT, bilirubina totale e frazionata, ALP, screening anticorpale delle principali patologie autoimmuni. DEXA se fattori di rischio (dieta carente, deficit di vit. D, associazione con altre patologie quali celiachia, diabete, artrite reumatoide, epatopatie o ritardo puberale) dopo i 5 anni di età
<b>Markers anticorpali</b>	Anti-TPO e anti-TG	TRABs attivanti, ma anche anti TPO e TG
<b>Terapia</b>	Se TSH > 10 o ipotiroidismo franco: levotiroxina. 0-6 mesi: 8-10 ug/kg/die 7-12 mesi: 6-8 ug/kg/die 1-5 anni: 5-6 ug/kg/die 6-12 anni: 4-5 ug/kg/die > 12 anni: 2-3 ug/kg/die	Metimazolo dose di attacco: 0,3-0,5 mg/kg/die frazionata in 2-3 volte dose di mantenimento (a 2-4 settimane dal raggiungimento dell'eutiroidismo scalare di 30-50%): 0,12-0,14 mg/kg/die; 0,18-0,20 mg/kg/die nelle forme più gravi

TIROIDITE		
	TIROIDITE DI HASHIMOTO	MORBO DI GRAVES
<b>Follow-up</b>	Dosaggio TSH, FT4 dopo 1 mese da ogni variazione della dose; poi dosaggio ogni 6 mesi.  Eco tiroidea annuale.	<b>TSH, FT3, FT4:</b> a 2 settimane dall'inizio della terapia, poi ogni mese fino al raggiungimento dell'eutiroidismo, ogni 2-4 mesi in condizioni di eutiroidismo. <b>TRABS:</b> Dopo 6-12 mesi dall'inizio, poi ogni 12-24 mesi in base all'andamento e prima della sospensione della terapia <b>Emocromo ed indici epatici:</b> a 1 settimana dall'inizio della terapia, poi ogni mese nei primi tre 3 mesi di terapia, poi annualmente o se comparsa di eventi avversi

3. **Insufficienza surrenalica** sia su base autoimmune che secondaria a terapia con corticosteroidi, conseguente a feedback inibitorio sulla secrezione di ACTH (ipocortisolismo centrale). Il morbo di Addison (insufficienza surrenalica primaria) può presentarsi come parte delle sindromi poliendocrine autoimmuni (APS) 1 e 2, o conseguente a mutazione dei geni CTLA4, MCM4.

**Tabella 10.** IEl associati a insufficienza surrenalica

INSUFFICIENZA SURRENALICA	
<b>Principali IEl associati</b>	Deficit di MCM4 Deficit di NFKB2 Aploinsufficienza di CTLA4 con infiammazione autoimmune APS-1 e 2
<b>Segni e sintomi</b>	Astenia, ipotensione, debolezza, perdita di peso, iponatriemia con iperkaliemia, ipoglicemia, cute iperpigmentata (se forme surrenaliche)
<b>Indagini laboratoristiche</b>	Diagnosi probabile: ↓Cortisolemia (<5 mcg/dL) + ↑ACTH due volte il limite superiore. Diagnosi certa: test all'ACTH → cortisolo al picco <18mcg/dL Attenzione! terapie con CS orali possono alterare il dosaggio  Ipoaldosteronismo: ↓Na, ↑K, ↓aldosterone/renina
<b>Markers anticorpali (se meccanismo AI)</b>	Anti-surrene (anti 21-idrossilasi, 17Oh progesterone) nelle forme di surrenalite Anti-ipofoisi nelle forme centrali





## INSUFFICIENZA SURRENALICA

<b>Terapia</b>	Idrocortisone p.o. 10mg/mq frazionato in 3 dosi. Triplicare la dose se febbre >38°C In caso di chirurgia maggiore o crisi adrenale: idrocortisone i.v. 50mg/m <sup>2</sup> in bolo → fleboclisi di 50-100 mg/m <sup>2</sup> /die Fludrocortisone p.o. 0,05-0,3 mg/die al mattino
<b>Follow-up</b>	Cortisolemia, ACTH a digiuno, valutare apporto di sale, presenza di edema, pressione arteriosa ogni 6 mesi o di necessità

4. **Ipoparatiroidismo.** È frequente nella APS-1 nei neonati e nella prima infanzia, ma anche in epoche successive in pazienti (spesso di sesso femminile) affetti da tiroidite di Hashimoto. È un tratto patognomonico della Sindrome di DiGeorge, ad insorgenza solitamente neonatale, talora anche più tardiva, su base autoimmunitaria. La sindrome da delezione del cromosoma 10p13-p14 con fenotipo simile alla DiGeorge è anche causa di ipoparatiroidismo su base congenita e autoimmunitaria.

**Tabella 11.** IEl associati a ipoparatiroidismo

## IPOPARIROIIDISMO

<b>Principali IEl associati</b>	Sindrome di DiGeorge Sindrome da delezione del cromosoma 10p13-p14 APS1 CHARGE
<b>Segni e sintomi</b>	Da ipocalcemia: Laringo- e broncospasma, tetania, e convulsioni (in neonati); affaticamento, confusione, parestesia, crampi muscolari, spasmi e aritmie (nei bambini più grandi)
<b>Indagini laboratoristiche</b>	Ca corretto (per albumina!) <2.2 mmol/L o Ca ionizzato <1.2mmol/L in due occasioni a distanza di 2 sett ↓ PTH o inappropriatamente nel range basso in corso di ipocalcemia, ↑PO <sub>4</sub> ,  <b>ATTENZIONE! Per diagnosi differenziale ipocalcemia</b> , dosare anche Mg, Cr, 25(OH)D, Amilasi, CK → ↑PTH, ↓ PO <sub>4</sub> , ↓ 25(OH)D: deficit di vit.D da malassorbimento ↑ PTH, PO <sub>4</sub> : lisi tumorale, rabdomiolisi, pseudoipoparatiroidismo
<b>Terapia</b>	Ipocalcemia acuta: ca gluconato 10% + 50mL destrosio 5% in 10-20' → Fleboclisi lenta di ca-gluconato 0.5-1.5mg/kg/h per 8-10h Ipocalcemia cronica: calcio carbonato per os (Ca citrato se ipocloridia, stipsi, uso di inibitori di pompa) + calcitriolo 0.25-2mcg/die Tiazidici se ipercalcemia perché aiutano a ridurre le perdite renali, MAI usare in APS1 con iposurrenalismo

**IPOPARIROIDISMO****Follow-up**

In pz ben controllati: dosaggio Ca, PO<sub>4</sub>, Mg ogni 6 mesi  
 In pazienti non ben controllati: dosaggi anche plurisettimanali.  
 1 volta all'anno: valutazione calciuria, creatinuria e eGFR su raccolta urine delle 24 h, imaging renale se litiasi renali o calcinosi sospetta  
 DEXA per valutazione della densità minerale ossea

5. **Ipogonadismo**: sia ipogonadotropo, tipico della sindrome di CHARGE, sia ipergonadotropo da danno del tessuto gonadico su base autoimmune o secondario a terapia condizionante per trapianto del midollo. L'**insufficienza ovarica prematura** spesso si associa anche a surrenalite.

**Tabella 12.** IEl associati a ipogonadismo

**IPOGONADISMO****Principali IEl associati**

Atassia-teleangectasia  
 Sindrome di CHARGE  
 APS-1  
 Malattia di Kostmann

**Segni e sintomi**

Nelle donne: amenorrea primaria o secondaria dei 40 anni  
 Nei maschi: criptorchidismo e ipogonadismo ipogonadotropo

**Indagini laboratoristiche**

↑ LH, FSH + ↓ E2 / Testosterone: ipogonadismo ipergonadotropo  
 ↓ LH, FSH, E2 / Testosterone: ipogonadismo ipogonadotropo

**Terapia****Terapia sostitutiva:**

FEMMINE: 17beta-estradiolo transdermico (patch da 25 mcg ogni 3,5 giorni) → iniziare con 1/8 di patch e aumentare ogni 6 mesi di 1/8 (3.1 mcg) fino a raggiungere la dose piena in 3 anni  
 Aggiungere dopo 12-18 mesi di terapia progestinico P.O. (5-10mcg medrossiprogesterone acetato) negli ultimi 7 giorni del ciclo mestruale  
 MASCHI: testosterone enantato/proprionato i.m.--> iniziare con 50mg al mese e incrementare di 50mg ogni 6-12 mesi, raggiunti i 150mg al mese ridurre l'intervallo ogni 2 settimane.  
 Esistono anche formulazioni in gel

**Follow-up**

Ogni 6 mesi dosaggio FSH, LH, E2/testosterone  
 DEXA peripuberale per valutazione BMD

Una menzione va fatta per il deficit del GH che rientra nelle cause endocrinologiche di ritardo della crescita (vedi paragrafo 8.4). Il deficit può esser causato dall'autoimmunità o conseguenza di alterazione diretta della via di segnale del GH. In quest'ultimo caso figurano i componenti della via di segnale JAK-STAT essenziale nello sviluppo del sistema immunitario e del signaling del GH. Una



variante omozigote di STAT5B, per esempio, causa ritardo di crescita da insensibilità al GH con bassa statura grave (-9.9 a -4.3 SD) non responsiva a terapia con GH ricombinante. In tal senso, promettente potrebbe essere la terapia con mecasermina (IGF1) sebbene il farmaco non abbia ancora tale indicazione di trattamento. Anche la perdita di funzione di STAT3 può indurre ritardo di crescita da down-regolazione del GHR. Altri difetti della via di segnale delle citochine possono anche manifestarsi come bassa statura, come l'alterazione della via PI3K-mTOR che può condurre a resistenza all'insulina e al GH. Quelli con mutazioni in PI3KR1 possono presentarsi con sindrome SHORT (Bassa statura, iperlassità legamentosa, ritardo della dentizione e lipodistrofia parziale) associata a iperIgM e linfadenopatia. Una riduzione della secrezione centrale di GH è stata anche descritta nella atassia-teleangectasia.

Di seguito verranno riportati, a titolo esemplificativo, alcuno IEL caratterizzati da fenotipo endocrinologico prevalente nell'età pediatrica o sintomi di esordio endocrinologici.

**APS1-Sindrome poliendocrina autoimmune tipo 1** (conosciuta anche come APECED (Poliendocrinopatia autoimmune, candidosi e distrofia ectodermica) è dovuta a mutazioni del gene AIRE e si associa a ipoparatiroidismo (80-85%) e insufficienza surrenalica (60-70%). Altre endocrinopatie sono DM1 (<20% dei casi), ipogonadismo (12%), tiroidite (10%) e ipopituitarismo (<2%).

**Sindrome IPEX** è una sindrome il cui acronimo riassume il quadro caratterizzato da immunodisregolazione, poliendocrinopatia ed enteropatia legata al cromosoma X e dovuta a mutazioni del gene FOXP3. Ha un esordio precoce, caratterizzato da una gravissima forma di DM1 neonatale, diarrea intrattabile, eczema, anemia e ipotiroidismo autoimmuni.

Nelle forme IPEX-like la dermatite precede le endocrinopatie. Le più comuni endocrinopatie sono il DM1 e la tiroidite, rispettivamente più frequenti nella IPEX e nella IPEX like. Più rara è l'adrenalite (5%).

Nell'ambito delle sindromi IPEX like, i pazienti con mutazioni di STAT5b and STAT1/3 GOF hanno il più alto tasso di endocrinopatia (90%).

**Sindrome di CHARGE** - ritardo di crescita post-natale (anche non associato a deficit di GH), e neurosviluppo, anomalie genitourinarie (presente ipoplasia gonadica 50-60%).

**Sindrome di DiGeorge/ Del 22q** caratterizzata da ipo/aplasia delle paratiroidi e del timo, dismorfismi facciali (impianto basso delle orecchie, schisi facciale sulla linea mediana, ipoplasia e retrazione della mandibola, ipertelorismo, filtro nasale corto) si associa anche ritardo della crescita, cardiopatia congenita e ritardo dello sviluppo psicomotorio. La sindrome generalmente esordisce nelle prime 48 h di vita come ipocalcemia. Le infezioni ricorrenti iniziano poco dopo la nascita. La prognosi spesso dipende dalla gravità della cardiopatia e del grado variabile di immunodeficienza a carico delle cellule T.

### **Quando rivolgersi all'endocrinologo per la valutazione di eventuali endocrinopatie iatrogene?**

1. Nel sospetto di Sindrome di Cushing iatrogena da terapia protratta con corticosteroidi per il riscontro di sintomi di intolleranza glucidica, obesità tronco-lare, ritardo di crescita, osteoporosi
2. Quando si deve svezzare dalla terapia corticosteroidea, al fine di valutare un'eventuale insufficienza surrenalica iatrogena
3. In pazienti che abbiano ricevuto trapianto di midollo allogenico perché la terapia condizionante con agenti alchilanti può causare ipogonadismo ipergonadotropo.

### **Conclusioni**

Le endocrinopatie sono una manifestazione frequente negli IEI, ma con buone chance terapeutiche nella maggior parte dei casi. Il pediatra deve identificare precocemente i sintomi per indirizzare il paziente verso un follow-up quanto più integrato possibile della malattia.



## Bibliografia essenziale

- Takasawa K, Kanegane H, Kashimada K, et al. Endocrinopathies in Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol*. 2021 Nov 23;12:786241.
- Strakova V, Elblova L, Johnson MB, et al. Screening of monogenic autoimmune diabetes among children with type 1 diabetes and multiple autoimmune diseases: is it worth doing? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2019 Oct 25;32(10):1147-1153
- Saverino S, Falorni A, et al. Autoimmune Addison's disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2020 Jan;34(1):101379.
- Clarke BL, Brown EM, Collins MT, et al. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016 Jun;101(6):2284-99. doi: 10.1210/jc.2015-3908. Epub 2016 Mar 4.
- Goudouris ES, Segundo GRS, Poli C. Repercussions of inborn errors of immunity on growth. *J Pediatr (Rio J)*. 2019 Mar-Apr;95 Suppl 1:49-58.
- Kahaly GJ, Frommer L. Polyglandular autoimmune syndromes. *J Endocrinol Invest*. 2018 Jan;41(1):91-98.
- Jamee M, Zaki-Dizaji M, Lo B, Abolhassani H, et al. Clinical, Immunological, and Genetic Features in Patients with Immune Dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked (IPEX) and IPEX-like Syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020 Sep;8(8):2747-2760.e7.
- Bergman JE, Janssen N, Hoefsloot LH, et al. CHD7 mutations and CHARGE syndrome: the clinical implications of an expanding phenotype. *J Med Genet*. 2011 May;48(5):334-42.
- Óskarsdóttir S, Boot E, Crowley TB, et al. Updated clinical practice recommendations for managing children with 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med*. 2023 Mar;25(3):100338.

## 8.6 NEUROLOGIA

*Emilia Cirillo, Emma Coppola, Gaetano Terrone*

Il sistema nervoso centrale è variamente coinvolto nei pazienti affetti da errori congeniti dell'immunità. In alcuni casi, le manifestazioni neurologiche possono rappresentare il segno di esordio di un quadro clinico complesso, come generalmente accade nell'atassia-teleangectasia; in altri casi, possono presentarsi acutamente sotto forma di encefaliti, come descritto nei difetti dell'immunità innata; oppure, possono essere rilevate nel corso del follow-up di bambini con forme sindromiche, come ad esempio nella sindrome da delezione 22q11.2. In alcuni disordini con caratteristiche di iper-infiammazione, i pazienti possono presentare segni suggestivi di neuro-infiammazione, talora caratterizzati da quadri clinici più sfumati (cefalea) o subacuti (meningite asettica), spesso ricondotti erroneamente a diagnosi di altra natura, ma che a volte si risolvono dopo un breve ciclo di terapie immunomodulanti. In questi pazienti non sono rare anomalie evidenziabili alla RMN dell'encefalo (aree di demielinizzazione, edema, segni di danno assonale) o a carico del liquido cefalorachidiano.

**L'atassia-teleangectasia (AT)** è una rara malattia multisistemica a trasmissione autosomica recessiva, prototipo degli errori congeniti del sistema immune associati a manifestazioni neurologiche. Tale condizione, dovuta a mutazioni del gene ATM è caratterizzata da atassia cerebellare progressiva, aprassia oculomotoria, teleangectasie (dilatazione cronica dei piccoli vasi del derma) sia oculari che cutanee, immunodeficienza combinata, radiosensibilità e aumentata suscettibilità a tumori (in particolare, leucemie e linfomi). Nella maggior parte dei casi, il fenotipo neurologico rappresenta il primo segno clinico della malattia. Tale condizione dovrebbe essere sospettata in un bambino che, dai 18 mesi di vita, continua ad avere un'andatura impacciata e/o barcollante e tende a cadere frequentemente. Altre manifestazioni comprendono: atassia del tronco, cioè difficoltà a rimanere seduti per oscillazioni del tronco anteroposteriori e laterali, spesso già evidenti intorno al sesto mese di vita, alterazioni delle abilità motorie fini (come difficoltà a vestirsi, mangiare, scrivere), alterazioni del linguaggio (parola scandita, eloquio lento), tremori, difficoltà di lettura per movimenti oculari anomali, strabismo, nistagmo, ipotonia e, in alcuni casi, epilessia. Raramente è riportata disabilità intellettiva. A causa della progressiva neurodegenerazione, la maggior parte dei bambini perde la capacità di deambulare autonomamente verso la fine della prima decade di vita. Le teleangectasie oculari compaiono di



solito tra 5-8 anni, ma la loro assenza non esclude la diagnosi di AT.

In caso di sospetto, è possibile, prima di inviare all'attenzione dello specialista, praticare degli esami di laboratorio, che comprendano: emocromo, che potrebbe evidenziare la presenza di linfopenia; dosaggio delle immunoglobuline sieriche, che potrebbero evidenziare un quadro di Iper IgM e/o deficit selettivo di IgA; dosaggio dell'alfa-fetoproteina, elevata nei pazienti con AT. La diagnosi differenziale viene posta con altre cause di atassia, quali l'*Ataxia Telangiectasia Like Disorder* (ATLD), la sindrome di *Nijmegen Breakage* (NBS), che pure si caratterizzano per la presenza di infezioni ricorrenti e immunodeficit, e l'atassia con aprassia oculomotoria di tipo 1 e 2.

**L'encefalite da HSV** deve sempre far sospettare ed escludere un immunodeficit, in particolare i **deficit dell'immunità innata**, che coinvolgono i pathway di riconoscimento del virus, tra cui anomalie a carico del TLR3.

Nel lattante si manifesta comunemente con febbre associata a letargia e convulsioni. Nei bambini più grandi si associa anche a sintomi neurologici focali, alterazione dello stato di coscienza e confusione. In caso di sospetto, il paziente deve essere immediatamente inviato alla gestione ospedaliera per la conferma della diagnosi, che prevede isolamento del virus su liquor cefalorachidiano, imaging (RMN encefalo) e approccio terapeutico tempestivo.

In alcuni pazienti sono, inoltre, riportati casi di **encefalopatia autoimmune post infezione da HSV**. Tale condizione, che richiede l'utilizzo di farmaci immunomodulanti, deve essere sospettata in caso di comparsa improvvisa di disturbi del comportamento, convulsioni, disturbi del movimento, afasia. In Tabella 13 sono riportati i principali segni neurologici acuti che in corso di infezione virale possono suggerire la presenza di un errore congenito dell'immunità.

Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è comune nei pazienti con **sindrome da delezione 22q11.2/sindrome di DiGeorge (DGS)**. La maggior parte dei pazienti presenta ritardo dello sviluppo psicomotorio, ritardo del linguaggio, impaccio sia nelle abilità motorie grossolane che fini, disabilità intellettiva. La DGS può associarsi ad alterazioni strutturali, come la polimicrogiria che, a sua volta, può determinare epilessia, ritardo di sviluppo e/o spasticità. Frequenti sono le problematiche neuropsichiatriche: disturbo dello spettro autistico, ADHD e, negli adolescenti, sviluppo di schizofrenia, depressione maggiore.

La **linfocitosi emofagocitica (HLH)** è una condizione acuta e potenzialmente mortale dovuta alla persistente e amplificata risposta del sistema immune nei confronti di un trigger, spesso un'infezione virale da EBV o CMV, che determina un rilascio eccessivo di citochine pro-infiammatorie (tempesta cito-

chinica). Esistono forme familiari, dovute a mutazioni di geni coinvolti nell'attività citotossica esercitata dai linfociti T CD8+ e dalle cellule natural killer (*PRF1*, *UNC13D* ed altri), e forme secondarie a malattie oncologiche, reumatologiche o infezioni. Il paziente presenta febbre, splenomegalia, citopenia, iper-ferritinemia e scadimento delle condizioni cliniche generali, fino alla disfunzione multiorgano. È possibile un coinvolgimento del SNC, che si manifesta con atassia, convulsioni, cefalea, alterazioni del movimento e disturbi visivi. Sono descritti, inoltre, dei casi con coinvolgimento isolato del SNC (CNS-HLH): in questo caso, la diagnosi differenziale con altre forme, quali l'encefalomielite acuta disseminata (ADEM), è possibile solo mediante analisi molecolare.

In Tabella 14, sono riportati altri sintomi/segni neurologici, ed alterazioni strutturali all'imaging (RMN encefalo), che, se identificate nel contesto di associazioni peculiari, possono indurre il sospetto di disordini del sistema immune. Per alcuni segni e sintomi (ad esempio ritardo dello sviluppo psicomotorio/disabilità intellettiva) sono riportati solo i più comuni errori congeniti dell'immunità.

**Tabella 13.** Segni e sintomi neurologici ad esordio acuto e sospetto diagnostico di IEI

Sintomi/segni	Cosa sospettare	Possibile IEI
Segni di lato, convulsioni, confusione in paziente febbrile	Encefalite da HSV1-2 Encefalopatia Acuta Necrotizzante (ANE)	Alterazione del pathway del TLR3 Deficit del gene RANBP2
Disturbi del comportamento e/o del movimento ad esordio acuto, afasia in paziente con pregressa encefalite	Encefalopatia autoimmune	Generalmente post encefalite da HSV

**Tabella 14.** Segni e sintomi neurologici e sospetto diagnostico di IEI

Sintomi/segni neurologici/ Neuroradiologici	Cosa sospettare (IEI)	Pensaci soprattutto se...
Atassia	Atassia-teleangiectasia ATLD, sindrome atassia-pancitopenia	Teleangiectasie oculocutanee, infezioni polmonari ricorrenti, suscettibilità a neoplasie, linfopenia, ipogammaglobulinemia con o senza iper-IgM, mielodisplasia
	CSN-HLH Sindrome di Griscelli	Citopenia, epatosplenomegalia, sindrome emofagocitica, albinismo oculocutaneo parziale, macchie ipo/iperpigmentate,
	DADA	Febbre intermittente, ipertensione, stroke, autoimmunità





Sintomi/segni neurologici/ Neuroradiologici	Cosa sospettare (IEI)	Pensaci soprattutto se...
Ritardo di sviluppo psicomotorio/disabilità intellettiva	SDG, deficit di TBX1, CHARGE  Deficit di GATA2  IPEX  DADA	Labiopalatoschisi, cardiopatia, ipocalcemia, facies peculiare, agenesia timica, polimicrogiria, atresia esofagea, anomalie dei genitali  Citopenia, suscettibilità ad infezioni e tumori ematologici  Diabete ad esordio precoce, dermatite, enteropatia  Febbre intermittente, ipertensione, stroke, autoimmunità
Convulsioni, Epilessia, meningite asettica	CSN-HLH, Sindrome di Griscelli  SDG  Aploinsufficienza A20 FMF Sindrome da Iper-IgD TRAPS, CANDLE, CINCA, NOMID, DADA  Deficit C1q inibitore	Citopenia, epatosplenomegalia, sindrome emofagocitica, albinismo oculocutaneo parziale, macchie ipo/iperpigmentate,  Polimicrogiria  Febbre periodica, epatosplenomegalia, linfadenopatia, artrite, sierosite, mialgie, rash, orticaria, dolore addominale, autoimmunità  Lesioni cutanee, infezioni croniche, aumentata suscettibilità ad infezioni batteriche e meningite, autoimmunità
Cefalea	CAPS, FMF, Sindrome da Iper-IgD, TRAPS e altre sindromi autoinfiammatorie  XLP  Deficit di DNasi II	Febbre periodica e manifestazioni infiammatorie  Ipogammaglobulinemia, suscettibilità all'infezione da EBV con rischio di HLH, linfomi  Anemia neonatale, glomerulonefrite, fibrosi epatica, artropatia deformante

Sintomi/segni neurologici/ Neuroradiologici	Cosa sospettare (IEI)	Pensaci soprattutto se...
Encefalopatia associata a calcificazioni intracraniche	Sindrome di Aicardi- Goutières ed altre autoinfiammatorie Deficit di C1q inibitore  Sindrome Coats plus	Encefalopatia ad esordio precoce e alterazioni cutanee  IUGR, insufficienza midollare
Vasculite cerebrale	DADA Deficit C1q inibitore Aploinsufficienza A20 FMF XLP	Manifestazioni iper-infiammatorie, suscettibilità a EBV, ipogammaglobulinemia
Aneurismi cerebrali	STAT3 LOF	Anomalie facciali peculiari, polmoniti ricorrenti, pneumatocele, ascessi freddi, candidiasi mucocutanea cronica, anomalie scheletriche e dentarie, aumentati livelli di IgE sieriche e ipereosinofilia
Demielinizzazione multifocale simmetrica della sostanza bianca emisferica, gangli della base, cervelletto	CSN-HLH, Sindrome di Griscelli CAPS, TRAPS Deficit di DNasi II	Febbre, sindrome emofagocitica, albinismo, parziale, manifestazioni autoinfiammatorie
Lesioni cerebellari, sindrome di Guillain-Barrè	ALPS	Linfoadenomegalia, epatosplenomegalia, citopenia autoimmune, autoimmunità
Microcefalia	Nijmegen breakage syndrome, Cernunnos/XLF, LIG4, SDG, discheratosi congenita	Ritardo di crescita, infezioni ricorrenti, immunodeficit combinato, aumentata suscettibilità a tumori, insufficienza midollare
Neuro LES	Deficit C1q inibitore  Aploinsufficienza A20	Angioedema, autoimmunità, infezioni croniche Malattie infiammatorie croniche intestinali early-onset
Paralisi ischemica transitoria	Deficit GATA2	Suscettibilità a micobatteri, HPV, proteinosi alveolare, linfo proliferazione

**Abbreviazioni:** ATLD, Ataxia Telangiectasia Like Disorder; CANDLE, Sindrome dermatosi neutrofila atipica cronica-li-podistrofia-temperatura elevata; CAPS, Sindromi periodiche associate alla criopirina; CHARGE, coloboma, cardiopatia, atresia coane, ritardo di crescita, anomalie dei genitali e anomalie delle orecchie; CINCA, sindrome neurologica, cutanea e articolare cronica infantile; CSN, sistema nervoso centrale; DADA, Deficit Adenosina Deaminasi 2; EBV, Epstein-Barr virus; FMF, Febbre mediterranea familiare; GATA, GATA binding protein 2; HLH, linfoistocitosi emofagocitica; IPEX, Immunodisregolazione, poliendocrinopatia, enteropatia X-linked; LES, lupus eritematoso sistemico; NOMID, sindrome infiammatoria multisistemica ad esordio neonatale; SDG, Sindrome di DiGeorge; STAT3 LOF, loss of function; TRAPS, Sindromi periodiche associate al recettore TNF; XLP, sindrome linfo proliferativa X-linked.



## Bibliografia essenziale

- McDonald-McGinn DM, Sullivan KE, Marino B, et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Nov 19;1:15071
- Lindahl H, Bryceson YT. Neuroinflammation Associated With Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol*. 2022 Jan 19;12:827815.
- Le Doare K, Menon E, Patel D, et al. Fifteen minute consultation: managing neonatal and childhood herpes encephalitis. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2015 Apr;100(2):58-63.
- Cirillo E, Polizzi A, Soresina A, et al. Progressive Depletion of B and T Lymphocytes in Patients with Ataxia Telangiectasia: Results of the Italian Primary Immunodeficiency Network. *J Clin Immunol*. 2022 May;42(4):783-797.
- Rothblum-Oviatt C, Wright J, Lefton-Greif MA, et al. Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet J Rare Dis*. 2016 Nov 25;11(1):159.
- Skouboe MK, Werner M, Mogensen TH. Inborn Errors of Immunity Predisposing to Herpes Simplex Virus Infections of the Central Nervous System. *Pathogens*. 2023 Feb 13;12(2):310.
- Giardino G, De Luca M, Cirillo E, et al. Two Brothers with Atypical UNC13D-Related Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Characterized by Massive Lung and Brain Involvement. *Front Immunol*. 2017 Dec 21;8:1892.
- Cirillo E, Giardino G, Gallo V, et al. Intergenerational and intrafamilial phenotypic variability in 22q11.2 deletion syndrome subjects. *BMC Med Genet*. 2014 Jan 2;15:1
- Cirillo E, Cancrini C, Azzari S, et al. Clinical, Immunological, and Molecular Features of Typical and Atypical Severe Combined Immunodeficiency: Report of the Italian Primary Immunodeficiency Network. *Front Immunol*. 2019 Aug 13;10:1908.

## 8.7 FEGATO

*Valeria Delle Cave, Francesco Esposito, Giuseppe Maggiore, Fabiola Di Dato, Raffaele Iorio*

Il fegato svolge un ruolo di primaria importanza dal punto di vista immunitario (produzione di proteine di fase acuta, eliminazione dei linfociti attivati, sorveglianza tumorale, induzione della tolleranza verso antigeni "self"). Un coinvolgimento epatico può presentarsi in numerose patologie sistemiche (sepsi, connettiviti, neoplasie) e nelle immunodeficienze congenite ed acquisite.

I quadri clinici variano da situazioni pauci/asintomatiche con sole alterazioni laboratoristiche (più comunemente ipertransaminasemia) a situazioni di estrema gravità con ittero e segni di ipertensione portale.

Secondo un criterio cronologico (durata maggiore o minore di 6 mesi), le epatopatie vengono distinte in acute e croniche. Le forme acute hanno solitamente una maggiore espressività clinica (ittero, urine ipercromiche, feci ipo-acoliche), mentre le croniche hanno espressività clinica più subdola e spesso, nelle fasi iniziali, sono asintomatiche.

### Di fronte a quali quadri epatici, il pediatra deve sospettare un'immunodeficienza?

Quando il pediatra si trova di fronte ad un bambino con epatopatia acuta o cronica, nella ricerca dell'eziologia bisogna essere consapevoli che condizioni diverse possono manifestarsi con gli stessi quadri clinici. Soprattutto nei casi in cui non vi è una causa chiara che possa spiegare il quadro clinico, ancor più se l'epatopatia si manifesta in un paziente con storia o segni di allarme per un disturbo dell'immunità, è opportuno sospettare un'immunodeficienza. Un'immunodeficienza va peraltro ricercata in condizioni quali la colangite sclerosante, l'epatite autoimmune, gli ascessi epatici e l'iperplasia nodulare rigenerativa perché spesso possono sottendere un disordine del sistema immunitario.

La **Colangite Sclerosante (CS)** è un'epatopatia colestatica cronica caratterizzata da infiammazione e progressiva fibrosi oblitterante dei dotti biliari intraepatici e/o extraepatici. Il sospetto diagnostico si basa su una combinazione di criteri clinici (prurito e astenia, talvolta anche ittero e dolore addominale), sierologici (elevazione delle gammaGT, aumento degli acidi biliari sierici, talvolta iperbilirubinemia coniugata), e di imaging. Diagnostico è l'aspetto colangiografico a "corona di rosario" dell'albero biliare. In caso di colangite dei piccoli dotti biliari



può essere necessaria l'esecuzione della biopsia epatica, poiché il danno biliare confinato ai piccoli dotti non si evidenzia alla colangio-RM. In età pediatrica si possono distinguere le seguenti forme di CS: la neonatale; l'autoimmune; la primitiva e le secondarie. Le forme di CS autoimmune e primitiva sono fortemente associate alle malattie infiammatorie intestinali. Le forme secondarie includono diverse condizioni, tra cui: immunodeficienze primarie o acquisite, anemia falciforme, disturbi vascolari, lesioni ischemiche, disturbi ematologici, fibrosi cistica e altre condizioni genetiche.

Nell'ambito dei deficit congeniti dell'immunità, la *sindrome da Iper-IgM* è più comunemente associata a CS. In una percentuale significativa di pazienti con sindrome da Iper-IgM, caratterizzata da deficit di CD40 ligando, si evidenzia infezione cronica da *Cryptosporidium parvum* che tende ad associarsi ad un decorso più severo della colangiopatia. Nei pazienti con CS, con dato anamnestico di gravi infezioni ricorrenti e livelli di IgM aumentati (ma talvolta anche normali) deve essere sospettata questa immunodeficienza. Coesiste in una percentuale dei casi notevole riduzione o addirittura assenza di IgG, IgA e IgE.

Tra le CS associate a disordini immunologici vi è anche la **Colangite Sclerosante IgG4-correlata**, forma secondaria che rientra tra le manifestazioni cliniche della malattia IgG4-correlata (IgG4-RD), una condizione fibro-infiammatoria sistemica. La CS IgG4-correlata è una malattia infiammatoria dell'albero biliare, rara in età pediatrica, caratterizzata da elevati livelli sierici di IgG4 e infiltrazione di plasmacellule IgG4+ nelle pareti del dotto biliare.

**L'Epatite Autoimmune** (AIH) è un processo infiammatorio epatico, generalmente caratterizzato da ipertransaminasemia, ipergammaglobulinemia, positività di autoanticorpi sierici ed evidenza istologica di epatite all'interfaccia. L'AIH può associarsi ad una serie di condizioni immunologiche quali: l'APECED (Poliendocrinopatia autoimmune, candidosi e distrofia ectodermica), la *Sindrome IPEX* (Immunodisregolazione, Poliendocrinopatia, Enteropatia, X-linked), l'*Immunodeficienza Comune Variabile* (CVID) e la *Sindrome da Iper-IgM*. Tali condizioni sono legate a mutazioni di geni coinvolti nella risposta immunitaria, in particolare l'APECED è dovuta a mutazioni del gene *AIRE*; mentre nell'IPEX si riscontrano mutazioni a carico del gene *FOXP3*.

L'AIH associata alla sindrome *APECED* può presentarsi con manifestazioni variabili che vanno da lievi alterazioni laboratoristiche asintomatiche sino all'insufficienza epatica fulminante con necessità di trapianto epatico d'urgenza. Nei pazienti con AIH e *APECED* sono solitamente presenti autoanticorpi anti-microsoma di fegato e di rene (anti-LKM1). Il pediatra dovrà sospettarla in un bambino con

epatopatia in presenza di candidosi cronica, ipoparatiroidismo, o manifestazioni autoimmuni associate endocrine o comunque multiple, anche in assenza di altre manifestazioni cliniche. Nei pazienti con AIH senza positività degli autoanticorpi (sieronegativa) va comunque sospettata un'immunodeficienza. È importante notare, inoltre, che i pazienti con *CVID* ed ipogammaglobulinemia spesso presentano livelli bassi o indosabili di autoanticorpi, il che rende ancor più difficile la diagnosi di AIH. In tali casi, sarà la biopsia epatica a supportare l'orientamento diagnostico.

Gli **ascessi epatici** sono raccolte suppurative del parenchima epatico. La diagnosi si basa su criteri clinici (febbre, dolore addominale, malessere generale, aumento degli indici di flogosi e talvolta epatomegalia) e di imaging (l'ecografia rappresenta il primo step diagnostico, ma talvolta possono essere necessarie TC o RMN). Ascessi epatici possono riscontrarsi nella *Malattia Granulomatosa Cronica (CGD)*, una rara immunodeficienza primaria caratterizzata da un difetto nel processo di fagocitosi. Nei pazienti con *CGD*, gli ascessi epatici sono caratteristicamente diversi da quelli dei pazienti immunocompetenti (radiograficamente appaiono come masse dense, settate con una pseudocapsula fibrosa), spesso recidivanti e necessitano di prolungati cicli di terapia antimicrobica. Pertanto, in qualsiasi bambino con ascesso epatico sospetto o accertato, anche in assenza di un'anamnesi suggestiva per immunodeficit, è opportuno indagare la presenza di immunodeficienza ed escludere, in primis, la *CGD*.

L'**iperplasia rigenerativa nodulare del fegato (NRH)** è una condizione caratterizzata dalla trasformazione benigna del parenchima epatico in noduli ampiamente distribuiti nell'organo in assenza di fibrosi perinodulare, che la differenzia dai noduli cirrotici. I sintomi possono essere assenti o variabili fino a quadri di ipertensione portale conclamata. Tale condizione si pensa sia il risultato di una vasculopatia intraepatica con alterazione del flusso sanguigno portale e rischio di progressione verso l'ipertensione portale. L'*NRH* è solitamente identificata come incidentaloma all'ecografia addome. La diagnosi differenziale va posta con tutte le altre lesioni epatiche focali, solitamente con l'ausilio di imaging di secondo livello e talvolta con la biopsia epatica che rappresenta il gold-standard diagnostico. L'*NRH* può riscontrarsi nei pazienti sottoposti a chemioterapia e in altre condizioni quali la sindrome di Abernethy (condizione in cui per l'assenza congenita della vena porta il sangue refluo dall'intestino e dalla milza drena direttamente nella vena cava inferiore bypassando il fegato), malattie autoimmuni, reumatologiche ed ematologiche.



Tra le immunodeficienze, nei pazienti con *NRH* va sempre esclusa una *CVID* per l'elevata frequenza di associazione tra queste due condizioni. In questi casi, il coinvolgimento epatico sembra dovuto ad un fenomeno autoimmune solitamente mediato dalle cellule *CD8* che porta prima alla distruzione degli epatociti e successivamente ad un processo rigenerativo in grado di determinare ipertensione portale talvolta con evoluzione grave.

**In conclusione**, nei pazienti con immunodeficienza già diagnosticata un coinvolgimento epatico è atteso. Una sfida maggiore riguarda il ruolo del pediatra nel sospettare un difetto della risposta immune quando si trova di fronte ad un'epatopatia senza una chiara eziologia ed in quelle forme che più frequentemente si associano ad immunodeficienza (*CS*, *AIH*, ascessi epatici, *NRH*). In ogni caso è importante che ci sia una stretta collaborazione tra il pediatra generalista e gli specialisti di riferimento sia nella fase diagnostica che in quella gestionale.

#### **Bibliografia essenziale**

- Mackay IR. Hepatoimmunology: a perspective. *Immunol Cell Biol.* 2002;80:36-44.
- Hadžić N. (2021). Liver Disease in Immunodeficiencies in Children. In J. Bezerra, C. Mack, & B. Shneider (Authors) & F. Suchy, R. Sokol, & W. Balistreri (Eds.), *Liver Disease in Children* (pp. 383-400). Cambridge: Cambridge University Press
- Di Giorgio A, Vergani D, Mieli-Vergani G. Cutting edge issues in juvenile sclerosing cholangitis. *Dig Liver Dis.* 2022 Apr;54:417-427.
- Lazaridis KN, LaRusso NF. The Cholangiopathies. *Mayo Clin Proc.* 2015;90:791-800
- Kemme S, Mack CL. Pediatric Autoimmune Liver Diseases: Autoimmune Hepatitis and Primary Sclerosing Cholangitis. *Pediatr Clin North Am;* 2021;68:1293-1307.
- Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. *J Autoimmune Dis.* 2004 Oct 15;1:2.
- Lankisch TO, Jaeckel E, Strassburg CP. The autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy or autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Semin Liver Dis.* 2009 Aug;29:307-14.
- Muorah M, Hinds R, Verma A, et al. Liver abscesses in children: a single center experience in the developed world. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006 Feb; 42:201-6.
- Hartleb M, Gutkowski K, Milkiewicz P. Nodular regenerative hyperplasia: evolving concepts on underdiagnosed cause of portal hypertension. *World J Gastroenterol.* 2011 Mar 21;17:1400-9.
- Fuss IJ, Friend J, Yang Z, et al. Nodular regenerative hyperplasia in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2013 May;33:748-58.

## 8.8 CUTE

*Riccardo Castagnoli, Gian Luigi Marseglia*

Le manifestazioni cutanee nei difetti congeniti dell'immunità sono comuni, si presentano, infatti, nel 40-70% dei pazienti con una forma di immunodeficienza diagnosticata. Per i pazienti per cui esiste un sospetto diagnostico di immunodeficienza primitiva, le alterazioni della cute possono fornire molte indicazioni riguardo la suscettibilità alle infezioni, la predisposizione a malattie allergiche e la presenza di un'alterazione della risposta infiammatoria. Le infezioni cutanee caratterizzano molte immunodeficienze primitive, tuttavia numerosi disordini immunitari si associano anche a manifestazioni cutanee non infettive: lesioni eczematose, eritrodermia, granulomi cutanei, autoimmunità e displasia della cute e degli annessi cutanei.

### Infezioni cutanee

La cute rispecchia la condizione generale del paziente, pertanto le infezioni cutanee possono fornire un valido orientamento diagnostico verso una condizione di immunodeficienza primitiva. In presenza di infezioni cutanee, nel sospetto di una patologia immunitaria sottostante:

1. è importante valutare la presenza di eventuali ulteriori indicatori di malattia: i sintomi non cutanei (per esempio infezioni di altre sedi, ritardo di crescita, condizioni autoimmuni) possono aiutare ad identificare il problema e pertanto il quadro clinico complessivo deve essere analizzato attentamente;
2. è fondamentale non considerare a priori come "contaminanti" eventuali patogeni atipici e inusuali individuati in questi pazienti, perché potrebbero al contrario essere responsabili di infezioni opportunistiche in questo contesto di malattia del sistema immunitari;
3. è importante ricordare che i pazienti con una forma di immunodeficienza potrebbero non presentare i sintomi tipici di infezione, come la suppurazione o la formazione di ascessi, come accade in caso di neutropenia severa o alterazione della funzionalità dei neutrofili.

Le infezioni cutanee nei pazienti con immunodeficit possono essere classificate secondo diversi criteri.





In primo luogo, queste infezioni possono essere distinte in infezioni disseminate, con localizzazione secondaria alla cute, e in infezioni cutanee primitive. Queste infezioni possono essere causate da patogeni tipici o opportunistici.

Le infezioni possono, inoltre, essere categorizzate in accordo con il tipo di patogeno causativo (batterio, virus, fungo, parassita) e, in aggiunta, possono essere raggruppate a seconda del tipo di difetto immunologico presente.

Dalla combinazione di questi fattori, si può giungere a un'ipotesi diagnostica precisa.

Le **infezioni batteriche della cute** sono una delle più frequenti manifestazioni nei pazienti con immunodeficienza. Tali infezioni, incluse le follicoliti, gli ascessi, i foruncoli e l'impetigine, sono comunemente individuate nei pazienti con alterazioni quantitative e qualitative dei neutrofili.

Queste includono la neutropenia congenita, la sindrome da deficit di adesione leucocitaria (LAD) e la malattia granulomatosa cronica (CGD).

Gli ascessi cutanei nella sindrome con iper-IgE autosomica dominante (AD-HIES) sono principalmente causati da *Staphylococcus aureus*. Le infezioni cutanee in questa malattia sono spesso descritte come "ascessi freddi", con una ridotta risposta infiammatoria rispetto a quanto normalmente osservato nel caso di ascessi stafilococcici tipici.

Anche nella sindrome con iper-IgE autosomica recessiva (AR-HIES) dovuta alla mutazione di DOCK8 è presente un'aumentata suscettibilità agli ascessi cutanei da Stafilococco.

Le mutazioni geniche coinvolte nell'asse di segnalazione IFNG/IL12, tra cui *IFN-GR1*, *IFNGR2*, *IL12B*, *IL12RB1* e *STAT1*, determinano il fenotipo clinico della "suscettibilità mendeliana alle malattie micobatteriche". Questi pazienti sono suscettibili a **infezioni disseminate da micobatteri** e la presenza di lesioni micobatteriche cutanee è un indicatore dell'estensione di malattia.

Le **infezioni da candida** sono le più comuni infezioni fungine riportate nei pazienti con immunodeficienze primitive, in particolare in quelli con *un'alterazione nell'immunità mediata da Th17*. Candidiasi persistenti e di difficile trattamento durante i primi mesi di vita potrebbero segnalare un *deficit in numero e/o funzione dei linfociti T, includendo le forme di immunodeficienza grave combinata (SCID) e la sindrome di DiGeorge*, sebbene in questi pazienti la candidiasi sia solo una delle possibili manifestazioni di aumentata suscettibilità alle infezioni.

La candidiasi, presente in associazione con l'eczema e le infezioni cutanee da *Staphylococcus aureus*, si manifesta in pazienti con le già citate forme autoso-

mica recessiva e dominante della sindrome con iper-IgE. Le infezioni cutanee da *Candida* in pazienti con endocrinopatie autoimmuni si associano a APECED (sindrome autoimmune poliendocrina), causata da mutazioni nel gene regolatore dell'autoimmunità (AIRE) che è coinvolto nella regolazione della tolleranza immunologica. La candidiasi mucocutanea è spesso la prima e la più frequente manifestazione di APECED. I pazienti con malattia granulomatosa cronica (CGD) sono particolarmente suscettibili alle infezioni fungine da *Aspergillus*. Nonostante siano più frequenti le aspergillosi polmonari e sistemiche, sono stati riportati anche casi di lesioni cutanee aspergillari.

Sebbene non risultino frequenti quanto le infezioni cutanee batteriche e fungine, alcune **infezioni cutanee virali** possono essere caratteristiche di specifiche immunodeficienze.

La presenza di infezioni virali della cute è un fattore distintivo della forma autosomica recessiva della *sindrome con iper-IgE dovuta alla mutazione di DOCK8 (AR-HIES)* rispetto alla forma autosomica dominante della stessa malattia (AD-HIES). I pazienti con *DOCK8* mutato possono sviluppare infezioni cutanee estese da mollusco contagioso, herpes zoster, herpes simplex, così come patologie maligne associate alla persistenza di queste infezioni virali.

Le infezioni da herpes virus (virus herpes simplex, virus Epstein-Barr, citomegalovirus, virus varicella zoster) possono manifestarsi con lesioni cutanee nei pazienti con un *deficit delle cellule T e/o delle cellule NK*.

Il papilloma virus umano (HPV) può causare lesioni verrucose croniche e/o severe in certi pazienti con immunodeficienza. I pazienti con epidermodisplasia verruciforme, causata dalle mutazioni in *EVER1* o *EVER2*, hanno una aumentata suscettibilità al HPV e sviluppano delle lesioni verruciformi disseminate con un alto potenziale di trasformazione maligna. Infezioni croniche da HPV sono anche una caratteristica della *sindrome WHIM* (verruche, ipogammaglobulinemia, infezioni, mielocatessi), la quale è dovuta ad una mutazione con guadagno di funzione in *CXCR4*.

## Manifestazioni cutanee non infettive

La maggioranza delle manifestazioni cutanee non infettive individuate nei difetti congeniti dell'immunità non sono patognomonici per immunodeficienza e sono riscontrabili anche in soggetti con un normale sviluppo del sistema immunitario. Tuttavia, la gravità e la persistenza di tali quadri deve far sorgere il sospet-



to di immunodeficit. Inoltre, sono descritte alcune manifestazioni cutanee che risultano tipicamente associate a specifici difetti congeniti dell'immunità tanto che il loro riscontro rende necessaria l'esecuzione di un'analisi immunologica approfondita.

Ad esempio, nel caso dell'ataxia-teleangiectasia, oltre alla presenza del difetto immunologico umorale e cellulare e di ataxia cerebellare, i pazienti affetti sviluppano **teleangiectasie oculocutanee**, ben visibili soprattutto a livello della congiuntiva bulbare.

Diversi disordini autosomici recessivi sono invece caratterizzati da un parziale albinismo in congiunzione con la condizione di immunodeficienza. Questi includono la sindrome di Griscelli di tipo 2 (mutazione di RAB27A), la sindrome di Chediak-Higashi (mutazione LYST) e la sindrome di Hermansky-Pudlak di tipo 2 (mutazione di AP3B1). Questi pazienti mostrano un'**ipopigmentazione cutanea** e presentano una **lucentezza grigio-bianca dei capelli**.

L'**eczema** è una manifestazione molto frequente nella popolazione generale pediatrica e appare essere ancora più comune nei bambini affetti da difetti congeniti dell'immunità, presentandosi tra il 13% e il 22% dei casi di immunodeficit. L'eczema grave che si manifesta precocemente dopo la nascita è caratteristico di diverse malattie da disregolazione immunitaria.

L'eczema grave precoce è una caratteristica condivisa delle sindromi da iper-IgE sia nella forma autosomica recessiva sia in quella autosomica dominante. La sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS) è una immunodeficienza ad ereditarietà dipendente dal cromosoma X, causata da una mutazione del gene WAS. Il fenotipo clinico di WAS presenta una triade clinica caratterizzata da: trombocitopenia con piastrine di ridotte dimensioni, eczema e infezioni ricorrenti; un rash eczematoso è riportato nell'80% dei pazienti con WAS e manifestazione petecchiali da trombocitopenia possono essere un'ulteriore manifestazione cutanea. I maschi affetti da disfunzione del sistema immunitario, poliendocrinopatia ed enteropatia legata al cromosoma X (IPEX), dovuta alla mutazione in FOXP3, presentano tipicamente un eczema severo, diabete mellito, diarrea intrattabile, scarsa crescita staturo-ponderale e altri fenomeni autoimmuni che si manifestano nei primi mesi di vita.

Mutazioni ipomorfe di diversi geni correlati a immunodeficienza grave combinata (SCID) possono causare l'espansione di una popolazione oligoclonale di cellule T abnormalmente attivate, dando un fenotipo clinico di sindrome di Omenn (OS). Sebbene la presentazione cutanea iniziale della OS sia più comunemente una **eritrodermia** (definita dal coinvolgimento di più del 90% della su-

perficie cutanea corporea da eritema e/o desquamazione), OS si può presentare anche con un grave eczema neonatale.

La sindrome di Comel-Nertherton è una forma autosomica recessiva secondaria alla mutazione di SPINK5 ed è caratterizzata dalla presenza di una **ittiosi congenita** con pelle inspessita e a squame, **manifestazioni atopiche** (inclusa la dermatite atopica), un aumento delle IgE sieriche e degli eosinofili e la presenza di infezioni ricorrenti dell'apparato respiratorio, della cute e del tratto gastro-intestinale.

È ben noto che i pazienti con immunodeficienza primitiva presentino un aumentato rischio di disregolazione immunitaria e condizioni autoimmuni. Anche la cute può essere un bersaglio di autoimmunità.

I soggetti con mutazioni geniche per i fattori del complemento (C1, C2, C4), sebbene non abbiano anticorpi anti-DNA a doppia catena, spesso presentano manifestazioni tipicamente associate al Lupus Eritematoso Sistemico come il **rash malare fotosensibile e le vasculiti mucocutanee**.

**Manifestazioni cutanee autoimmuni** come la **vitiligine** e l'**alopecia** si presentano con maggior prevalenza che nella popolazione generale nei pazienti con la già citata sindrome APECED e con immunodeficienze umorali, tra le quali si includono il deficit selettivo di IgA e l'immunodeficienza comune variabile (CVID).

Con riferimento alle **lesioni cutanee granulomatose**, i granulomi cutanei sono meno comuni rispetto ai granulomi degli organi viscerali nella malattia granulomatosa cronica (CGD), ma quando presenti sono tipicamente ben definiti e non necrotizzati. La malattia granulomatosa multisistemica è una complicanza ben documentata dell'immunodeficienza comune variabile (CVID), che si presenta nel 8-10% di tutti i pazienti con CVID.

Nella già citata atassia-teleangectasia, i granulomi, che interessano gli arti, il volto e raramente il tronco, possono essere il primo elemento clinico a comparire, anticipando lo sviluppo degli altri elementi tipici della patologia. Mutazioni ipomorfiche di RAG possono presentarsi tardivamente nell'infanzia o anche nella vita adulta e sono caratterizzate da autoimmunità (vasculiti, nefriti, citopenie, vitiligine, psoriasi, miastenia grave, sindrome di Guillain-Barré) e/o da manifestazioni infiammatorie come le lesioni granulomatose che possono colpire diversi organi, compresa la cute, e la osteomielite cronica multifocale (CRMO). In ragio-



ne di queste caratteristiche, questa condizione è stata definita come immunodeficienza combinata con granulomi e/o autoimmunità (CID-G/AI).

Infine, ci sono immunodeficienze primitive ben definite che presentano come caratteristica peculiare una **displasia primitiva della cute e/o degli annessi cutanei**.

La **displasia ectodermica legata all'X** associata ad *immunodeficienza* (XL-EDA-ID) è causata da mutazioni ipomorfiche in IKBKG (NEMO). Le manifestazioni cutanee includono ipoidrosi/anidrosi e anomalie dei capelli. Questi si presentano ispessiti, e possono anche essere ridotti (ipotricosi) o assenti (atricosi).

La **condrodisplasia metafisaria di McKusick**, anche nota come ipoplasia cartilagine-capelli (CHH), è una forma di bassa statura congenita dovuta ad una mutazione autosomica recessiva del gene RMRP, spesso descritto nelle popolazioni finlandese e Amish. La maggior parte dei pazienti con CHH presenta dei classici capelli fini, chiari e sparsi.

La **discheratosi congenita (DKC)** è una sindrome di invecchiamento precoce associata a telomeri corti. Le manifestazioni cutanee della DKC includono un'anomala pigmentazione cutanea che spesso si manifesta come una pigmentazione reticolare del collo e del torace associata a dita e unghie displastiche. Nella già citata *APECED*, i pazienti presentano capelli e unghie distrofiche a causa delle complicanze infettive e autoimmuni.

Nella *sindrome di Netherton*, i capelli, le ciglia e le sopracciglia presentano anomalie caratteristiche che li rendono radi e fragili (la cosiddetta "tricoressi invaginata" con "capelli a bambù" osservati in microscopia ottica).

## Conclusioni

La cute può spesso fungere da "finestra", permettendo di osservare direttamente alterazioni che si verificano anche in altri apparati dell'organismo. Le manifestazioni cutanee possono rappresentare alcuni dei segni clinici precoci di una forma di immunodeficienza. Per i pazienti per cui esiste un sospetto diagnostico di malattia del sistema immunitario, le patologie della cute possono fornire molte indicazioni riguardo la suscettibilità alle infezioni, la predisposizione a malattie allergiche e

la presenza di un'alterazione della risposta infiammatoria. La conoscenza della possibile associazione tra manifestazioni cutanee e immunodeficienze può permettere di definire precocemente la diagnosi di malattia ed effettuare di conseguenza un trattamento adeguato, il quale risulta associarsi ad una migliore qualità e aspettativa di vita quanto più precoce è la sua applicazione.

### **Bibliografia essenziale**

- Notarangelo LD, Castagnoli R. Immunodeficienze primitive, in Immunologia e Allergologia pediatrica, a cura di Ugazio A.G. e Marseglia G.L., Pacini Editore, 2023.
- Sullivan & Stiehm, Stiehm's immune deficiencies, Elsevier/AP, 2014.
- Lehman H., Skin manifestations of primary immune deficiency, *Clinical Reviews in Allergy & immunology* 2014;46(2):112-19.
- Martire B, Panza R, Canessa C, et al. Manifestazioni cutanee nei difetti primitivi dell'immunità, a cura della Commissione di Immunologia della SIAIP: *Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica* 2016(3):2-13.
- Castagnoli R, Lougaris V, Giardino G, et al. Immunology Task Force of the Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology (SIAIP). Inborn errors of immunity with atopic phenotypes: A practical guide for allergists. *World Allergy Organ J.* 2021 Feb 22;14(2):100513.



## 8.9 RENE E VIE URINARIE

*Pierluigi Marzuillo, Giulio Rivetti, Anna Di Sessa, Stefano Guarino*

### Le infezioni urinarie e fattori predisponenti

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) sono tra le più frequenti infezioni dell'età pediatrica. Si stima che circa il 7% dei bambini con febbre nei primi due anni di vita abbia un'IVU e che all'età di 6 anni circa il 2% dei maschi e l'8% delle femmine abbia sperimentato almeno un episodio di infezione urinaria. Le IVU sono la manifestazione clinica più comune di un'uropatia congenita. Anche la stipsi può incrementare il rischio di infezioni urinarie in quanto favorisce la comparsa di un residuo post-minzionale e quindi stasi urinaria.

Un flusso urinario adeguato e l'uroepitelio intatto sono tra i principali fattori di difesa contro le IVU. Non a caso le principali uropatie (quali reflusso vescico-ureterale, megauretere ostruttivo, valvole uretrali posteriori ecc.) determinano un incrementato rischio di infezioni perché determinano stasi urinaria.

Una condizione di immunodeficienza, in genere, non predispone all'insorgenza di IVU, per cui le IVU, come unica manifestazione, non inducono il sospetto di un IEI.

Generalmente si possono manifestare IVU ricorrenti, con insorgenza di fibrosi vescicale, nei pazienti sindromici come nel caso della sindrome di DiGeorge che si accompagna ad una condizione di immunodeficienza ma anche a uropatia congenita.

### Immunodepressione secondaria a patologia renale

Tra le patologie renali che possono predisporre ad un rischio incrementato di infezioni sistemiche ricordiamo la sindrome nefrosica. Quest'ultima può predisporre direttamente ad un aumentato rischio di contrarre un'infezione attraverso la perdita urinaria di immunoglobuline, difetti di opsonizzazione (per ridotta concentrazione del fattore B e T), una funzione linfocitaria T compromessa e la presenza di edemi, o indirettamente a causa degli effetti della terapia immunosoppressiva necessaria per il controllo della sindrome nefrosica. Le infezioni, infatti, rappresentano la complicanza più frequente della sindrome nefrosica e sono principalmente mediate da organismi capsulati (come *Streptococcus pneumoniae*) o batteri Gram-negativi (prevalentemente *Escherichia coli*). Nel corso di sindrome nefrosica, esiste il rischio di sviluppare la peritonite batterica con una

incidenza del 2-6%. Le infezioni virali, invece, sono ben tollerate ad eccezione della varicella, che può causare gravi complicazioni ed essere potenzialmente letale. Per questi motivi prima di iniziare la terapia immunosoppressiva, se le condizioni del paziente lo consentono, sarebbe opportuno procedere alle vaccinazioni, soprattutto quelle con virus attenuati.

Nei pazienti con sindrome nefrosica steroideo-dipendente, le dosi elevate di corticosteroidi, in particolare se utilizzate per cicli prolungati, possono causare la soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisario-surrenale che a sua volta può provocare una suscettibilità aumentata ad infezioni virali, batteriche e fungine. Oltre a ciò, i farmaci utilizzati in seconda linea nel trattamento della sindrome nefrosica steroideo-dipendente (come ciclofosfamide, ciclosporina o micofenolato), possono ridurre la capacità del nostro organismo di combattere le infezioni. Un ulteriore farmaco che può predisporre all'insorgenza di infezioni utilizzato nei pazienti con sindrome nefrosica steroideo-dipendente o con ricadute frequenti è il Rituximab, un anticorpo monoclonale anti-CD20. L'ipogammaglobulinemia è comune complicanza nei bambini trattati con rituximab e sebbene la maggior parte dei bambini rimanga asintomatica, in questi pazienti il rischio di infezione non è trascurabile e possono verificarsi infezioni gravi.

Tra le patologie renali che possono portare ad un rischio incrementato di infezioni sistemiche, vi sono inoltre tutte le glomerulopatie che necessitano di terapia immunosoppressiva come ad esempio la glomerulonefrite membranosa, la granulomatosi di Wegener o la nefropatia a IgA. In quest'ultima, è stato dimostrato un aumentato rischio di eventi avversi gravi, e principalmente di infezioni, tra i pazienti in terapia con metilprednisolone e proteinuria maggiore di 1 grammo al giorno.

È importante, inoltre, sottolineare come le infezioni siano la principale complicanza, nonché motivo di ricovero e causa di morte nei pazienti che abbiano subito un trapianto di rene. In questi pazienti, infatti, la terapia con farmaci immunosoppressivi (fondamentale per la sopravvivenza del graft) può portare ad un aumentato rischio di infezioni che può essere causato sia dai patogeni dell'ambiente circostante, che dalla riattivazione dai patogeni interni precedentemente sotto il controllo del sistema immunitario, come il *Citomegalovirus*, *Epstein Barr Virus*, *Poliomavirus* e *Papillomavirus*.

Infine, nei pazienti con insufficienza renale cronica in stadio V, che necessitano di terapia sostitutiva renale, le infezioni rimangono la causa più significativa di mortalità nei bambini e sono la causa principale di ospedalizzazione e di necessità di passaggio dalla dialisi peritoneale all'emodialisi.





## Bibliografia essenziale

- Morello W, La Scola C, Alberici I, Montini G. Acute pyelonephritis in children. *Pediatr Nephrol.* 2016 Aug;31(8):1253-65.
- Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016 Jan-Feb;4(1):38-59.
- Hall G, Routh JC, Gbadegesin RA. Urinary Anomalies in 22q11.2 Deletion (DiGeorge syndrome): From Copy Number Variations to Single-Gene Determinants of Phenotype. *Am J Kidney Dis.* 2017 Jul;70(1):8-10.
- Pasini A, Benetti E, Conti G, et al. The Italian Society for Pediatric Nephrology (SINePe) consensus document on the management of nephrotic syndrome in children: Part I - Diagnosis and treatment of the first episode and the first relapse. *Ital J Pediatr.* 2017 Apr 21;43(1):41.
- Chan EY, Ma AL, Tullus K. Hypogammaglobulinaemia following rituximab therapy in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2022 May;37(5):927-931.
- Barbour S, Reich H, Cattran D. Short-term complications of membranous nephropathy. *Contrib Nephrol.* 2013;181:143-51.
- Lv J, Wong MG, Hladunewich MA, et al.; TESTING Study Group. Effect of Oral Methylprednisolone on Decline in Kidney Function or Kidney Failure in Patients With IgA Nephropathy: The TESTING Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2022 May 17;327(19):1888-1898.
- Warady BA. Meeting the challenges of infection in pediatric peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2012 Jun;32 Suppl 2(Suppl 2):S31.
- Stefanidis CJ. Preventing catheter-related infections in children undergoing hemodialysis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010 Nov;8(11):1239-49.
- Agrawal A, Ison MG, Danziger-Isakov L. Long-Term Infectious Complications of Kidney Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2022 Feb;17(2):286-295.

## 8.10 DIARREA CRONICA/INTRATTABILE

**Ruggiero Francavilla, Diego Peroni, Giovanna Tezza**

Le malattie gastrointestinali sono una manifestazione molto frequente di IEI dopo quelle respiratorie e in alcuni casi possono essere le prime manifestazioni. Tra i diversi disordini gastrointestinali, la diarrea cronica è la più comune.

Per **definizione**:

- ▶ la diarrea acuta ha una durata inferiore ai 7 giorni, occasionalmente fino a 14 giorni ma non oltre, spesso è di origine infettiva;

---

- ▶ un episodio di diarrea che dura tra i 7 e i 14 giorni viene definito come diarrea prolungata;

---

- ▶ gli episodi di diarrea di durata maggiore di 14 giorni vengono definiti diarrea persistente o cronica.

---

La diarrea cronica può essere dovuta a patologie infettive e non infettive pur sempre da immunodisregolazione come nel caso di alcune enteropatie. La diarrea cronica può inoltre essere iatrogena e correlata all'uso di farmaci come magnesio, mofetil micofenolato e abuso di lassativi possono causare diarrea.

La diarrea infettiva nei pazienti con IEI può essere causata da numerosi agenti patogeni ed è meno responsiva alle terapie standard di quanto lo sia negli individui immunocompetenti. Il danno intestinale e la perdita di nutrienti e proteine (incluse immunoglobuline) innescano, inoltre, un circolo vizioso compromettendo ulteriormente il sistema immunitario. La corretta diagnosi eziologica con appropriate indagini di laboratorio, soprattutto per le diarree di origine infettiva, consente di identificare il patogeno responsabile e di prescrivere la corretta terapia con conseguente miglioramento della prognosi e della qualità di vita dei pazienti.

La **valutazione** di un bambino con diarrea cronica dovrebbe iniziare da quattro parametri clinici principali: l'età di insorgenza, l'andamento del peso (perdita o aumento), le caratteristiche delle feci (es. acquose, da malassorbimento, infiammatorie) ed eventuali sintomi associati.

L'anamnesi *familiare* è importante per valutare la possibilità di condizioni eredi-



tarie come ad esempio le allergie alimentari, la celiachia, malattie infiammatorie croniche intestinali o IEL.

Altro aspetto da valutare nell'approccio iniziale sono *la crescita e lo stato di nutrizione*, comprensivo della valutazione del rapporto peso/altezza, in quanto è l'indice più immediato dello scarso accrescimento secondario alla malnutrizione.

Un arresto e una riduzione dell'accrescimento rappresentano un segnale d'allarme che indica una condizione potenzialmente grave e cronica.

Al contrario, l'assenza di una significativa perdita di peso, nonostante la lunga durata dei sintomi, è suggestiva di una diarrea di origine funzionale.

Nei pazienti con diarrea cronica va indagata la presenza di eventuali *segni e sintomi sistemici o extraintestinali* come febbre (processi infettivi o infiammatori), artralgie, artrite, uveite, pioderma gangrenoso ed epatite (indicatori di possibile IBD): in particolare, concomitanti infezioni ricorrenti – soprattutto del tratto respiratorio- devono far sospettare un IEL, oltre alla fibrosi cistica.

Le Tabelle 15, 16 e 17 riportano i dati anamnestici e clinici da valutare in un paziente con diarrea cronica.

**Tabella 15. Anamnesi, segni e sintomi da valutare nei pazienti con diarrea cronica**

- 
- Epoca di inizio, durata ed entità della diarrea e del vomito

---

  - Volume e aspetto delle feci

---

  - Presenza di muco e sangue evidente nelle feci

---

  - Diuresi

---

  - Tipo e quantità di liquidi somministrati

---

  - Tipo di alimentazione

---

  - Curva di crescita ponderale

---

  - Comportamento ed aspetto generale del bambino

---

  - Presenza di febbre

---

  - Segni, sintomi e dati anamnestici correlabili ad altre possibili cause di diarrea e vomito, come otalgia, sintomatologia riconducibile a presenza di secrezioni catarrali, modificazioni delle caratteristiche delle urine, assunzione di antibiotici o altri farmaci che possono causare diarrea)

---

  - Dolori addominali ed altre patologie croniche preesistenti

---

  - Eventuali contatti con persone affette (casi precedenti in famiglia e a scuola)

---

  - Viaggi in zone a rischio

---

  - Intolleranze alimentari

---

**Tabella 16. Elementi essenziali nella valutazione clinica del bambino con diarrea cronica**

- Curva di crescita
- Segni vitali
- Masse muscolari
- Tessuto adiposo sottocutaneo
- Stadio puberale
- Sviluppo psicomotorio
- Cute (perianale)
- Addome (organomegalia, trattabile alla palpazione)

**Tabella 17. Segni di allarme possibile spie di una forma organica**

- Sangue nelle feci
- Muco nelle feci
- Escoriazioni perianali
- Perdita di peso o scarsa crescita
- Febbre, rash, artriti
- Diarrea continua grave e notturna

**Diarrea cronica e sospetto di IEI**

Nei casi di diarrea cronica in cui sono presenti segni d' allarme (ad es. scarso incremento ponderale, febbre, diarrea muco-ematica) vanno presi in considerazione alcuni difetti immunitari, tra cui le immunodeficienze combinate gravi (SCID), deficit di IgA, Agammaglobulinemia congenita X-recessiva e l'immunodeficienza comune variabile.

Per quanto riguarda l'eziologia infettiva, in uno studio condotto su 32 pazienti con IEI sono stati identificati 41 patogeni, di cui 16 parassiti (39% dei casi; il più frequente *Giardia lamblia*), 11 batteri (26,8%; il più frequente *Salmonella*), 8 virus (19,5%; il più frequente rotavirus di gruppo A) e 6 miceti (14,7%; il più frequente *Candida albicans*).

Da 6 dei pazienti non è stato isolato alcun agente infettivo.

I più frequenti agenti eziologici di diarrea cronica nei diversi IEI erano:

- ▶ batteri e parassiti nell'immunodeficienza comune variabile,
- ▶ batteri e virus nella SCID,
- ▶ parassiti nella agammaglobulinemia congenita X-recessiva (*Giardia lamblia*) e negli individui con sindrome da Iper-IgM (*Cryptosporium*).



**Tabella 18. Esempi di quando la diarrea deve far sospettare un IEI**

Segni e sintomi	Sospetto diagnostico di IEI
<ul style="list-style-type: none"><li>- Diarrea a esordio nei primi sei mesi di vita, persistente e refrattaria al trattamento</li><li>- Grave malassorbimento</li><li>- Distrofia</li><li>- Candidiasi orale cronica</li><li>- Infezioni respiratorie ricorrenti</li></ul>	Immunodeficienze combinate gravi (SCID)
<ul style="list-style-type: none"><li>- Diarrea secondaria a infezioni croniche (rotavirus, giardiasi) associata a infezioni respiratorie ricorrenti (brucopolmoniti, otiti medie purulente), sepsi, meningiti, osteomieliti, artriti.</li></ul>	Agammaglobulinemia congenita X-recessiva
<ul style="list-style-type: none"><li>- Malassorbimento con diarrea ed enteropatia proteino-disperdente associato a infezioni ricorrenti dell'apparato respiratorio (otiti, sinusite, brucopolmoniti recidivanti, bronchiectasie, insufficienza respiratoria cronica), autoimmunità.</li></ul>	Immunodeficienza comune variabile
<ul style="list-style-type: none"><li>- Generalmente asintomatici o infezioni respiratorie ricorrenti, atopia, malattie autoimmuni (morbo celiaco). I sintomi enterici si associano spesso a infezioni da Giardia lamblia, Salmonella ed infezioni da Helicobacter pylori.</li></ul>	Deficit selettivo di IgA

### Bibliografia essenziale

- Cakir M, Yakici N, Sag E, et al. Primary Immunodeficiencies in Children Initially Admitted with Gastrointestinal/Liver Manifestations. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2023 Jul;26(4):201-212.
- Tripathi PR, Srivastava A. Approach to a Child with Chronic Diarrhea. *Indian J Pediatr.* 2023 Jun 27.
- Shankar S, Rosenbaum J. Chronic diarrhoea in children: A practical algorithm-based approach. *J Paediatr Child Health.* 2020 Jul;56(7):1029-1038.
- Parvaneh L, Sharifi N, Azizi G, et al. Infectious etiology of chronic diarrhea in patients with primary immunodeficiency diseases. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2019 Jan;51(1):32-37.
- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, et al. Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: Update 2014. *European Society for Pediatric Gastroenterology, hepatology, and nutrition; European Society for Pediatric Infectious J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2014;59:132-52.
- Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Joint Task Force on Practice Parameters, representing the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; the American College of Allergy, Asthma & Immunology; and the Joint Council of Allergy, Asthma & Immunology. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.e1-78.
- Thiagarajah JR, Kamin DS, Acra S et al. Advances in evaluation of chronic diarrhea in infants. *Gastroenterology* 2018;154:2045-2059.e6.
- World Health Organization. Diarrhoeal Disease Fact Sheet N 330. [updated 2 May 2017]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> [accessed 11.08.2023].

## 9. LE INDAGINI DIAGNOSTICHE

### 9.1 LE INDAGINI IMMUNOLOGICHE NEL SETTING AMBULATORIALE

**Fabio Cardinale, Michele Fiore, Immacolata Scotese**

#### Introduzione

Il concetto di immunodeficienza primitiva si è molto modificato negli ultimi anni ed oggi, più modernamente, questo insieme di patologie è raggruppato sotto la denominazione "ombrello" di errori congeniti (innati) dell'immunità (*Inborn Errors of Immunity* nella terminologia anglosassone, abbreviati con la sigla IEI).

Nelle ultime classificazioni sono riportati 485 IEI, ma nuove forme vengono identificate ogni mese tali da richiedere un continuo aggiornamento della classificazione da parte della unione internazionale delle società di immunologia e complessivamente si stima che essi abbiano una frequenza di 1 su 500-2.000 individui. La larga maggioranza di questi IEI ha quindi delle basi molecolari note ed è raggruppata per motivi classificativi in 10 grandi famiglie (vedi capitolo 2; link diretto all'articolo: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-022-01289-3>).

Il pediatra rappresenta spesso l'unica concreta possibilità per questi pazienti di ricevere una diagnosi precoce, prerogativa fondamentale per l'avvio di un corretto iter diagnostico-terapeutico. I dati di letteratura inerenti alla diagnosi dei deficit umorali in età pediatrica indicano infatti un ritardo medio, tra l'insorgenza dei primi sintomi e la diagnosi, di molti anni.

Pertanto, è necessario che il pediatra sia in grado di inquadrare almeno gli IEI "convenzionali", caratterizzati da una abnorme suscettibilità ad agenti infettivi, che non solo sono i più frequenti, ma anche quelli più spesso caratterizzati da un decorso grave, tuttavia in grado di essere ad oggi identificati con la diagnostica immunologica standard.

Esami "cosiddetti" di primo livello vanno quindi sempre eseguiti nel caso di bambini che presentino uno o più campanelli d'allarme (vedi Capitolo 4).

Più complesso è l'iter diagnostico da seguire di fronte a quadri clinici caratterizzati da infezioni gravi o ricorrenti e da parte di un unico patogeno (anche microrganismi comuni), dermatosi, lesioni granulomatose o manifestazioni autoimmuni multiorgano o di tipo iperinfiammatorio o tumorale, particolarmente gravi



e a esordio precoce o a carattere familiare. Tali caratteristiche contraddistinguono infatti fenotipi clinici "nuovi", di fronte ai quali il pediatra deve porre il sospetto, ma che necessitano di indagini di 2° e 3° livello per la conferma diagnostica. A dispetto però della loro complessità fisiopatologica e del costante aumento di nuove forme di IEI con fenotipo clinico "non convenzionale", poche indagini, insieme con il fenotipo clinico, consentono di identificare la maggior parte degli IEI più frequenti, in particolare i deficit anticorpali, i difetti immunitari combinati (CID), alcuni deficit della funzione fagocitica o del complemento (C) e alcune forme sindromiche.

### Esame emocromocitometrico

L'attenta lettura dell'emocromo riveste un ruolo fondamentale nella diagnosi di molti IEI, in particolare delle neutropenie primitive e di molti CID, oltre che nella S. di Wiskott-Aldrich e nella sindrome da deficit di adesione leucocitaria (LAD). Un ruolo essenziale ha la conta differenziale leucocitaria anche negli IEI con fenotipo atopico (c.d. disordini atopici primari o *Primary Atopic Disorder*) caratterizzati spesso da una importante ipereosinofilia.

Una **riduzione del valore assoluto** dei neutrofilii (N) individua una condizione di **neutropenia**. Le neutropenie sono classificate in base al numero di N, in forme lievi ( $N < 1.500/\text{mm}^3$ ), moderate ( $N < 1.000/\text{mm}^3$ ) e gravi ( $N < 500/\text{mm}^3$ ). Nel bambino di età inferiore a 1 anno, invece, il cut-off per definire la neutropenia è una conta di  $N < 1000/\text{mm}^3$ .

Condizioni di neutropenia lieve o moderata sono relativamente frequenti, hanno carattere transitorio e sono spesso secondarie a infezioni virali o meno frequentemente a farmaci. Piuttosto frequenti sono anche le neutropenie autoimmuni, in particolare in età prescolare, caratterizzate da un decorso spesso asintomatico, nonostante la conta leucocitaria possa essere molto bassa e da un'alta probabilità di risoluzione spontanea entro i 5 anni di vita.

In generale, una riduzione persistente e grave del numero dei N ( $< 500/\text{mm}^3$ ), associata ad un esordio di sintomi infettivi nei primi mesi di vita, deve far sospettare una **Neutropenia Congenita Severa** (NCS) nelle sue diverse varianti genetiche, legata ad un arresto maturativo dei precursori mieloidi a livello del promielocito. In questa, come in altre forme di neutropenie primitive, è comune il riscontro di una monocitosi e di una eosinofilia nell'emocromo.

Oscillazioni importanti dei neutrofilii della durata di 3-6 giorni, specie se si ripetono

ogni 21-28 giorni circa, identificano invece una **neutropenia ciclica**, la cui diagnosi differenziale richiede un emocromo 2 volte alla settimana per 6 settimane (altri protocolli prevedono 1 emocromo a settimana per 4 settimane). È importante comunque richiedere in tutti i casi di neutropenia uno striscio periferico e fare attenzione alle altre linee cellulari, integrando il tutto con il quadro clinico, allo scopo di escludere una patologia emolinfoproliferativa.

Pertanto, è importante che una attenta lettura dell'emocromo venga integrata sempre, in caso di neutropenia, da uno striscio periferico, volto da un lato ad escludere forme secondarie di neutropenia dovute a patologie mielodisplasiche o leucemiche, dall'altro a indagare forme molto rare di neutropenia come quelle dovute a deficit di granuli specifici.

Una neutropenia isolata moderato-grave è parte di quadri clinici di IEI complessi, quali la **sindrome di Shwachman-Diamond**, le **sindromi da Iper-IgM**, la **WHIM** (*Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections, and Myelokathexis*), la **IPEX** (*Immune Dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked Syndrome*), alcune varianti della sindrome di Wiskott-Aldrich e la stessa agammaglobulinemia *X-linked* (**XLA**) durante i periodi di malattia caratterizzate da infezioni. In generale, il riscontro di una neutropenia grave richiede sempre l'afferenza del paziente verso un centro specializzato di immunologia o ematologia pediatrica.

Quando la conta differenziale leucocitaria individua invece un **incremento del valore assoluto dei neutrofili** (con livelli 5-10 volte superiori al normale) associato a infezioni batteriche ricorrenti senza produzione di pus e una storia di ritardato distacco del cordone ombelicale (>4 settimane) o di disfunzione piastrinica, è da sospettarsi una **sindrome da deficit di adesione leucocitaria** (in primis una LAD1). La LAD, di cui si conoscono quattro diverse varianti genetiche, nella forma più comune (LAD tipo 1) è caratterizzata infatti da un difetto di migrazione verso il sito di infezione con conseguente aumento di neutrofili circolanti inefficaci. La diagnosi è confermata da esami di II livello come l'espressione delle  $\beta 2$ -integrine (CD18) sulla superficie cellulare in citofluorimetria e lo studio di mutazione.

Nel sospetto di IEI combinati, il valore assoluto di linfociti (L) nella conta differenziale leucocitaria assume, come si può immaginare, particolare importanza. A questo proposito, è importante ricordare che la formula leucocitaria vede una prevalenza dei L rispetto ai N fino ai 4-5 anni, epoca in cui i rapporti tra queste due linee cellulari si invertono. Pertanto, una **linfocitopenia** nei primi anni di vita si traduce anche in una diminuzione dei globuli bianchi totali e, viceversa, una leucopenia deve





indurre il pediatra a guardare con attenzione, oltre che i valori di neutrofilii, anche il numero assoluto dei linfociti totali, riferendosi a valori corretti per l'età (Tabella 1).

**Tabella 1.** Valori normali di leucociti e linfociti in base all'età ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ; media e range)

Età	Leucociti		Linfociti	
	Media	Range	Media	Range
Nascita	18,1	9,0-30,0	5,5	2,0-11,0
12 ore	22,8	13-38	5,5	2,0-11,0
24 ore	18,9	9,4-34	5,8	2,0-11,5
1 settimana	12,2	5-21	5,0	2,0-17,0
2 settimane	11,4	5-20	5,5	2,0-17
1 mese	10,8	5-19,5	6,0	2,5-16,5
6 mesi	11,9	6-17,5	7,3	4,0-13,5
1 anno	11,4	6-17,5	7,0	4,0-10,5
2 anni	10,6	6-17	6,3	3,0-9,5
4 anni	9,1	5,5-15,5	4,5	2,0-8,0
6 anni	8,5	5-14,5	3,5	1,5-7,0
8 anni	8,3	4,5-13,5	3,3	1,5-6,8
10 anni	8,1	4,5-13,5	3,1	1,5-6,5
16 anni	7,8	4,5-13	2,8	1,2-5,2
21 anni	7,4	4,5-11	2,5	1,0-4,8

AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica). Immunodeficienza grave combinata (SCID/CID). Raccomandazioni per la diagnosi e la terapia. Responsabile Claudio Pignata, Emilia Cirillo, Maggio 2016.

Una linfocitopenia, definita in genere da un valore assoluto di  $L < 3.000/\text{mm}^3$  nei bambini ( $L < 1.500/\text{mm}^3$  negli adulti) suggerisce spesso un deficit di linfociti T (costituenti il 65-75% dei L circolanti). Una linfocitopenia marcata, specie se con valori di  $L < 300 \text{ cell}/\text{mm}^3$ , nel contesto di un quadro clinico caratterizzato da diarrea cronica con distrofia, infezioni polmonari recidivanti o severe (specie se da patogeni opportunisti), candidosi orale persistente o sistemica e dermatite grave o eritrodermica, deve far immediatamente sospettare una **SCID** (esclusa ovviamente una infezione verticale da HIV) o, comunque, un IEl complesso e/o grave. Di fronte ad un quadro clinico suggestivo, quando l'emocromo dimostri una linfocitopenia, è mandatorio eseguire un immunofenotipo linfocitario (pannello "ristretto"), anche se i livelli di immunoglobuline sono nella norma e, comunque, richiedere una valutazione immunologica. Quasi tutte le SCID sono caratterizzate da un difetto di maturazione (e quindi numerico) dei linfociti T totali o di singole sottopopolazioni ( $\text{CD4}^+$  o  $\text{CD8}^+$ ), a cui può associarsi o meno un deficit dei linfociti B (per questo si distinguono SCID T-B- e SCID T-B+) e delle cellule NK. Il sospetto del pediatra

curante ha un ruolo decisivo perché una diagnosi precoce di questi IEI potenzialmente fatali permette un appropriato intervento terapeutico rappresentato solitamente dal trapianto di cellule staminali da familiare o da banca.

In un paziente con sospetto IEI è importante fare attenzione nell'esame emocromocitometrico anche alla conta e al volume delle piastrine. Una **trombocitopenia con piastrine piccole** ( $<5 \mu^3$ ) associata o meno ad eczema e ad un deficit anticorpale o ad una neutropenia è fortemente sospetta per una **sindrome di Wiskott Aldrich o sue varianti**.

Il riscontro di una **importante eosinofilia**, con valori spesso superiori a 5.000 cellule/mm<sup>3</sup>, specialmente se associata a valori molto alti di IgE totali e/o a una storia di aumentata suscettibilità alle infezioni o a segni di immunodisregolazione (dermatosi eritrodermiche, allergie multiple e gravi, autoimmunità, malattie tumorali) o ad alterazioni somatiche e cognitive, deve inoltre far pensare ad un **Primary Atopic Disorder** (es. mutazioni germinali *Gain of Function* (GOF) di STAT6, o di JAK1 o mutazioni somatiche di STAT5b)

I risultati dell'esame emocromocitometrico devono comunque essere interpretati con cautela, tenendo sempre conto non solo della storia clinica del bambino e della sua obiettività al momento del prelievo, ma anche dei range di normalità relativi all'età del paziente. Inoltre, i dati ottenuti con questo esame, quando suggestivi per un IEI, devono essere sempre supportati da esami di II livello al fine di caratterizzare la specifica forma clinica ed escludere eventuali altre patologie rientranti nella diagnosi differenziale.

## Dosaggio delle immunoglobuline sieriche

Il dosaggio delle Immunoglobuline (Ig) (IgG, IgM, IgA, IgE totali) va attuato in tutti i pazienti con sospetto di IEI, in quanto bassi livelli di uno o più isotipi delle Ig sono presenti nella maggioranza degli IEI di tipo "convenzionale" e in quasi tutti i deficit dell'immunità umorale (Tabella 3). Il protidogramma rappresenta un test troppo grossolano per consentire di escludere un deficit anticorpale, ma può servire ad escludere una ipogammaglobulinemia da perdita di Ig, attraverso il riscontro di un quadro di ipo/disprotidemia. Nel considerare i valori delle Ig sieriche è fondamentale riferirsi a valori di normalità stabiliti per fascia di età, in quanto in età pediatrica la produzione anticorpale è correlata alla maturazione età-dipendente del sistema immunitario; inoltre, nei primi mesi di vita le IgG circolanti sono soprattutto di ori-



gine materna, venendo trasmesse per via transplacentare nelle ultime settimane di età gestazionale. In Italia, i valori normali più comunemente utilizzati sono quelli del gruppo IPINet-AIEOP (Tabella 2).

**Tabella 2.** Valori normali di immunoglobuline sieriche in base all'età (media  $\pm$  2DS)

Età	IgG	IgA	IgM
Cordone ombelicale	1112 (862-1434)	Non dosabili	9 (5-14)
1-3 mesi	468 (231-495)	24 (8-74)	74 (26-210)
4-6 mesi	434 (222-846)	20 (6-60)	62 (28-39)
7-12 mesi	569 (351-919)	29 (10-85)	89 (38-204)
13-24 mesi	801 (264-1509)	54 (17-178)	128 (48-337)
2-3 anni	889 (462-1710)	68 (27-173)	126 (62-257)
4-5 anni	1117 (528-1959)	98 (37-257)	119 (49-292)
6-8 anni	1164 (633-1016)	113 (41-315)	121 (56-261)
9-11 anni	1164 (707-1919)	127 (60-270)	129 (61-276)
12-16 anni	1105 (604-1909)	136 (61-301)	132 (59-297)

AIEOP (Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica). Ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia. Raccomandazioni per la diagnosi e la terapia. Responsabile Viviana Moschese, Aprile 2004.

Valori di IgA  $<7$  mg/dl, con IgG e IgM normali e normali livelli di cellule B circolanti, identificano un **deficit assoluto selettivo di IgA** (*selective IgA deficiency, sIgAd*). Livelli di IgA  $<3^{\circ}$  centile per l'età, ma  $>7$  mg/dl identificano un sIgAd parziale. È importante ricordare che, a differenza delle IgM, i livelli di IgA aumentano dalla nascita fino alla terza infanzia e all'adolescenza. Va comunque ricordato che il sIgAd è caratterizzato da un decorso, in molti casi, asintomatico. Un approfondimento sul sIgAd è al Capitolo 5.2.

Livelli ridotti di IgG (soprattutto se associati a bassi livelli di IgA e/o IgM) configurano una condizione di **ipogammaglobulinemia**. Una ipogammaglobulinemia importante con valori molto inferiori alle 2 DS (solitamente  $<500$  mg/dl), in associazione con una sintomatologia infettiva respiratoria (soprattutto sinusiti e broncopolmoniti) o gastrointestinale e/o di autoimmunità (soprattutto citopenie autoimmuni), in un bambino di età  $>4$  anni, deve far sospettare una **immunodeficienza comune variabile** (CVID). La CVID è tra gli IEL umorali più frequenti (1:10.000-100.000). I pazienti con CVID tipicamente non sono in grado di elaborare risposte anticorpali nei confronti di antigeni (Ag) "di memoria" e pertanto presentano livelli ridotti o assenti di anticorpi verso Ag vaccinali (a differenza dei bambini con **ipogammaglobulinemia transitoria persistente o dell'infanzia (THI)**, forma peraltro più frequente nei bambini di età  $<4$  anni). Va detto che la CVID può esor-

dire a qualunque età (spesso anzi in età adulta), più comunemente dopo i 10 anni e che una diagnosi di CVID richiede la esclusione di forme secondarie (tra cui infezioni e tumori) di deficit anticorpale. Nei pazienti con CVID l'immunofenotipo linfocitario con pannello "ristretto" non presenta generalmente grossolane alterazioni nei valori di linfociti T, mentre un immunofenotipo "allargato" mostra spesso valori ridotti di cellule B *memory switched* (**CD27+IgM-IgD-**). In meno del 5% circa dei casi di CVID i linfociti B possono essere ridotti (<2%). In questi casi, specie se si tratta di un maschio, è necessario escludere una agammaglobulinemia *X-linked* (XLA) o una rara agammaglobulinemia AR (ARA).

La **XLA** (o malattia di Bruton) e la ARA sono caratterizzate da livelli molto ridotti o addirittura indosabili di tutte le Ig sieriche con cellule B generalmente <2% dei L totali. Sono comunque noti casi assolutamente atipici di XLA caratterizzati da livelli ridotti di un solo isotipo di Ig o livelli di poco inferiori al 3° centile di IgG. La conferma di XLA o ARA è fornita dallo studio di mutazione.

In generale, valori di IgG <200 mg/dl in un bambino di età >2 anni devono sempre far sospettare un IEI umorale importante (in particolare una CVID o una XLA) e devono indurre a richiedere una valutazione immunologica finalizzata anche a iniziare quanto prima possibile una terapia sostitutiva.

Nei casi con livelli ridotti di tutti gli isotipi delle Ig è consigliabile sempre eseguire un dosaggio delle proteine totali e dell'albumina per escludere una ipogammaglobulinemia secondaria a perdita di proteine (soprattutto da cause renali o enteropatie proteino-disperdenti).

Per quanto detto sopra, negli IEI di tipo "disregolatorio" o nei deficit dell'immunità innata o della funzione fagocitica i livelli di Ig possono essere normali o addirittura elevati.

### **Esami prescrivibili in setting ambulatoriali di pediatria generale**

**Esami di primo livello:** Emocromo, IgG, IgA, IgM, IgE totali

**Esami di secondo livello:** immunofenotipo linfocitario "ristretto", sottoclassi Ig, titoli anticorpali specifici, studio del *burst* ossidativo\*, C3, C4

**N.B. è importante tener presente che il quadro clinico, l'anamnesi ed i pochi, semplici esami di primo livello consentono di sospettare circa l'85% degli IEI ad oggi caratterizzati.**

**Gli esami di secondo livello qui riportati sono prescritti in modo appropriato solo in pochi casi selezionati ed è necessario che il pediatra abbia specifiche competenze per la corretta interpretazione dei risultati.**

\*Pur potendo essere richiesto dal pediatra, viene effettuato in pochi laboratori



## Immunofenotipo linfocitario

La tipizzazione in citometria di flusso delle sottopopolazioni linfocitarie con pannello anticorpale "ristretto" (anti-CD3, CD4, CD8, CD19, CD56) è finalizzata a quantificare la distribuzione numerica delle principali sottopopolazioni linfocitarie, ovvero delle cellule T, B e NK. Questa indagine di laboratorio, considerata solitamente un test di II livello, è comunque un esame di imprescindibile importanza in un paziente con linfopenia e, a prescindere da questa, nei casi in cui, in base alla clinica, si sospetti un deficit funzionale e quantitativo T (SCID, immunodeficienze di tipo sindromico o regolatorio, etc.) ovvero siano presenti bassi livelli di uno o più isotipi delle Ig (in quest'ultimo caso per ricercare un deficit numerico della linea B e identificare una condizione di XLA classica o atipica o una CVID con bassi livelli di cellule B). Analogamente, la ricerca delle  $\beta 2$ -integrine (CD18) di membrana in citofluorimetria rappresenta inoltre un test base, nella diagnosi di **LAD** di tipo 1.

## Dosaggio anticorpi specifici

La determinazione dei titoli anticorpali specifici verso Ag vaccinali (antigeni di "recall" o di memoria) o frutto di esposizione naturale rappresenta un'indagine di estrema importanza nel valutare la capacità dell'individuo di elaborare un'adeguata risposta anticorpale. Lo stesso significato ha la ricerca delle isoemoagglutinine gruppo-ematiche (ABO) specifiche con relativo titolo, utili a valutare la risposta verso Ag polisaccaridici. Presso i laboratori della maggior parte degli ospedali è possibile dosare i livelli di anticorpi specifici verso Ag contenuti nei vaccini previsti dal calendario vaccinale nazionale, inclusi quelli contro il tetano e la difterite. La presenza di anticorpi anti-tetano, anti-difterite e anti-HBsAg correla con la capacità di elaborare una risposta anticorpale adattativa verso antigeni proteici. Nei bambini vaccinati con gli attuali vaccini polisaccaridici, di tipo coniugato, come l'anti-Haemophilus e l'anti-Pneumococco 13- e 15-valente, la presenza di anticorpi specifici è indizio di risposta verso Ag proteici, a differenza di quanto accade per i vaccini polisaccaridici non coniugati. La risposta verso qualunque Ag vaccinale va ovviamente interpretata nel contesto della storia di immunizzazione. Inoltre, bassi livelli anticorpi specifici, anche a breve distanza dalla vaccinazione, non sempre riflettono un'incapacità di elaborare risposte anticorpali valide. Di maggiore significato è invece il mancato incremento di 4 volte rispetto al basale del titolo anticorpale in un prelievo ripetuto dopo 3-4 settimane dalla somministrazione di una dose *booster* del vaccino.

**Warning BOX. Deficit di anticorpi specifici con normali livelli di Ig.**

Deficit immunitario identificato già negli anni '80 ma privo di una precisa caratterizzazione nosografica e genetica, caratterizzato da presenza di una sintomatologia infettiva ricorrente, livelli anticorpali ridotti verso Ag batterici o virali, soprattutto polisaccaridici, associati a normali livelli di Ig e di sottoclassi IgG.

**Dosaggio delle sottoclassi IgG**

Normali valori di Ig non escludono un **deficit di sottoclassi IgG** (DSclgG). Si distinguono 4 sottoclassi delle IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) in ordine decrescente di rappresentazione nel siero. Alcuni individui con infezioni ricorrenti, soprattutto respiratorie, possono presentare livelli ridotti di una o più sottoclassi IgG, spesso associati ad un difetto di risposta verso Ag polisaccaridici come quelli di batteri capsulati (meningococco, pneumococco e *Haemophilus*). Poiché le IgG1 ricoprono il 60-70% di tutte le IgG, valori ridotti di IgG1 si associano ad un deficit di IgG totali (come accade ad es. nella CVID o nella XLA). Viceversa, quando sono deficitarie le IgG2 e le IgG3 i livelli di IgG totali possono essere normali. L'esistenza, comunque, del DSclgG come entità autonoma è attualmente molto discussa, in quanto numerosi casi di DSclgG (alla stregua del slgAd) sono asintomatici e i casi associati a sintomi sono ritenuti tali in quanto associati ad un deficit di risposta anticorpale specifica. Pertanto, viene ritenuto più utile valutare quest'ultima, reale indice della capacità del paziente di elaborare risposte anticorpali valide, piuttosto che dosare le singole sottoclassi. Va anche ricordato che le IgG4 sono spesso fisiologicamente indosabili sotto i 10 anni e che i livelli di IgG2 risultano molto ridotti sotto i 3 anni. In ogni caso il dosaggio delle sottoclassi di IgG non è ritenuto utile prima dei 3 anni. Utile è il dosaggio delle sottoclassi IgG in pazienti con slgAd in quanto la copresenza dei due difetti può associarsi a fenotipo clinico più grave.

**Studio del burst ossidativo**

Lo **studio del burst ossidativo** leucocitario attraverso il test del nitroblue tetrazolium (NBT), ormai largamente abbandonato, o il test di ossidazione della diidrorodamina (DHR), atto a misurare in citofluorimetria la capacità dei PMN di



determinare la ossidazione di una molecola nota come diidrorodamina 123 trasformandola in un composto fluorescente, rappresentano test di fondamentale importanza nella diagnosi della **malattia granulomatosa cronica (MGC)** oltre che nel riconoscimento dello stato di portatore nelle forme X-linked.

L'esame è da riservarsi a pazienti che, indipendentemente dall'età di esordio dei sintomi, presentino un quadro classico di infezioni suppurative cutanee, linfonodali o profonde da batteri Gram+ o Gram- (solitamente produttori di catalasi) o miceti quali l'*Aspergillus* ovvero anche quadri granulomatosi ricorrenti intestinali o urinari.

## Studio del complemento (C)

Lo studio della cascata del C richiede indagini specifiche di screening rappresentate dal CH50, utilizzato per lo screening dei difetti della via classica del C e dal AH50, utile invece per valutare la via alternativa. Quest'ultimo è alla portata solo di pochi laboratori di immunologia specializzati. Una volta identificato un difetto lungo una delle due vie è necessario procedere con test di secondo livello. Nel complesso i deficit del C rappresentano circa il 5% degli IEI. I difetti delle frazioni iniziali (C1q, C1r, C1s, C2, C4, più raramente il C3) comportano un difetto nella clearance di immunocomplessi che si traduce solitamente in quadri simil-LES. Al contrario i deficit delle frazioni terminali (C5- C9) si associa ad infezioni batteriche invasive, in particolare da *Neisseria Meningitidis*. Deficit funzionali del C3 si associano invece a infezioni sistemiche gravi e ad esordio precoce da batteri capsulati. Infezioni batteriche sistemiche meno gravi da patogeni capsulati possono essere riscontrati anche nei deficit delle altre frazioni iniziali del C.

Va infine ricordato che mutazioni *Gain of Function (GOF)* del C3 sono associati alla sindrome emolitico-uremica atipica e che mutazioni *Loss of Function (LOF)* del C1 inibitore, causa di un difetto quantitativo o solo funzionale della proteina, determinano l'angioedema ereditario di tipo 1 o 2. In quest'ultimo il dosaggio del C4 ematico, solitamente ridotto, rappresenta un buon test di screening.

## Ecografia addominale

Sebbene l'esame ecografico dell'addome non rappresenti un test immunologico, la ricerca ecografica di una condizione di asplenia andrebbe effettuata in tutti i pazienti con sepsi da patogeni capsulati, specialmente se particolarmente gravi e da *Pneumococco*. Esistono anche forme monogeniche di asplenia, di fatto considerabili quindi degli IEI (deficit di RPSA). La splenomegalia è inoltre un reperto comune a molti IEI.

## Conclusioni

Pochi esami, cosiddetti di primo e di secondo livello che possono essere richiesti in setting di pediatria generale, territoriale ed ospedaliera, (emocromo, dosaggio delle Ig e degli anticorpi specifici, C1q, C2, C4, studio del burst ossidativo), consentono al pediatra di identificare gli IEI più frequenti. In caso di alterazioni di uno più parametri (neutropenia, linfocitopenia, ipogammaglobulinemia), in pazienti con storia clinica suggestiva, è buona regola ricontrollare gli stessi a breve distanza di tempo. La normalità di questi esami non consente comunque di escludere un IEI “non convenzionale” e, soprattutto un deficit dell'immunità innata. Come in quasi tutte le patologie, è essenziale, pertanto, che le informazioni fornite da questi esami vengano integrate con il quadro clinico. Il passo successivo, in caso di alterazioni significative delle indagini di laboratorio e in presenza di un'anamnesi significativa, è l'avvio del paziente presso centri di immunologia specializzati, in grado di confermare la diagnosi, instaurare, ove possibile, una terapia eziologica e avviare un corretto follow-up in stretto sinergismo con il pediatra curante.

Nella Tabella 3 sono indicati alcuni schemi di ausilio pratico per il pediatra generalista nella richiesta e interpretazione degli esami immunologici di I e II livello che è possibile effettuare nell'ambito dell'assistenza primaria.

**Tabella 3.** Esami di I e II livello da richiedere nell'ambito della pediatria generale e loro interpretazione

Sospetto clinico	Esami da richiedere (setting ambulatoriale pediatria generale)	Esito atteso
Deficit anticorpale	Immunoglobuline sottoclassi IgG (risposta verso Ag di recall, immunofenotipo “allargato” con ricerca cellule B <i>memory switched</i> in caso di ipogammaglobulinemia)	IgA basse con IgG e IgM normali → deficit di IgA; IgG+IgA+IgM variabilmente basse (-2DS) con risposta verso Ag recall normale → THI; IgG+IgA+/-IgM molto basse con risposta verso Ag di recall ridotta e cellule B <i>memory switched</i> ridotte → CVID; IgG+IgA+IgM molto basse con cellule CD19+ assenti → XLA o ARA; IgG2 o IgG3 basse con IgG normali o ridotte e IgA e IgM normali → deficit di sottoclassi





Sospetto clinico	Esami da richiedere (setting ambulatoriale pediatria generale)	Esito atteso
Immunodeficienza combinata	Emocromo Immunoglobuline + IgE Immunofenotipo linfocitario Risposta verso Ag di recall	Cellule T CD3+ molto ridotte o riduzioni significative isolate anche solo dei CD4+ o CD8+ Cellule NK CD56+ normali o ridotte Cellule B CD19+ normali o ridotte Immunoglobuline ridotte (raramente normali) Risposta verso Ag di recall variabile
Sindrome da Iper-IgM (mutazioni CD40L)	Emocromo Immunoglobuline Immunofenotipo linfocitario "allargato" Risposta verso Ag di recall	Neutropenia IgM molto alte IgG e IgA basse Risposta verso Ag di recall ridotta Ridotta espressione CD40L su cellule T attivate
Neutropenia congenita grave o neutropenia ciclica	Emocromo + striscio Agoaspirato midollare	N <500 Arresto maturativo midollare
MGC	Studio del burst (test alla DHR)	assente
LAD tipo 1	Emocromo + striscio Studio espressione $\beta 2$ integrine in citofluorimetria	assente
Sindrome di Wiskott-Aldrich	Emocromo con misurazione MPV Immunoglobuline + IgE Sottoclassi IgG Risposta verso Ag di recall	Cellule T CD3 (CD8+) ridotte IgG e IgM basse o normali IgA alte IgG2 basse Risposta ridotta verso Ag polisaccaridici IgE molto elevate Piastrine piccole (<5 fl)
ALPS	Emocromo Immunofenotipo linfocitario "allargato" Vitamina B12 IL-10	Citopenia bi- o trilineare (autoimmune) Cellule T CD3+ $\alpha/\beta$ + doppio negative (CD4- e CD8-) aumentate (>6%) Vitamina B12 >1500 ng/L IL-10 > 20 pg/ml

Sospetto clinico	Esami da richiedere (setting ambulatoriale pediatria generale)	Esito atteso
Sindrome da iper-IgE AD (mutazioni LOF STAT3)	Immunoglobuline + IgE Sottoclassi IgG Risposta verso Ag di recall	IgE molto elevate (>2000 UI/l) Ipereosinofilia Risposta ridotta verso Ag polisaccaridici

### Bibliografia essenziale

- Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol* 2022 Oct;42(7):1508-1520.
- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022 Oct;42(7):1473-1507.
- Routes J, Abinun M, Al-Herz W, et al. ICON: The Early Diagnosis of Congenital Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2014; 34:398-424.
- Locke BA, Dasu T, Verbsky JW. Laboratory Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. *Clin Rev Allergy Immunol* 2014; 46:154-168.
- Bonilla FA, Barlan I, Chapel H et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016 Jan-Feb;4(1):38-59.
- Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136:1186-205
- Ladomenou F, Gaspar B. How to use immunoglobulin levels in investigating immune deficiencies. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2016; 101:129-35.
- Leonardi L, La Torre F, Soresina A et al. Inherited defects in the complement system. *Pediatr Allergy Immunol*. 2022 Jan;33 Suppl 27:73-76.
- Castagnoli R, Lougharis V, Giardino G, et al. Inborn errors of immunity with atopic phenotypes: A practical guide for allergists. *World Allergy Organ J*. 2021 Feb 22;14(2):100513.
- <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>.



## 9.2 LE INDAGINI IMMUNOLOGICHE DI SECONDO E TERZO LIVELLO NEI CENTRI SPECIALISTICI

**Giuliana Giardino, Roberta Romano, Raffaele Badolato**

Una condizione di IEI deve essere indagata partendo dal sospetto clinico che deve sorgere in presenza di campanelli d'allarme quali infezioni gravi, ricorrenti o persistenti, causate da germi inusuali o manifestazioni immunodisregolatorie gravi come autoimmunità multipla, citopenie bi/trilineari, enteropatia ad esordio precoce. I segni di presentazione degli IEI sono, tuttavia, condivisi con altre condizioni pediatriche, talora più comuni (Tabella 4) ed esiste una notevole sovrapposizione tra le manifestazioni cliniche dei circa 500 differenti IEI ad oggi noti. Pertanto, il percorso diagnostico degli IEI può essere spesso lungo e condurre ad un ritardo diagnostico che si può associare allo sviluppo di complicanze.

**Tabella 4.** Diagnosi differenziale dei disordini congeniti dell'immunità

Campanelli d'allarme	Diagnosi differenziale
Diarrea cronica	Infezioni Diarree congenite Allergie alimentari Deficit di zinco Enteropatia autoimmune Linfangectasia intestinale Pseudostruzione intestinale
Scarsa crescita	Infezioni (perinatali, HIV, TBC ecc.) Fibrosi cistica Cardiopatie cianogene Infezione delle vie urinarie, acidosi tubulare Malattie genetico-metaboliche Malattie endocrine Malattie neurologiche Neoplasie
Infezioni	Infezione da HIV Infezione da virus anergizzanti Fibrosi cistica Malnutrizione
Eczema	Dermatite atopica Allergia alle proteine del latte vaccino Deficit di zinco Dermatite seborroica Ittiosi Scabbia

Nel sospetto clinico di immunodeficienza gli esami immunologici che possono essere definiti “**di primo livello**” sono l'emocromo con formula leucocitaria e il dosaggio delle immunoglobuline, test comunemente disponibili nei laboratori e negli ospedali che consentono di escludere le più comuni forme di IEI. Sulla base dei risultati di queste analisi si può passare in un secondo momento ad una diagnostica definita di “**secondo livello**”, in parte già descritti nel capitolo precedente, che prevede la valutazione delle diverse sottopopolazioni linfocitarie nonché test funzionali che appartengono ad un “**terzo livello**” e che precedono o completano indagini molecolari e/o genetiche. Infatti, le indagini immunologiche dovranno essere sempre di supporto alle indagini genetiche.

Lo sviluppo, continuo e tumultuoso, delle tecniche di sequenziamento genetico ha permesso di ottenere un enorme avanzamento nella diagnostica delle immunodeficienze, nella definizione di terapie mirate e quindi più efficaci sulla base della conoscenza del meccanismo molecolare. Ciò, unitamente alla progressiva riduzione dei costi e all'abbreviamento dei tempi di esecuzione di tali indagini, ha fatto sì che sia emerso un nuovo approccio alle immunodeficienze. Infatti, all'iter diagnostico tradizionale che partendo dal fenotipo clinico si arricchisce dei test funzionali di laboratorio atti a definire il meccanismo patogenetico e a sondare l'ipotesi diagnostica per poi infine confermarla con l'indagine molecolare, se ne è affiancato uno innovativo che dal sospetto clinico procede all'indagine genetica validandone poi il risultato mediante l'esecuzione di test funzionali (*approccio genotype first versus phenotype first*). In questo paradigma, è però di fondamentale importanza tenere in considerazione i limiti dell'indagine genetica, in particolare del sequenziamento di nuova generazione, che spesso conduce all'identificazione di un ampio numero di varianti di incerto significato ma la cui caratterizzazione è cruciale per confermare la diagnosi e l'incapacità di tali test di identificare alterazioni genetiche specifiche tra cui delezioni ampie o mutazioni in geni specifici per la presenza di pseudogeni (es. NCF1, IKBKG ecc). Va inoltre tenuto in considerazione che in molti casi di immunodeficienza primitiva non è possibile identificare una causa genetica. La negatività dell'indagine genetica non esclude quindi la diagnosi di immunodeficienza primitiva che può essere posta sulla base di criteri clinici e laboratoristici. È, pertanto, sempre cruciale che il processo diagnostico sia avviato in presenza di forti segni di sospetto e che la diagnosi di IEI risulti dall'integrazione dei dati relativi alla storia clinica, dei risultati delle indagini di laboratorio immunologiche (fenotipiche e funzionali) e dei risultati dei test genetici. Va tenuto, inoltre, in considerazione che i test non genetici di secondo e terzo livello hanno generalmente tempi più rapidi di



esecuzione e possono guidare le scelte terapeutiche in attesa della risposta dei test genetici.

La scelta dei test diagnostici da eseguire è guidata dalle manifestazioni cliniche di presentazione; di seguito i test più rilevanti per i principali difetti.

## **Difetti T cellulari**

Essi comprendono difetti di gravità variabile (es. immunodeficienza grave combinata – SCID; immunodeficienze combinate – CID; candidiasi mucocutanea cronica).

### Sottopopolazioni linfocitarie e test funzionali

L'analisi citofluorimetrica delle varie sottopopolazioni linfocitarie standard è la metodica più diffusamente impiegata per quantificare in termini numerici la distribuzione delle varie sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56), il loro stato di attivazione prima e dopo stimolo (CD38, CD25, CD69, CD40L, HLA-DR) nonché le sottopopolazioni naïve e di memoria T e B (identificate rispettivamente sulla base dell'espressione di CD45RO, CD45RA e CD27).

La percentuale dei linfociti T viene determinata utilizzando un anticorpo diretto contro un antigene comune a tutte le cellule T (i.e. anti-CD3). L'anticorpo anti-CD4 identifica invece nello specifico le cellule T helper/inducer mentre l'anti-CD8 le popolazioni di cellule suppressor/citotossiche. Le cellule NK sono invece identificabili per l'espressione in membrana di CD16 (FcyRIII, recettore a bassa affinità per il frammento Fc delle IgG, espresso anche da polimorfonucleati e monociti), di CD56 (espresso anche da alcuni linfociti T attivati) o di CD57 (antigene HNK1, che individua una sottopopolazione maggioritaria di cellule NK) e la mancata espressione di CD3. I linfociti B maturi esprimono CD19 e CD20 e non esprimono CD3. In linea generale, in bambini di età maggiore di 4 anni un numero di cellule T CD4 < 500 /mcl è fortemente suggestivo di un'immunodeficienza T-cellulare, ma non si può prescindere dal confronto con i valori normali definiti sulla base dell'età. Il rapporto tra cellule CD4/CD8 (helper/suppressor) deve essere > 1,0; l'inversione di questo rapporto suggerisce anch'essa la presenza di un'immunodeficienza, anche il rapporto CD4/CD8 è soggetto a variazioni legate a infezioni intercorrenti.

Altri marcatori come CD45RO CD45RA e CD31 identificano linfociti T di memoria, o T naïve. Questi ultimi rappresentano la quota più cospicua nei primi mesi di vita, per poi ridursi fisiologicamente nel corso dell'accrescimento a vantaggio della quota dei linfociti di memoria.

La maggior parte dei linfociti T esprime il recettore  $\alpha\beta$  (alfa beta) composto da due catene glicoproteiche chiamate catene  $\alpha$  e  $\beta$ . Le cellule T gamma delta (cellule T  $\gamma\delta$ ) sono cellule T che hanno un caratteristico recettore delle cellule T (TCR) sulla loro superficie. Questo gruppo di cellule T è di solito molto meno comune delle cellule  $\alpha\beta$  T, ma sono abbondanti nella mucosa intestinale, all'interno di una popolazione di linfociti noti come linfociti intraepiteliali (IEL). Un incremento dei linfociti T  $\gamma\delta$  >10% nel sangue periferico si riscontra nelle immunodeficienze combinate o in condizioni di infezione/inflammatione cronica.

L'espressione dell'antigene HLA-DR indica lo stato di attivazione dei linfociti T. Un aumento dei linfociti T attivati può ostacolare la diagnosi di immunodeficienza grave combinata e sindrome di Omenn per il non riscontro di linfopenia. In tale condizione i linfociti T mostrano inoltre tutti un fenotipo *memory*. Un incremento dei linfociti T attivati si riscontra anche nella *graft versus host disease*, in corso di infezione da EBV e nella linfocitocitosi emofagocitica.

Sulla base della valutazione di questi marcatori può essere posta diagnosi di immunodeficienza combinata in presenza di 2 dei 4 criteri seguenti: 1) riduzione dei livelli di linfociti T CD3, CD4 o CD8; 2) riduzione dei livelli di cellule T naïve; 3) aumento dei livelli di cellule  $\gamma\delta$ ; 4) ridotta risposta proliferativa linfocitaria ai mitogeni.

Uno sbilanciamento tra linfociti naïve e memory e un grado variabile di alterazioni del compartimento T cellulare possono essere riscontrati in altri errori congeniti del sistema immune con caratteristiche sindromiche come la sindrome da delezione del cromosoma 22 (Del22q11.2), l'atassia-teleangectasia e la sindrome di Wiskott-Aldrich che sono caratterizzate da un grado variabile di compromissione del sistema immunitario e da coinvolgimento multisistemico.

Nell'ambito dello studio di pazienti con possibile difetto congenito dell'immunità, l'analisi delle sottopopolazioni linfocitarie permette quindi di sospettare le diverse forme prima di procedere alle analisi genetiche. La citofluorimetria, tuttavia, in casi specifici può fornire anche informazioni utili per la definizione eziologica sulla base della valutazione dell'espressione di proteine intra-citoplasmatiche (es. proteina WAS, BTK, DOCK8) o di superficie (es. espressione di CD40L su linfociti T attivati) in tempi molto più rapidi rispetto all'indagine genetica.

La citofluorimetria può essere ad oggi anche utilizzata per valutare il repertorio del TCR V-beta che fornisce indicazioni sulla clonalità dei linfociti T. Il riscontro di un repertorio oligoclonale può essere suggestivo di SCID ipomorfa o CID.



La valutazione numerica di popolazioni linfocitarie meno rappresentate in percentuale può essere utile per la diagnosi di alcuni quadri specifici: le cellule T doppio negative (CD3+/TCR  $\alpha\beta$ + / CD4- /CD8-) sono aumentate, al di sopra del 2% nella sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS), da sospettare in presenza di linfadenomegalia cronica, splenomegalia e citopenia autoimmune mentre le cellule T regolatorie (CD4+CD25hiFOXP3+) risultano assenti o non attive funzionalmente nella sindrome IPEX, caratterizzata da enteropatia autoimmune, endocrinopatie multiple e infezioni.

### Test di proliferazione a stimolo con mitogeni o antigeni

Ai fini di una più precisa definizione della diagnosi nei pazienti con IEI, è utile valutare la capacità dei linfociti del paziente di proliferare quando vengono coltivati in presenza di mitogeni (fitoemoagglutinina, concanavalina A), o in presenza di linfociti allogenici irradiati (nella reazione leucocitaria mista) o di antigeni con i quali il paziente sia venuto a contatto in precedenza. La rilevazione della risposta (rapida divisione cellulare) dopo stimolo può essere effettuata con metodi morfologici, citofluorimetrici (es. CSFE) o mediante la captazione di timidina radioattiva all'interno delle cellule in divisione. L'indice di proliferazione viene espresso dal rapporto tra la conta/min delle cellule stimolate e la conta/min di un numero equivalente di cellule non stimolate. I pazienti affetti da immunodeficienza T-cellulare presentano risposte proliferative ridotte o nulle in proporzione al grado di deficit (per esempio: risposta alla fitoemoagglutinina <10% nelle SCID tipiche, compresa tra il 10% e il 30%, nelle forme di SCID atipica o nelle forme combinate).

Alla valutazione della proliferazione dopo stimolo può essere associata anche una determinazione della produzione di citochine dopo stimolazione con mitogeni o antigeni. Le citochine solitamente determinate sono l'interferon gamma, l'interleuchina 2, l'interleuchina 4, l'interleuchina 17a e il *tumor necrosis factor alfa*. La produzione di citochine può essere rilevata utilizzando test immunoenzimatici specifici che consentono di quantizzare le citochine prodotte nel sovrantante delle colture cellulari o mediante tecnica di **ELISPOT** computerizzato che rileva la produzione di una certa citochina a livello di singola cellula stimolata. La capacità di sintetizzare una citochina è anche documentabile mediante la dimostrazione della sua presenza nel citoplasma delle cellule attivate; questo è possibile su cellule in sospensione con la citofluorimetria utilizzando anticorpi specifici verso le diverse citochine ed aggiungendo al sistema sostanze che inibiscono la secrezione al di fuori delle cellule delle proteine prodotte.

Ad esempio, ridotti livelli di cellule TH17, identificabili attraverso l'espressione intracitoplasmatica di IL17a dopo stimolo con forbolo-12-miristato-13-acetato (PMA) e ionomicina si riscontrano nelle sindromi con IperIgE da difetto di STAT3, DOCK8, IL6R, IL6ST e ZNF341. Una ridotta o assente produzione di IFN-gamma si riscontra invece nelle immunodeficienze da difetto del pathway NF-kB.

### Livelli di IgE

I livelli delle IgE sono elevati nelle immunodeficienze T-cellulari parziali, nelle malattie allergiche e nelle parassitosi. Pazienti che presentano livelli di IgE notevolmente elevati >2000UI/ml possono essere affetti da sindrome con IperIgE che comprende un gruppo di immunodeficienze sindromiche caratterizzate da dermatite cronica pruriginosa, infezioni recidivanti superficiali e profonde della cute e dei polmoni da germi piogeni (soprattutto da *S. Aureus*). I pazienti affetti dalla forma autosomica recessiva presentano anche linfopenia e suscettibilità a virus cutanei, mentre i pazienti con forma autosomica dominante (Sindrome di Job) possono presentare, disodontiasi, pneumatocele, alterazioni scheletriche e facies con tratti grossolani nell'età adulta. Altre immunodeficienze che possono associarsi a livelli aumentati di IgE sono la Sindrome di Omenn, IPEX, la Sindrome di Wiskott-Aldrich, la Sindrome di DiGeorge, e la Sindrome di Netherton.

### La tipizzazione HLA

Può essere di valido aiuto per distinguere quelle forme di immunodeficienza in cui vi sia attecchimento di antigeni materni (*maternal engraftment*) dalla sindrome di Omenn. Infatti, l'analisi del HLA permette di riconoscere la popolazione linfocitaria di origine materna sulla base dell'espressione degli antigeni di HLA. Inoltre, lo studio di espressione degli antigeni HLA di classe I e II permette di identificare alcune specifiche forme di immunodeficienza caratterizzate da mancata espressione degli antigeni HLA come si osserva nei deficit di classe I da deficit di ZAP70 o nei deficit di classe II (sindrome del linfocita nudo).

### Test funzionale di apoptosi

Il test funzionale di apoptosi indaga l'integrità della via di segnale del FAS su linfociti attivati, e dà risultati patologici in presenza di mutazioni dei geni codificanti per FAS, FAS-ligando e per altre proteine coinvolte in questa via (CASP8 e CASP10). Mutazioni in eterozigosi di uno di questi geni sono responsabili della sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS), disordine della immunoregolazione che si manifesta con linfadenopatia, splenomegalia e/o citopenie au-





toimmuni. A causa della grande variabilità del test di apoptosi, il suo utilizzo diagnostico è molto limitato. Infatti, nei soggetti con sospetta ALPS, si procede generalmente con l'analisi dei linfociti CD3+/TCRαβ+/CD4-/CD8-, il dosaggio dei livelli plasmatici di vitamina B12 e l'analisi genetica.

### Altri test di terzo livello utili per la definizione eziologica delle immunodeficienze T cellulari

Tra le cause di immunodeficienza grave combinata sono inclusi i difetti di Adenosina deaminasi (ADA) e Purina nucleoside fosforilasi (PNP), la cui attività enzimatica può essere dosata attraverso l'uso di kit. Similmente, la *tandem mass spectrometry* può essere utilizzata per valutare l'eventuale accumulo di metaboliti tossici derivante dal difetto di funzione di tali enzimi. Questa metodica è attualmente utilizzata in alcune regioni italiane per lo screening neonatale per SCID da difetto di ADA e PNP.

Il dosaggio dei livelli di alfafetoproteina è utile per valutare il sospetto di atasia-teleangectasia in pazienti con immunodeficienza T cellulare, alterazioni neurologiche e teleangectasie cutanee e della sclera. Infine, i test di radiosensibilità possono essere utili nel sospetto di immunodeficienza combinata da alterazioni in geni implicati nel riparo del DNA.

## **Difetti B cellulari**

I difetti dell'immunità umorale esordiscono tipicamente dopo i primi 6 mesi di vita, allorché gli anticorpi materni di classe IgG si riducono, ma in molti casi i bambini affetti possono manifestare sintomi in epoca successiva. Le manifestazioni classiche sono infezioni sinupolmonari ricorrenti soprattutto da batteri capsulati, infezioni invasive che possono richiedere ospedalizzazione e, accanto a queste, complicanze non infettive quali epatosplenomegalia, interstiziopatia polmonare, autoimmunità e predisposizione allo sviluppo di tumori. Il primo passo nel sospetto di difetti dell'immunità umorale consiste nel dosaggio delle immunoglobuline IgG, IgA, IgM ed IgE, emocromo completo con formula leucocitaria. Se i livelli di immunoglobuline totali sono dosabili la valutazione si completa con l'analisi della risposta anticorpale ad antigeni proteici e polisaccaridici (es. risposta ai vaccini polisaccaridici anti-pneumococco coniugato o non coniugato, e risposta al vaccino per tetano e difterite) e/o la presenza di isoemoagglutinine e lo studio della differenziazione dei linfociti B per identificare le forme transitorie di ipogammaglobulinemia. È di fondamentale importanza che i valori di labora-

torio nei bambini siano comparati con i valori di riferimento per età, in quanto i valori di riferimento variano notevolmente nell'infanzia e nell'adolescenza.

### Dosaggio anticorpale specifico

La capacità di produrre una risposta adeguata da parte del sistema immunitario in seguito ad un determinato stimolo come la vaccinazione costituisce di per sé una indagine semplice ma molto informativa. Sono generalmente studiate le risposte anticorpali specifiche a due tipi di antigeni vaccinali: quello proteico, ad esempio il tossoide tetanico, e quello polisaccaridico, come quello dello *Streptococcus pneumoniae* o dell'*Haemophilus influenzae*. Nel caso del tetano e dell'*Haemophilus influenzae* i titoli anticorpali specifici vengono considerati protettivi quando pari o superiori a 0,1 IU/ml e 0,15 µg/ml, rispettivamente. Generalmente viene considerata adeguata quando si osserva un incremento di circa 4 volte tra il titolo anticorpale pre- e post-vaccinale, quest'ultimo dosato a distanza di 4, ma non più di 8, settimane dalla vaccinazione. La risposta anticorpale agli antigeni polisaccaridici è normalmente ridotta nei pazienti di età inferiore ai 2 anni. Altro parametro utile, in età superiore ad 1-2 anni di vita, è la titolazione dei valori delle isoemoagglutinine, anticorpi di tipo IgM rivolti verso gli antigeni polisaccaridici naturali del sistema AB0 presenti sui globuli rossi. Il dosaggio della risposta anticorpale ad antigeni proteici è utile per valutare la risposta anticorpale timo dipendente mentre il dosaggio della risposta anticorpale ad antigeni polisaccaridici e il dosaggio delle isoemoagglutinine serve a valutare la risposta anticorpale naturale, timo indipendente. Il dosaggio anticorpale specifico non è indicato in pazienti con valori di IgG marcatamente ridotti (<1,5 g/L).

### Sottoclassi IgG

Il dosaggio delle sottoclassi di IgG può fornire informazioni riguardo la diagnosi di alcune forme di difetto immunitario specifico. Tuttavia, non c'è un accordo sulle condizioni per le quali sia opportuno un suo utilizzo diagnostico. Questo va sempre interpretato anche alla luce dei dati delle sottopopolazioni linfocitarie e in particolare della conta dei linfociti B. Così come per il dosaggio delle Ig anche i livelli della sottoclasse IgG1 dipendono strettamente dall'età. Se i livelli di IgG sono normali o quasi normali ma la funzione anticorpale risulta ridotta, allora risulta indicato eseguire la determinazione delle sottoclassi delle IgG. Il dosaggio andrebbe eseguito in bambini al di sopra dei 2 anni di età con infezioni ricorrenti. Infatti, nei bambini piccoli i deficit delle sottoclassi possono essere transitori e scomparire con la crescita. Dopo i 2 anni di età, per porre la diagnosi



di deficit di una delle sottoclassi delle IgG devono essere presenti livelli di IgG1 <250 mg/dl, di IgG2 <50 mg/dl, di IgG3 <25 mg/dl o livelli indosabili di IgG4. Possono essere presenti deficit selettivi a carico di una delle quattro sottoclassi. Il deficit combinato o selettivo di IgG2 o di IgG3, con o senza deficit di IgG4, è il più comune deficit a carico delle sottoclassi. I pazienti con deficit di IgG2 (selettivo o combinato con deficit di un'altra sottoclasse) presentano spesso risposte anticorpali deboli nei confronti degli antigeni polisaccaridici e possono associarsi a un deficit di IgA (<5mg/dl). I livelli di Ig sono determinabili anche nelle secrezioni (p. es. lacrime o saliva).

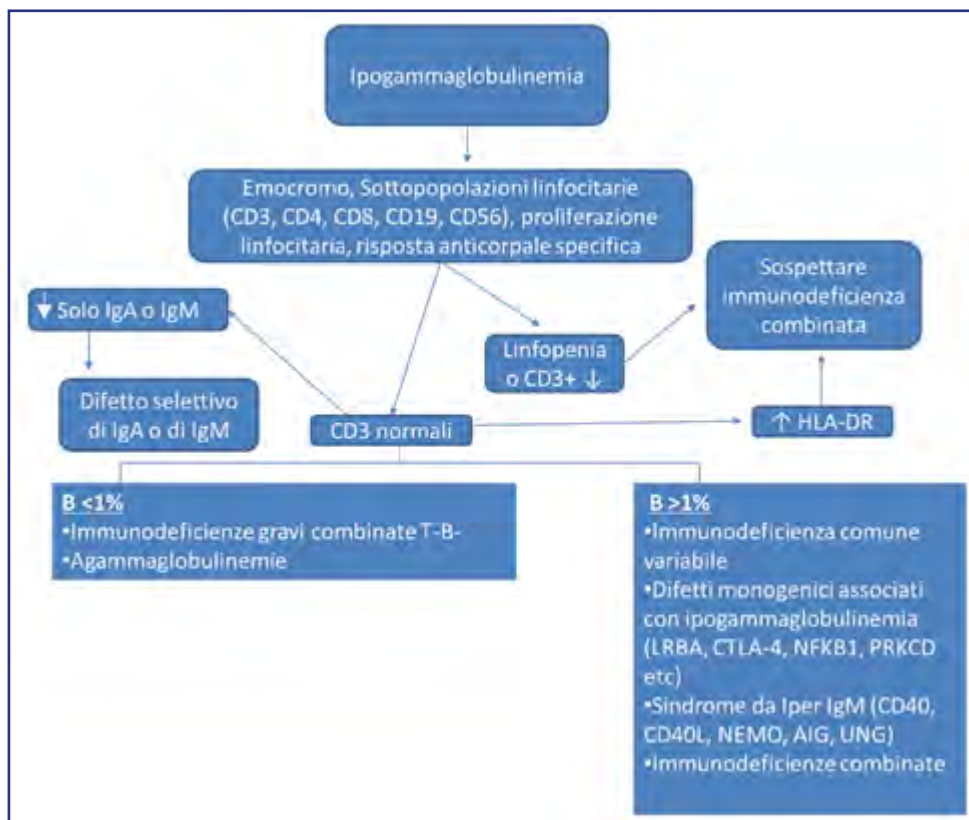
Se esiste il sospetto di un rapido catabolismo delle IgG o di una loro perdita attraverso la cute o il tratto gastrointestinale, può essere indicato uno **studio della sopravvivenza delle IgG**. In questi casi viene somministrata un'alta dose di immunoglobuline EV e vengono misurati quotidianamente i livelli delle IgG per determinarne l'emivita. Per individuare la posizione esatta del blocco sintetico, vengono valutate la sintesi di IgG in vitro e la risposta anticorpale nei confronti di antigeni particolari. I deficit isolati di IgG4 così come di IgD e IgE sono privi di importanza clinica.

### Studio delle sottopopolazioni B linfocitarie

L'analisi citofluorimetrica permette anche di effettuare una valutazione quantitativa e qualitativa e quindi dello stadio maturativo dei linfociti B. In particolare, le sottopopolazioni dei linfociti B vengono distinte in base all'espressione di specifiche molecole di superficie quali il CD19, il CD20 ed il CD22. L'espressione di altre molecole di superficie, quali IgM, IgD, il CD27 ed il CD38, permette di discriminare i diversi sottotipi di linfociti B. Le cellule B mature naïve esprimono solo le IgM e IgD in superficie, mentre dopo l'incontro con l'antigene e la conseguente attivazione esprimono il CD27 trasformandosi quindi in *memory B cells*, a loro volta distinte in *unswitched* e *switched* sulla base dell'espressione o meno delle IgD di superficie. Le differenze di espressione dei sottotipi di cellule B possono aiutare a chiarire il meccanismo alla base del difetto anticorpale e permettere di riconoscere condizioni di ipogammaglobulinemia transitoria rispetto all'immunodeficienza comune variabile. Ridotti valori di linfociti B totali possono essere il risultato di un difetto della differenziazione precoce, mentre bassi valori di *switched memory B cells* possono riflettere un difetto del centro germinativo. In alcuni casi specifici la semplice conta della percentuale di cellule B è già molto informativa. Ad esempio, è possibile la diagnosi di agammaglobulinemia X o

autosomica recessiva quando i linfociti B circolanti sono < 1%. Viceversa, ridotti valori di *switched memory B cells* contribuiscono a identificare i pazienti con CVID (Figura 1). Nel difetto selettivo di IgA, l'immunofenotipo è generalmente normale. La persistenza oltre i 2 anni di un difetto di *memory B cells* rappresenta un fattore predittivo di evoluzione di un'ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia verso una CVID.

Anche nei difetti umorali la citofluorimetria può essere utilizzata per la valutazione dell'espressione di molecole implicate in specifici difetti B cellulari (es. espressione di CD40L nella *iperIgM X-linked* o espressione intracitoplasmatica della *Brunton's tyrosine kinase* nell'agammaglobulinemia *X-linked*).



**Figura 1.** Flow chart inquadramento ipogammaglobulinemia



## Autoanticorpi

Nei difetti umorali, come deficit di IgA e CVID, caratterizzate da particolare frequenza di fenomeni autoimmuni, è necessario valutare la presenza di autoanticorpi. Infatti, in più del 25% dei casi di CVID, sono presenti fenomeni autoimmuni come l'insorgenza di porpora trombocitopenica idiopatica (PTI) o anemia emolitica autoimmune o entrambe (Sindrome di Evans) o più raramente, neutropenia autoimmune. Oltre agli autoanticorpi organo-specifici e non organo-specifici (ANA, ENA, etc) risulta dunque importante ricercare anticorpi anti-piastrine, anti-neutrofili ed eseguire il test di Coombs. Nel difetto di IgA va invece indagata la presenza di anticorpi anti TPO e anti tTG. Va, tuttavia, tenuto in considerazione che la valutazione della produzione di autoanticorpi può essere ostacolata nei difetti dell'immunità umorale e che in corso di terapia sostitutiva non è possibile escludere un'origine iatrogena degli autoanticorpi identificati.

## **Difetti dei neutrofili**

Lo screening iniziale per questo tipo di difetti consiste nella valutazione della conta dei neutrofili e monociti, all'emocromo, l'osservazione microscopica dello striscio di sangue periferico e test di funzionalità dei neutrofili. Un valore di neutrofili inferiore a  $1000/\text{mm}^3$  fino a 12 mesi e inferiore a  $1500/\text{mm}^3$  sopra l'anno di vita definiscono una condizione di neutropenia mentre la presenza di granuli giganti all'interno dei neutrofili è tipica della sindrome di Chediak Higashi.

## Citofluorimetria delle molecole di adesione

L'analisi citofluorimetrica delle molecole di adesione presenti sui neutrofili e i monociti deve essere effettuata nel sospetto di deficit di adesione leucocitaria (LAD). Il CD18 costituisce la catena  $\beta 2$  comune di tre diverse molecole eterodimeriche di adesione della membrana leucocitaria, nelle quali si associa una specifica catena  $\alpha$  (rispettivamente CD11a, CD11b e CD11c).

La diagnosi differenziale fra LAD-I, LAD-II e LAD III si basa sull'analisi in citofluorimetria dell'espressione di CD18 e, presso laboratori di ricerca, su test di adesione granulocitaria a cellule endoteliali attivate. I granulociti di pazienti con LAD-I non esprimono o esprimono bassi livelli di CD18 sulla superficie cellulare e aderiscono male alle cellule endoteliali. I granulociti dei pazienti con LAD-II esprimono normalmente CD18, ma mostrano un'anomala adesione a cellule endoteliali attivate da IL-1. Anticorpi diretti contro la sialil-Lewis X (CD15) possono essere usati in citofluorimetria per la quantificazione della proteina. Il deficit di CD15

sulla membrana dei leucociti affetti da LAD-II determina un difetto nella fase di interazione debole (rolling) tra leucociti ed endotelio che è mediata dalle selectine. Nel LAD di tipo III, si osserva, oltre a leucocitosi, anche aumentato rischio di sanguinamenti per difetto della funzionalità delle integrine nelle piastrine. Per l'analisi di LAD II e LAD III è spesso necessario ricorrere ad esami genetici indirizzati a valutare i geni *SLC35C1* e *FERMT3*, rispettivamente.

In seguito alla fagocitosi del microorganismo la cellula attiva particolari meccanismi biochimici finalizzati all'uccisione del patogeno; alcuni di questi sono misurabili. Per esempio, la funzionalità della nicotinamide dinucleotide-fosfato-ridotto (NADPH) ossidasi attivata in conseguenza della fagocitosi può essere valutata mediante misurazione del consumo di O<sub>2</sub> (con elettrodo di Clark) o rilevazione in chemiluminescenza o mediante spettrofotometro dei prodotti reattivi dell'ossigeno formati.

#### Test del nitro blue tetrazolium (NBT)

È un test semiquantitativo. In condizioni normali, in presenza di superossido, il NBT che ha un colore giallo e solubile, viene ridotto a formazano, reagente blu scuro e insolubile che precipita nelle cellule fagocitiche precedentemente attivate con stimoli solubili (PMA) o particolati: particelle opsonizzate con Zimosan o N-formilmethionil-fenilalanina (fMLP) o batteri (*E. Coli*). Nella Malattia Granulomatosa Cronica (CGD) non si forma il superossido e pertanto non avviene la riduzione del nitro blue tetrazolium a formazano.

#### Citofluorimetria a flusso con diidrorodamina 123 (DHR)

È un test quantitativo. Si basa sull'impiego del DHR come substrato fluorescente rivelatore dell'attività ossidasica. Questo test ha il vantaggio di una elevata sensibilità e può essere eseguito sul sangue in toto anche a distanza di 24 ore dal prelievo. In molti laboratori questo test ha ormai sostituito l'NBT.

Questo test andrebbe eseguito in tutti i pazienti con infezioni piogeniche ricorrenti, ascessi profondi, osteomieliti da germi saprofiti (come *Aspergillus*, *Nocardia* e *Klebsiella*), ma anche in pazienti con malattia infiammatoria dell'intestino a esordio precoce, tutte condizioni che possono essere spie di esordio della CGD.

### **Difetti delle cellule NK e linfocitosi emfagocitica (HLH)**

Le cellule NK sono dei linfociti innati specializzati nella difesa contro le infezioni virali e nella sorveglianza antitumorale. Esse sono identificate dall'espressione



del CD56 e rappresentano una percentuale nel sangue periferico variabile tra il 3 e il 15% dei linfociti. Sebbene un difetto delle cellule NK possa essere osservato in più di 50 disordini congeniti dell'immunità, solo 7 condizioni sono classificate come difetto NK monogenico. I difetti classici delle NK si verificano quando sia il numero che la funzione delle cellule NK sono profondamente ridotti mentre nei difetti funzionali delle cellule NK la funzione citotossica è alterata in presenza di un normale numero di cellule NK. Oltre che nei difetti di NK, un difetto a carico delle NK può essere riscontrato in numerose immunodeficienze, caratterizzate da iperinflammazione sistemica (es. linfoistocitosi emofagocitica). In tali condizioni il difetto delle cellule NK può essere funzionale e numerico o solo funzionale di grado variabile. Tali condizioni sono caratterizzate da febbre non responsiva alle terapie, citopenie, splenomegalia e incremento della ferritina e del recettore solubile dell'IL-2 e possono insorgere nel contesto di forme familiari monogeniche da compromissione dell'attività citotossica o secondariamente a infezioni, neoplasie che fungono da trigger immunologico, causando funzione aberrante dell'inflammasoma.

### Test di citotossicità

Le diverse forme di citotossicità (*natural killer*, anticorpo-dipendente o delle cellule T citotossiche) vengono misurate utilizzando diverse cellule tumorali o cellule bersaglio infettate da virus. I deficit della citotossicità sono presenti in vario grado nelle immunodeficienze cellulari. Un risultato patologico può essere dovuto in rari casi ad un difetto numerico di queste cellule; nella maggior parte dei casi si ha un difetto di rilascio dei granuli litici (degranolazione) o ad un difetto nella produzione di molecole citolitiche, come la perforina. Il test di citotossicità usato prevalentemente nel passato era basato su un metodo di analisi del rilascio di Cr51. Attualmente si preferisce usare il test di degranolazione basato sull'analisi di espressione di CD107a.

A questo si affianca generalmente l'analisi di espressione della perforina attraverso tecniche di citofluorimetria. I test di citotossicità e/o l'espressione di perforina sono generalmente alterati nelle sindromi linfoistocitarie emofagocitiche (HLH), tanto che il deficit di attività NK costituisce uno dei criteri diagnostici di HLH. Le sindromi linfoproliferative X-recessive possono manifestarsi come HLH, ma in queste forme, l'analisi della semplice attività citotossica NK risulta normale, cosicché la loro diagnosi si basa su test genetici o in centri specializzati, sull'analisi citofluorimetrica dell'espressione intracitoplasmatica delle molecole SAP e XIAP.

### Altri marcatori rilevanti nell'HLH

Altri marcatori di rilievo nell'HLH sono i livelli di ferritina, solitamente elevati, i livelli di recettore solubile dell'IL-2 che può essere utilizzato per monitorare la risposta alla terapia, i livelli di IL-18 elevato nelle forme mediate dall'infiammazione e di CXCL9 elevato nelle forme mediate da IFN-gamma, sCD163, rilasciato dai macrofagi e monociti attivati.

### **Difetti dei Toll-like receptor (TLR)**

I TLR sono recettori dell'immunità innata che legano i cosiddetti *pathogen associated molecular patterns* (PAMPS), profili molecolari caratteristici di alcuni patogeni, il cui riconoscimento è seguito dall'attivazione di una cascata di segnale che si traduce nella secrezione di citochine proinfiammatorie e nel priming della risposta immune adattativa antigene specifica. Difetti a carico dei TLR causano suscettibilità a differenti patogeni tra cui *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* nel caso delle molecole coinvolte nel pathway del TLR e del recettore dell'IL1, suscettibilità a virus herpes simplex nei difetti del pathway del TLR3, altre infezioni virali a decorso grave sempre in caso di alterata risposta interferonica.

### Valutazione della funzione dei TLR

In laboratori di ricerca, la valutazione della funzione dei TLR è effettuata stimolando le cellule mononucleari del paziente (PBMCs) con ligandi recettore specifici e dosando tramite ELISA le citochine prodotte in risposta allo stimolo (TNF $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6). Tuttavia, la quantità di citochine prodotta in risposta allo stimolo varia sensibilmente nella popolazione normale per cui l'interpretazione del risultato non può prescindere dal contesto clinico-laboratoristico in cui si inserisce. In alternativa, si può ricorrere all'analisi citofluorimetrica del CD26L che indentifica la L-selectina il cui shedding, indotto dalla stimolazione mediante agonisti dei TLR, determina una riduzione in intensità di fluorescenza variabile a seconda che il difetto sia causato da mutazione di IRAK4 o UNC93B. In alcuni casi (come mutazioni dei TLR3) la funzione del recettore deficitario è compensata da altri pathway a livello delle cellule del sangue periferico. Pertanto, il difetto della funzione del recettore può essere evidenziato soltanto stimolando i fibroblasti ottenuti dalla biopsia cutanea. Utile, infine, indagine genetica che può anche, in questi casi, anche precedere il test funzionale quando questo non sia disponibile in prima battuta.





## Difetti del complemento

### Test per i deficit del complemento

La presenza di un'alterazione a carico del complemento viene valutata inizialmente misurando l'attività complementare totale del siero (via classica) mediante CH50, l'attività della via alternativa mediante AH50 e i livelli sierici di C3 e C4. Il riscontro di CH50 alterato con funzione della via alternativa normale deve far sospettare un difetto dei fattori C1, C2 o C4 associati o ad autoimmunità o a infezioni ricorrenti. Quando sia CH50 che AH50 sono ridotti, deve essere sospettato un deficit a carico della via terminale che è comune a tutte e tre le vie di attivazione del complemento, con maggiore predisposizione ad infezioni capsulati. Per misurare i componenti complementari si utilizzano antisieri mono-specifici o GR sensibilizzati e soluzioni che contengono tutti i componenti tranne quello da determinare.

Sono disponibili antisieri anche per la determinazione delle proteine regolatrici del complemento. Il deficit di C1-inibitore è alla base dell'edema angio-neurotico ereditario e il deficit di fattore I (C3-inibitore) è associato al deficit di C3 con ipercatabolismo del C3. Per valutare la funzione del complemento in modo indiretto si possono impiegare i test di attività opsoninica, chemiotattica o battericida del siero.

### Suscettibilità mendeliana alle micobatteriosi

Appartengono a questa categoria gli IEI caratterizzati da predisposizione a infezioni da micobatteri tubercolari e non tubercolari, ma anche da *Salmonella* extra intestinale, da funghi come *Candida* e *Histoplasma*, parassiti come Leishmania. Il fenotipo infettivologico può essere isolato o "sindromico" in associazione ad alterazioni delle indagini ematologiche e immunologiche di routine. La caratteristica che accomuna questi difetti è una alterata produzione e la risposta all'interferone gamma, ma spesso la diagnosi di queste forme richiede indagini genetiche.

### Test per la diagnosi di disordini congeniti dell'immunità associati a suscettibilità mendeliana alle micobatteriosi

Presso laboratori di ricerca sono eseguiti test volti a misurare la produzione di interferone gamma, spontanea o mediante stimolo, la risposta all'interferone mediante misurazione della fosforilazione dei fattori trascrizionali STAT1 e STAT4.

**Bibliografia essenziale**

- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020 Jan;40(1):24-64.
- Abraham RS. Relevance of laboratory testing for the diagnosis of primary immunodeficiencies: a review of case-based examples of selected immunodeficiencies. *Clin Mol Allergy*. 2011 Apr 9;9:6.
- Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016 Jan-Feb;4(1):38-59. Doi: 10.1016/j.jaip.2015.07.025. Epub 2015 Nov 7.
- Heimall JR, Hagin D, Hajjar J, et al. Use of Genetic Testing for Primary Immunodeficiency Patients. *J Clin Immunol*. 2018 Apr;38(3):320-329.
- Romano R, Giardino G, Cirillo E, Prencipe R, Pignata C. Complement system network in cell physiology and in human diseases. *Int Rev Immunol*. 2021;40(3):159-170.
- Knight V, Heimall JR, Chong H, et al. A Toolkit and Framework for Optimal Laboratory Evaluation of Individuals with Suspected Primary Immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021 Sep;9(9):3293-3307.e6.



## 9.3 LE INDAGINI GENETICHE E MOLECOLARI

**Gigliola Di Matteo, Simona Ferrari, Silvia Giliani**

### **Dal sequenziamento di nuova generazione (NGS) ai microarray**

Nell'ultimo decennio, la tecnologia NGS (*Next Generation Sequencing*) ha permesso di scoprire un gran numero di nuovi geni responsabili di IEI. La maggior parte degli IEI sono attribuiti a varianti di un singolo gene responsabili di una funzione difettiva del sistema immunitario. Attualmente sono state descritte un totale di circa 500 IEI. I progressi nella scoperta di nuove cause genetiche di IEI e la caratterizzazione di fenotipi clinici e immunologici sempre più dettagliata ha migliorato significativamente la comprensione dei meccanismi patogenetici di queste malattie, con un notevole progresso nel riconoscimento e nella gestione dei pazienti che attualmente possono contare su una vasta gamma di terapie personalizzate. Se da una parte il sequenziamento NGS ha contribuito a chiarire molti aspetti prima sconosciuti e aperto nuovi campi di studio sui meccanismi coinvolti nella risposta immune, molti sforzi sono ancora necessari per affrontare le problematiche legate alla sostenibilità dei test genetici

A prescindere dal tipo di tecnologia impiegata, è essenziale che un buon test genetico sia preceduto da una caratterizzazione clinica e immunologica accurata del paziente, oltre che da uno studio approfondito della storia familiare (anamnesi) e da un'informativa sul significato e sui possibili risultati dei test genetici. L'obiettivo principale deve essere quello di definire al meglio il fenotipo clinico del paziente, integrando le indicazioni derivate dagli esami immunologici di primo e secondo livello e i dati relativi alle varianti genetiche identificate dal sequenziamento. Se da una parte l'avvento delle nuove tecnologie di sequenziamento genico ha permesso di stabilire molte diagnosi e nuove funzioni del sistema immunitario, dall'altra ha anche sollevato dubbi sull'interpretazione delle varianti, in particolare quelle mai descritte o rare, ma comunque di significato incerto (*VUS – variants of uncertain significance*).

Ma cosa sono le varianti geniche e in che modo possono alterare una funzione del sistema immunitario? La funzione di una proteina (o di un RNA non codificante) si può perdere, modificare o amplificare a seconda della specifica sequenza modificata e dell'interazione coinvolta (formazione di omodimeri, eterodimeri e multimeri) in uno specifico *pathway*. È possibile che ogni mutazione puntiforme (missenso, nonsenso, di splicing), abbia conseguenze funzionali oppure no e che a seconda della proteina o della regione genomica coinvolta determini

diversi quadri di espressione e/o funzionalità. Frequentemente le inserzioni o delezioni (indel) soprattutto se *frameshift* (che modificano il pattern di lettura a triplette del DNA) e le mutazioni nonsense (inseriscono un codone di stop prematuro) sono patogenetiche mentre le mutazioni silenti (non variando l'aminoacido codificato) sono benigne, ma esistono eccezioni. Le varianti, quindi, vanno sempre analizzate in dettaglio valutando molteplici fattori.

Distinguiamo quindi diversi tipi di mutazione in cui:

- a) la funzione della proteina può essere persa o ridotta. Queste mutazioni che sono generalmente denominate LOF (Loss-Of-Function), sono ulteriormente classificate in mutazioni nulle o ipomorfiche (a funzione ridotta);
- b) la funzione della proteina può essere aumentata o modificata, si parla in questo caso di mutazioni a guadagno di funzione (GOF – Gain-Of-Function) o neomorfiche.

La patogenicità e ricaduta clinica delle varianti di significato incerto può essere dimostrata solo attraverso test funzionali specifici non sempre disponibili.

Quindi alle analisi di primo e secondo livello e alle analisi genetiche di terzo livello, dovremo aggiungere delle nuove analisi di quarto livello in grado di attribuire un significato alle VUS identificate.

Per molti dei geni associati a IEI è disponibile un test funzionale solo in alcuni laboratori specializzati per cui anche l'identificazione di nuove varianti in un gene noto e già descritto può rappresentare un ostacolo alla conclusione della diagnosi.

Spesso una conferma della non patogenicità della variante si ottiene con lo studio di segregazione sui genitori e sui fratelli sani del paziente con IEI: la presenza della stessa variante in un soggetto sano aiuta ad escludere la sua patogenicità.

I primi test genetici disponibili erano basati sul sequenziamento Sanger che veniva effettuato sul singolo gene o su un piccolo gruppo di geni candidati. Questo sistema è ancora considerato il *gold standard* per la conferma e lo studio della segregazione familiare delle varianti identificate con altri metodi, o può essere utilizzato se il fenotipo del paziente è associato ad uno specifico gene suggerito da test funzionali. Tuttavia, il sequenziamento Sanger come primo approccio diagnostico è generalmente considerato obsoleto.

Come è noto, una varietà di fenotipi clinici e immunologici di IEI può derivare da mutazioni in un singolo gene (pleiotropia genetica) o da mutazioni in geni diversi che possono essere alla base dello stesso fenotipo (eterogeneità genetica). Per questa ragione il sequenziamento NGS di un pannello di geni specifici



(*targeted*), oppure degli oltre 5000 geni noti legati a malattie genetiche (mendelioma o Esoma Clinico - EC), dell'intero esoma (*Whole Exome Sequencing* - WES) o dell'intero genoma (*Whole Genome Sequencing* - WGS) ha trovato vasta applicazione nel campo degli IEL per scopi sia diagnostici che di ricerca.

Se inizialmente si è preferito lo studio di pannelli ristretti di geni candidati per un particolare fenotipo clinico (per esempio SCID/CID, difetti anticorpali, sindromi da Iper-IgE) negli ultimi anni, quando il costo è diventato più competitivo, l'EC e il WES hanno preso il sopravvento, consentendo sia l'analisi di un gruppo ristretto di geni in campo diagnostico sia della totalità dei geni in ambito di ricerca. Il sequenziamento NGS non è tuttavia infallibile: alcuni geni presentano copie quasi perfette nel nostro genoma (pseudogeni) rendendo difficile l'analisi (per esempio i geni *IKBK*G – *NEMO* e *NCF1*). Anche le inserzioni/delezioni (indel) estese, sono difficilmente valutabili con sistemi standard di sequenziamento NGS. I riarrangiamenti strutturali e le mutazioni introniche profonde vengono solitamente identificate con altre tecniche, fra cui i microarray genomici, il WGS o con tecniche di *long-read sequencing* la cui capacità di generare letture lunghe da decine a migliaia di Kb, con una precisione simile a quella delle tecnologie di sequenziamento a lettura breve, riescono a risolvere molte delle varianti strutturali precedentemente inaccessibili.

Le tecniche di microarray genomici (*Chromosomal Microarray Analysis*, CMA), che possono affiancare gli studi NGS, utilizzano matrici di sonde fissate su supporti solidi (*array*); vengono adottate in diverse applicazioni, fra cui la determinazione delle variazioni del numero di copie (CNVs, *Copy Number Variations*), cioè delezioni e duplicazioni di una determinata regione genomica. Queste tecniche si basano sull'ibridazione comparativa del DNA del genoma del paziente con quello di un genoma di "controllo". Le tecniche disponibili comprendono le piattaforme array-CGH (a-CGH), basate sull'ibridazione di oligonucleotidi fissati su un array di un campione di DNA del soggetto da analizzare e di uno di riferimento marcati con fluorocromi diversi in cui la misurazione del rapporto fra le intensità di fluorescenza emessa permette di identificare le variazioni del numero di copie del DNA in esame rispetto a quello di riferimento. Lo SNP-array costituisce attualmente il metodo più avanzato di analisi citogenetica nel quale vengono ibridate sonde specifiche per polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) distribuiti uniformemente sul genoma. Il confronto delle intensità di fluorescenza emessa da ogni SNP con quelle ottenute da un set di esperimenti di DNA di riferimento, identifica sia a livello qualitativo che quantitativo il *copy number* con una risolu-

zione dell'ordine delle Kb, oltre a eventi di *Loss of Heterozygosity* (LOH) in campo oncologico e i casi di disomia uniparentale (*Uniparental Disomy* UPD).

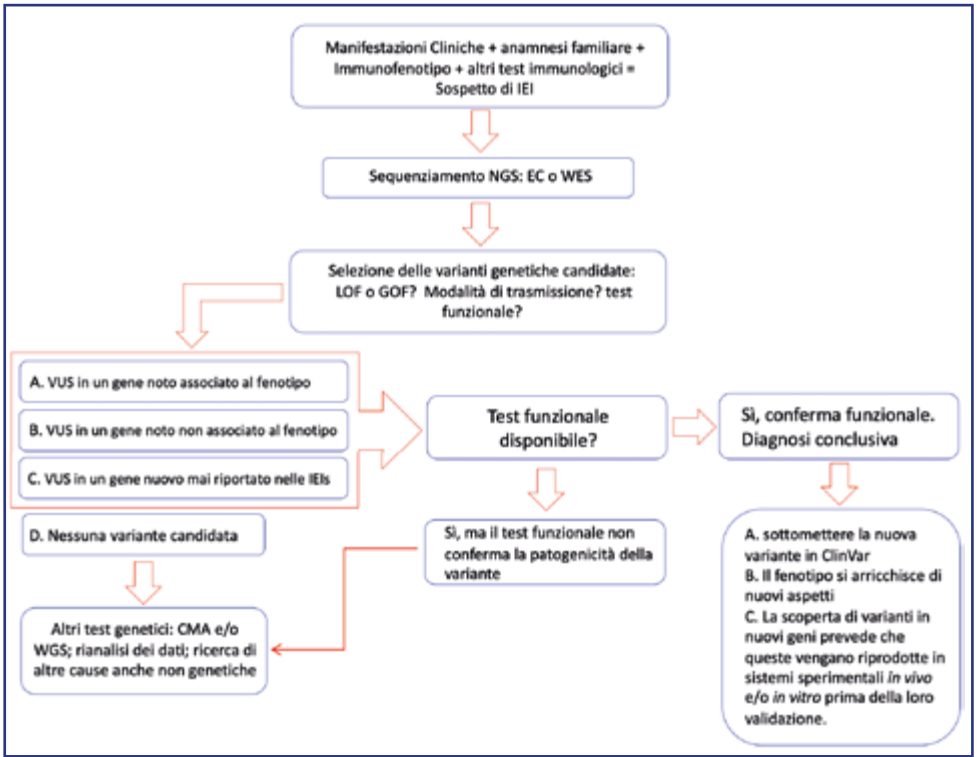
È anche importante essere in grado di rilevare le mutazioni somatiche, ossia confinate ad alcuni tessuti o popolazioni cellulari non germinali. I difetti immunitari causati dalle mutazioni somatiche e i possibili mosaicismi ad esse correlati non sono, di per sé, "errori congeniti dell'immunità", ma imitano gli IEI (cosiddette fenocopie). Esempi di IEI somatici sono la malattia autoimmune linfoproliferativa associata a Ras (RALD) con mutazioni somatiche nei geni *KRAS* o *NRAS* e un tipo di ALPS, con mutazione LOF nel gene *FAS* identificata nella sottopopolazione di linfociti T-CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>-</sup> doppio negative e non rilevabile con tecniche NGS standard se il DNA proviene da cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC). I pazienti con mutazione somatica hanno evidenziato un fenotipo paragonabile a quello di pazienti ALPS con mutazione di *FAS* nella linea germinale.

Anche la presenza di mutazioni in geni modificatori, in molti casi solo supposta, potrebbe alterare l'espressione o la progressione di un IEI. I disordini digenici o trigenici potrebbero così essere rivelati grazie alla scoperta di varianti addizionali in geni correlati o meno agli IEI.

Nella Figura 2 è indicato il protocollo diagnostico standard degli IEI.

L'efficacia media di un Esoma Clinico o di un WES si aggira intorno al 40-60%. L'analisi genetica deve essere quindi integrata da altre analisi genetiche (microarray genomici o WGS) o funzionali in ambito di ricerca, come analisi di proteomica, sequenziamento mirato dell'RNA (RNA-seq) di PBMC o di subset cellulari in differenti condizioni sperimentali e dallo studio del profilo di metilazione del genoma (metiloma). La caratterizzazione dei livelli di metilazione del DNA ci permette di studiare il ruolo dell'epigenetica, ossia di tutte quelle modificazioni ereditabili della cromatina che causano variazioni dell'espressione genica senza che vi siano alterazioni della sequenza del DNA.

Molte delle tecnologie disponibili e in fase di sviluppo accelereranno la scoperta e la validazione di nuove varianti patogenetiche negli IEI. I criteri per l'inclusione di un nuovo IEI nella classificazione dell'*International Union of Immunological Societies* (IUIS, organismo che si riunisce periodicamente per produrre un documento aggiornato sugli IEI), richiedono infatti che le varianti genetiche debbano comportare una compromissione o un'alterazione dell'espressione o della fun-



**Figura 2.** Protocollo diagnostico degli IELI dallo studio della clinica all'indagine genetica e valutazione dei risultati (modificato da Rey-Jurado, et al., 2021)

zione genica e che i difetti funzionali vengano riprodotti in una linea cellulare/ modello animale pertinente.

Lo studio degli IELI non è mai fine a sé stesso poiché molti dei meccanismi patogenetici ad esse associati potrebbero essere alla base di una più ampia gamma di disturbi immunitari più complessi dell'adulto (aumento della suscettibilità a singoli patogeni, predisposizione a manifestazioni autoimmuni e/o infiammatorie, esacerbazione di fenomeni allergici). In altre parole, gli IELI sono probabilmente patologie meno rare di quanto non sia stato evidenziato finora. È probabile, infatti, che la caratterizzazione di varianti non rare potrebbe spiegare la suscettibilità alle malattie infettive più comuni nonché a tutte quelle con sintomatologia immunorelata. Un enigma chiave, fino ad ora trascurato nel campo della microbiologia e delle malattie infettive è infatti l'immensa variabilità clinica interindividuale che caratterizza qualsiasi infezione primaria.

**Bibliografia essenziale**

- Meyts I, Bosch B, Bolze A, et al. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2016 Oct;138(4):957-969.
- Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol.* 2022 Oct;42(7):1473-1507.
- Heimall JR, Hagin D, Hajjar J, et al. Use of Genetic Testing for Primary Immunodeficiency Patients. *J Clin Immunol.* 2018 Apr;38(3):320-329.
- Morgan N, Similuk, Jia Yan, Rajarshi Ghosh, et al. Clinical exome sequencing of 1000 families with complex immune phenotypes: Toward comprehensive genomic evaluations. *JACI* 2022;150(4):947-54.
- Rey-Jurado E, Poli MC. Functional genetics in inborn errors of immunity *Future Rare Diseases* 2021;1(2) Jun.
- Beers BJ, Similuk MN, et al. Chromosomal microarray analysis supplements exome sequencing to diagnose children with suspected inborn errors of immunity. *Front Immunol* 2023 May 5;14:1172004.
- Aluri J, Cooper MA. Genetic Mosaicism as a Cause of Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol.* 2021 May;41(4):718-28.
- Staels F, Collignon T, Betrans A. Monogenic Adult-Onset Inborn Errors of Immunity *Front Immunol.* 2021 Nov 17;12:753978.
- Gruber C, Dusan Bogunovic D. Incomplete penetrance in primary immunodeficiency: a skeleton in the closet. *Hum Genet* 2020 Jun;139(6-7):745-757.
- Marwaha S, Knowles JW, Ashley EA. A guide for the diagnosis of rare and undiagnosed disease: beyond the exome. *Genome Med.* 2022 Feb 28;14(1):23.
- Casanova JL, Abel L. From rare disorders of immunity to common determinants of infection: Following the mechanistic thread. *Cell* 2022 Aug 18;185(17):3086-3103.





## 10. LE IMMUNODEFICIENZE SECONDARIE

---

**Lavinia Perciasepe, Elena Chiappini, Mayla Sgrulletti, Viviana Moschese**

Le immunodeficienze secondarie, o acquisite, sono una compromissione transitoria o persistente delle funzioni del sistema immunitario, determinata da cause iatrogene e/o patologiche. L'incidenza e la prevalenza delle forme di immunodeficienza secondaria sono legate all'epidemiologia della malattia causale.

I difetti immunitari da immunodeficienza acquisita comportano, come nelle immunodeficienze primitive, un aumentato rischio di infezioni gravi, malattie autoimmuni o neoplasie. I quadri clinici presentati sono eterogenei e dipendono dalla suscettibilità dell'ospite e dalla patologia di base.

Le principali patologie che determinano un difetto immunitario includono:

1. alcuni tipi di infezione (quali infezioni da virus dell'immunodeficienza umana (HIV), *Epstein Barr Virus* (EBV), *Parvovirus*, *Citomegalovirus* (CMV), virus del morbillo)
  2. malattie autoimmuni
  3. sindromi genetiche sistemiche
  4. alcune neoplasie
  5. malattie metaboliche
- 

Inoltre, sono da considerare alcune condizioni patologiche che causano perdita di proteine e micronutrienti (malattie sistemiche, gastrointestinali e renali), condizioni di ipercatabolismo, malnutrizione e cause iatrogene (Tabella 1).

È opportuno ricercare una condizione di immunodeficienza acquisita iatrogena in bambini in trattamento prolungato con glucocorticoidi o alcuni farmaci immunomodulanti, o che abbiano subito interventi chirurgici, traumi e ustioni gravi.

La gestione della condizione primaria si traduce spesso in un miglioramento dell'immunodeficienza secondaria. Ad esempio, quando l'enteropatia proteino-disperdente causa un quadro di ipogammaglobulinemia, il successo del trattamento dell'enteropatia si associa ad un ripristino dei normali livelli sierici di immunoglobuline. Tuttavia, in alcune condizioni non si raggiunge un buon controllo della patologia primaria e in questo caso bisogna adottare misure per ridurre l'esposizione alle infezioni, la profilassi antibiotica, la somministrazione di

immunoglobuline e le vaccinazioni. La prognosi dipende dalla gravità del difetto immunitario.

**Tabella 1.** Condizioni patologiche e cause iatrogene di Immunodeficienza acquisita

1A. Immunodeficienza acquisita secondaria a condizioni patologiche	1B. Immunodeficienza acquisita su base iatrogena
Infezioni virali e batteriche	Splnectomia
Virus dell'immunodeficienza umana	Timectomia
Neoplasie	Interventi chirurgici
Malattie autoimmuni	Ustioni
Malattie sistemiche genetiche	Traumi
Malattie metaboliche	Terapia steroidea prolungata
Insufficienza renale	Farmaci citotossici
Enteropatie protido-disperdenti	Farmaci biologici
Malnutrizione	Radiazioni ionizzanti

## Malnutrizione e ipoproteinemia

La causa principale di immunodeficienza acquisita è la malnutrizione, particolarmente nei paesi a risorse limitate. Lo stato di malnutrizione può essere determinato da ridotto apporto proteico-calorico, a sua volta conseguente a scarse condizioni socioeconomiche, diete selettive, patologie che determinino stati di cachessia, quali le neoplasie.

La malnutrizione può essere conseguenza di perdita di proteine e nutrienti, a causa di enteropatie protido-disperdenti e patologie renali.

Anche il bambino obeso può essere considerato malnutrito, in particolare se si alimenta con diete squilibrate in termini qualitativi. La leptina, l'ormone che viene prodotto in risposta al consumo di quantità sufficienti di cibo e che fornisce il senso di sazietà, svolge un ruolo nell'immunità innata e acquisita. Nei bambini con scarso accesso alle risorse alimentari i livelli di leptina sono ridotti. La leptina regola le risposte dei linfociti T, polarizzando le cellule T *helper* verso un fenotipo *helper* tipo 1. I livelli di leptina aumentano in acuto durante processi flogistici e infettivi, rappresentando una componente protettiva della risposta dell'ospite. Ridotti livelli di leptina si associano ad un difetto nell'emopoiesi e ad una disregolazione della produzione di citochine, determinando un aumentata suscettibilità agli stimoli infettivi e infiammatori.

La relazione tra Nutrizione e IEI viene ulteriormente trattata nel cap. 13.2.



## Deficit di micronutrienti: zinco e acido ascorbico

La carenza di micronutrienti, quali zinco e acido ascorbico, contribuisce ad incrementare la suscettibilità alle infezioni attraverso una riduzione della capacità di barriera di cute e mucose, facilitando quindi l'ingresso di agenti patogeni.

Lo zinco ha un ruolo sia nell'immunità innata, sostenendo l'attività dei neutrofilii e dei macrofagi, sia nell'immunità acquisita. L'insufficienza di zinco influenza sfavorevolmente lo sviluppo dei linfociti T e dei linfociti B e ne promuove l'apoptosi. Sul ruolo della vitamina C ci sono solo studi in vitro e modelli sperimentali che hanno dimostrato attività virucida e fungicida oltre a ridurre la carica virale delle cellule infettate da EBV e CMV. È stato quindi ipotizzato, ma non ancora dimostrato in vivo, che la vitamina C abbia un ruolo immunomodulante, in particolare sulla proliferazione e funzione dei leucociti e macrofagi.

## Deficit di vitamina D

Numerosi studi hanno riportato tra le azioni extra-scheletriche della vitamina D, un suo ruolo nel sistema immunitario. La vitamina D attiva modula la risposta adattativa promuovendo la tolleranza immunologica in due modi: *in primis* bloccando la maturazione delle cellule dendritiche e quindi la loro capacità di presentare l'antigene alle cellule effettrici e inoltre inibendo la differenziazione delle cellule T *helper* tipo 1 e 17. È, inoltre, in grado di modulare la funzione dei linfociti T di memoria, di modulare l'azione dei *Toll-like receptors*, di regolare la produzione di citochine infiammatorie in favore della interleuchina 10, di attivare fattori dell'immunità innata, come catelicidine e defensine.

La vitamina D sembra, inoltre, essere necessaria nell'attività dei macrofagi contro i patogeni intracellulari, in particolare *Mycobacterium tuberculosis*. Una recente metanalisi conclude che la supplementazione di vitamina D possa essere considerata una terapia di combinazione nei pazienti con tubercolosi polmonare.

Numerosi studi hanno dimostrato gli effetti benefici della vitamina D nelle persone affette dal virus dell'immunodeficienza umana. Gli effetti più salienti dell'aumento dei livelli di calcidiolo comprendono l'aumento della conta dei linfociti CD4, ma anche la diminuzione della carica virale, la prevenzione dell'ipertroidismo secondario e di altre comorbidità come la malattia tubercolare.

## Diabete

Nel diabete sono stati riscontrati molti meccanismi che facilitano lo sviluppo di infezioni: difetto della fagocitosi e della chemiotassi dei neutrofilii, difetto funzionale dei linfociti *Natural killer*, scarsa risposta proliferativa linfocitaria in presenza di antigeni o mitogeni. L'insufficiente utilizzazione di insulina da parte delle cellule del sistema immunitario comporta una diminuita attivazione e differenziazione delle stesse. Ne consegue un circolo vizioso per cui le infezioni acute nel diabetico favoriscono lo scompenso metabolico, il quale a sua volta riduce la risposta immunitaria. Da numerosi studi è emerso che nei pazienti con diabete di lunga durata vi è un aumento degli immunocomplessi circolanti, un decremento del numero totale dei linfociti T ed un rapporto linfocitario CD4+/CD8+ ridotto.

A causa della iperglicemia e della neuropatia periferica sono inoltre ridotte le barriere contro la penetrazione dei batteri e funghi. I pazienti diabetici sono a maggior rischio di infezioni del tratto urinario, infezioni fungine, osteomieliti, infezioni cutanee e infezioni batteriche invasive.

## Insufficienza renale

L'insufficienza renale cronica (IRC) è una causa di immunodeficienza secondaria, tanto che le infezioni rappresentano la più comune causa di decesso nei pazienti con IRC. Tali pazienti presentano diverse alterazioni del sistema immunitario, che li predispongono ad infezioni gravi recidivanti o croniche e infezioni opportunistiche. Inoltre, anche la protezione indotta dalle vaccinazioni può risultare subottimale, a causa di una ridotta risposta antigene-specifica.

Dal punto di vista laboratoristico si riscontrano deficit dell'immunità umorale (livelli sierici ridotti di immunoglobuline totali o delle classi di immunoglobuline o delle sottoclassi di immunoglobuline G, carenza di fattori del complemento) e dell'immunità cellulare (neutropenia e linfopenia sia a carico dei linfociti B, che dei linfociti T CD4+).

Un altro aspetto dello stato di immunodeficienza del paziente con malattia renale cronica è che i processi infiammatori non infettivi risultano attenuati; ad esempio, è descritta una significativa diminuzione dell'attività delle malattie autoimmuni.

I difetti immunitari del paziente con IRC sono il risultato di una serie di meccanismi patologici: azione diretta dell'iperuricemia e indiretta tramite lo scompenso metabolico che comporta; la malattia sottostante che ha portato a IRC ed i



trattamenti che essa richiede, come nel caso delle connettivopatie e vasculiti trattate con immunomodulanti e glucocorticoidi e/o gli interventi terapeutici necessari per trattare l'IRC quali emodialisi, trasfusioni multiple di sangue e trapianto con conseguente terapia immunosoppressiva. La necessità di emodialisi avrebbe un ruolo causale aggiuntivo nell'immunodeficienza secondaria a IRC, contribuendo alla riduzione del numero di anticorpi circolanti.

### **Enteropatie protido-disperdenti**

Sono numerose le cause di enteropatia protido-disperdente che spaziano da forme rare e congenite quali la enteropatia a ciuffi e la linfangectasia intestinale primitiva, alle malattie infiammatorie intestinali croniche (morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa), ai linfomi e tumori intestinali, fino ad alcuni tipi di grave enterocolite come quella da CMV. Tali condizioni sono accomunate da malassorbimento proteico con conseguente ipoalbuminemia, ipoprotidemia ed ipogammaglobulinemia secondaria.

### **Malattie autoimmuni e malattie metaboliche**

Le malattie autoimmuni si associano frequentemente ad immunodeficienza secondaria, sia a causa dell'impiego di farmaci immunosoppressori (utilizzati ad esempio nelle forme gravi di artrite reumatoide, spondilite anchilosante, psoriasi, malattia di Crohn) sia, in alcuni casi, proprio in virtù della patologia di base che provoca, con un meccanismo autoimmune, la distruzione di alcune cellule del sistema immunitario che riconosce come non-self. È il caso della neutropenia autoimmune, isolata o associata a linfopenia e anemia nella sindrome di Evans, secondaria a lupus eritematoso sistemico, sindrome di Sjogren, tiroidite autoimmune, artrite idiopatica giovanile, sindrome di Felty, sclerodermia, epatite autoimmune, celiachia, diabete mellito. Le malattie metaboliche possono provocare immunodeficienza secondaria, a causa dell'accumulo di metaboliti in alcune cellule/organi del sistema immunitario. Le malattie da accumulo lisosomiale, come la malattia di Gaucher, provocano citopenia inclusa la neutropenia, secondaria a splenomegalia. Altre patologie rare si accompagnano a neutropenia, come la sindrome di Barth, difetto congenito del metabolismo dei fosfolipidi, che si manifesta con un quadro complesso ed estremamente variabile di segni e sintomi, tra cui cardiomiopatia dilatativa (DCM), miopatia scheletrica, ritardo della crescita e aciduria organica.

## Infezioni virali e batteriche

Le infezioni rappresentano un'importante causa di immunodeficienza acquisita. I principali agenti eziologici che inducono immunodeficienza sono HIV, EBV, CMV, virus del Morbillo e *Parvovirus*.

Gli agenti infettivi riducono le difese immunitarie *in primis* causando un danno della barriera mucosale e cutanea che facilita la penetrazione di microrganismi. Inoltre, determinano leucopenia o ridotta funzionalità dei linfociti, tramite induzione di un'inappropriata apoptosi e di anergia (come nel caso del virus del Morbillo) e neutropenia (come nel caso del *Parvovirus*). Le immunodeficienze secondarie ad infezioni sono generalmente transitorie e si risolvono rapidamente dopo la fase acuta, ad eccezione dell'infezione da virus dell'immunodeficienza umana.

### Epstein Barr Virus

EBV durante l'infezione acuta induce uno stato transitorio di immunosoppressione, riducendo la funzionalità dei linfociti B, all'interno dei quali rimane latente anche successivamente. Il virus induce la produzione del fattore di trascrizione EBNA2 che sembra essere coinvolto nell'alterato funzionamento dei linfociti B e nello sviluppo di patologie autoimmuni quali diabete, lupus eritematoso sistemico, artrite reumatoide, sclerosi multipla, nonché nello sviluppo di tumori, in particolare tumori ematologici ed epiteliali, che si sviluppano preferenzialmente nel contesto dell'immunodeficienza.

### Virus del morbillo

Il virus del morbillo infetta le cellule immunitarie, causando un'immunosoppressione acuta. In corso di infezione da morbillo si verifica un difetto di produzione di interleuchina-12 (IL-12) e di interferone gamma (INF- $\gamma$ ) che favorisce le infezioni batteriche secondarie, in particolare polmoniti e otiti. L'infezione da morbillo induce anergia, come nel caso dell'anergia all'intradermoreazione di *Mantoux*. È stato, inoltre, dimostrato un miglioramento clinico di alcune patologie autoimmuni in corso di morbillo. Uno studio recente ha dimostrato, tramite l'impiego del test "Virscan" che traccia gli anticorpi contro migliaia di epitopi patogeni nel sangue, che l'infezione naturale da virus del morbillo causa una importante eliminazione del repertorio di anticorpi negli individui infetti. Il recupero degli anticorpi avviene in seguito, dopo la riesposizione naturale ai patogeni. La riduzione della memoria immunitaria umorale dopo l'infezione da morbillo genera una potenziale vulnerabilità a future infezioni, sottolineando la necessità di una vasta copertura vaccinale.



## Sindrome da immunodeficienza acquisita

L'HIV, il principale agente infettivo responsabile di immunodeficienza secondaria, rappresenta un importante problema di salute globale, configurando una vera e propria pandemia. Nonostante la crescente disponibilità di terapie antiretrovirali, nel 2019 si stimava che a livello mondiale vivessero 38 milioni di persone con infezione da HIV e che si fossero verificati in quell'anno 690.000 decessi e 1,7 milioni di nuove infezioni. L'incidenza è diminuita nel tempo passando dal picco del 1996 con 3,2 milioni di nuove diagnosi a circa 1,5 milioni nel 2021. Alla fine di dicembre 2021, hanno avuto accesso alle terapie antiretrovirali 28,7 milioni di persone con l'HIV (il 75% del totale) e l'81% delle donne in gravidanza. Per quanto riguarda la popolazione pediatrica, nel 2017 si stimava che nel mondo vivessero 1,7 milioni di bambini sotto i 15 anni affetti da HIV, e che si verificassero ancora 180.000 nuove infezioni da HIV l'anno, circa 500 al giorno. In Europa la situazione sembra essere maggiormente sotto controllo.

L'HIV è un virus a RNA appartenente alla famiglia dei *Retroviridae*, genere *Lentivirus*, di cui sono stati identificati due differenti tipi, HIV-1 e HIV-2, che determinano quadri clinici sovrapponibili. In Europa e negli Stati Uniti è maggiormente diffuso l'HIV-1 sottotipo B.

Il virus ha come principale bersaglio i linfociti CD4+, all'interno dei quali può rimanere silente o replicarsi attivamente determinando la morte cellulare. Pertanto, il principale marcatore dell'attività dell'infezione da HIV è la riduzione del numero dei linfociti CD4+ circolanti. Inoltre, poiché l'HIV infetta anche le cellule dendritiche, della microglia e i monociti/macrofagi, si osserva una disfunzione sia dell'interazione tra linfociti T e B sia della presentazione dell'antigene oltre ad un'alterazione della risposta umorale agli antigeni configurando un deficit combinato dell'immunità cellulo-mediata e umorale. I pazienti affetti da HIV hanno conseguentemente una maggiore suscettibilità alle infezioni virali, fungine e batteriche, una ridotta risposta alle vaccinazioni e un rischio aumentato di sviluppare neoplasie.

In età pediatrica la maggior parte delle infezioni avviene per via verticale, ovvero durante la gestazione, durante il passaggio dal canale del parto o attraverso l'allattamento, la cosiddetta *mother-to-child-transmission*. Le altre vie di trasmissione sono meno rappresentate: via ematica attraverso trasfusione di emocomponenti contaminati, puntura volontaria o accidentale con aghi contaminati, e via sessuale, attraverso il contatto tra liquidi biologici infetti (secrezioni vaginali, sperma, sangue) e le mucose.

Il rischio d'infezione del neonato può essere quasi azzerato (con riduzione dal 30-40% a meno del 2%), con adeguate strategie di prevenzione della trasmissione materno-fetale quali:

- 】 *screening* di tutte le donne in gravidanza;
- 】 assunzione di terapia antiretrovirale da parte della madre durante la gravidanza e il parto se carica virale plasmatica > 1000 copie/ml;
- 】 programmazione di parto cesareo, in caso di carica virale dosabile;
- 】 astensione assoluta dall'allattamento al seno nei paesi a medio-alto reddito;
- 】 profilassi post-esposizione nei neonati (zidovudina in monoterapia per 4-6 settimane o terapia combinata nei pazienti ad alto rischio).

Le suddette strategie hanno permesso un'importante riduzione della trasmissione materno-fetale nei paesi industrializzati. Purtroppo, non è avvenuto lo stesso in altre aree, come in Africa sub-sahariana dove l'accesso alle cure è ancora difficile.

Nell'infezione perinatale le manifestazioni cliniche sono gravi e a rapida insorgenza a causa sia di una azione diretta del virus su organi nobili (sistema nervoso centrale, cuore, reni), sia indirettamente per il verificarsi di gravi infezioni opportunistiche dovute allo stato di immunodepressione. La malattia, in assenza di terapia antiretrovirale, conduce a morte un terzo dei bambini nei primi due anni di vita.

Nel neonato e nel lattante fino ai 18 mesi, in considerazione del passaggio transplacentare di anticorpi materni, la diagnosi viene posta attraverso la ricerca del genoma virale con metodica *polymerase chain reaction* (PCR). Invece, nei bambini di età superiore ai 18 mesi, così come negli adulti, vengono dapprima effettuati test immunoenzimatici ad elevata sensibilità e specificità che rilevano la presenza di antigeni e di anticorpi contro HIV-1 e HIV-2. La conferma richiede la ricerca del genoma virale con metodica PCR. Il bambino che ha subito una esposizione perinatale viene seguito in un percorso di follow-up fino ai 18 mesi, durante il quale la ricerca del genoma virale tramite PCR deve essere effettuata periodicamente. L'esclusione dell'infezione perinatale nei bambini non allattati al seno è basata su due o più PCR negative, di cui una dopo il primo mese di vita e una dopo il quarto. In via prudenziale, nei soggetti con due PCR negative, viene comunque documentata la negativizzazione degli anticorpi a 18 mesi.

La malattia può essere distinta in stadi di gravità come indicato dalla classificazione stilata dai *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) per bambini di età inferiore ai 13 anni, in base alle manifestazioni cliniche (sintomatologia lieve, moderata o grave) e al deficit immunologico (numero di linfociti CD4+).

Indipendentemente dallo stato immunologico e dalle manifestazioni cliniche è indicato in tutti i bambini l'impiego della terapia *Highly Active Anti-Retroviral Therapy* (HAART), ovvero combinazioni terapeutiche di più farmaci appartenenti a





diverse categorie farmacologiche. I due principali obiettivi della terapia sono la soppressione virale ed il mantenimento o ripristino di normali valori di linfociti CD4+ nella norma. In caso di bassi valori di linfociti CD4+ è necessaria, inoltre, la profilassi delle infezioni opportunistiche, soprattutto da *Pneumocystis jirovecii*, nonché la rapida terapia delle infezioni e un adeguato programma di vaccinazioni.

La gestione del bambino con infezione da HIV è di tipo multidisciplinare (ginecologo, infettivologo pediatra e dell'adulto, psicologo) e di cruciale importanza è il momento della comunicazione della diagnosi, soprattutto se in età adolescenziale, quando risultano particolarmente complessi sia l'approccio alla sfera sessuale sia il mantenimento di una buona compliance alla terapia.

## Asplenia

L'asplenia è una condizione patologica in cui la funzione della milza è gravemente compromessa o assente. Si distingue in congenita, condizione rara, e acquisita, secondaria a splenectomia o a patologie che provocano asplenia funzionale e/o autosplenectomia (come l'anemia falciforme). I pazienti che non hanno una milza funzionante diventano vulnerabili a gravi infezioni e sepsi causata da batteri e, occasionalmente, da protozoi. Il rischio permane per tutta la vita ed è aumentato nella popolazione pediatrica e in coloro che hanno ricevuto un trattamento immunosoppressivo. Le infezioni disseminate nel paziente splenectomizzato sono condizioni gravi, che comportano una mortalità del 38%-69%. Richiedono terapia antibiotica per via endovenosa, ricovero in ambiente protetto e infusione di immunoglobuline. L'agente eziologico più comune è lo *Streptococcus pneumoniae*, rappresentando il 50%-90% degli isolati da emocoltura, in particolare nei bambini con anemia falciforme. Meno frequentemente altri batteri, quali Babesia o Ehrlichia.

Le infezioni disseminate e fulminanti possono essere, in una certa misura, prevenibili con diversi interventi:

- 】 conservazione chirurgica della milza;
- 】 immunizzazione contro *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tipo b e *Neisseria meningitidis*;
- 】 profilassi antibiotica;
- 】 schede informative per i pazienti e un braccialetto di allerta medica.

I pazienti asplenicici che vivono in aree endemiche per la malaria richiedono una profilassi ottimale.

## Le immunodeficienze iatrogene

Diversi sono i farmaci che possono causare un'immunodeficienza secondaria (SID). Tra le cause secondarie di deficit di IgA rientrano, ad esempio, gli anti-convulsivanti ed altri farmaci di utilizzo neuropsichiatrico come la fenitoina, la carbamazepina, l'acido valproico, la lamotrigina e la clorpromazide. D'altra parte, la lamotrigina e la carbamazepina possono provocare anche una riduzione dei livelli di IgG e sottoclassi. I trattamenti immunosoppressivi convenzionali e biologici sono sempre più utilizzati nei pazienti affetti da patologie autoimmuni o neoplastiche e pertanto rappresentano, in virtù del loro impatto sul sistema immunitario innato e adattativo, la causa più frequente di SID.

### Trattamenti immunosoppressivi convenzionali

Gli effetti immunosoppressivi dei trattamenti chemioterapici, ivi inclusi gli agenti alchilanti (es. ciclofosfamide, clorambucil e bendamustina), gli analoghi delle purine (es. micofenolato mofetile, tiopurine, fludarabina), l'azatioprina, il methotrexate e i corticosteroidi sistemici sono ben noti. Agendo tanto sull'immunità innata quanto su quella adattativa ed in virtù delle loro capacità mielotossiche, possono indurre citopenie, alterazioni qualitative del funzionamento dei linfociti ed ipogammaglobulinemia, con inevitabile aumento del rischio infettivo. I pazienti sottoposti a tali trattamenti possono sviluppare complicanze infettive sostenute da germi quali *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *H. influenzae* e *Klebsiella pneumoniae* e presentano una maggiore suscettibilità a virus, funghi e protozoi nonché ai germi opportunisti (VZV, pneumocystis, candida spp, *Listeria monocytogenes*, ecc).

### Trattamenti biologici

Grazie agli straordinari progressi registrati negli ultimi 30 anni nel settore delle biotecnologie e nella conoscenza dei *pathways* molecolari implicati nelle malattie immunomediate, si è assistito ad una progressiva disponibilità di trattamenti biologici innovativi, capaci di agire selettivamente su specifiche molecole (citochine, recettori, proteine di membrana, ecc.) modificandone il funzionamento. Nonostante la loro selettività di azione, non sono anch'essi scevri da effetti avversi immunologici a seguito del difetto quantitativo o qualitativo del bersaglio contro cui sono diretti.

### *Trattamenti B cell-targeting e il loro capostipite, il rituximab*

Nelle ultime decadi si è assistito ad una progressiva disponibilità di trattamenti bio-



logici diretti contro cellule B (anti-CD20, anti-CD52, anti-CD19, anti-BAFF), plasmacellule (anti-CD38), o in grado di bloccare l'attivazione e l'interazione del compartimento B cellulare con le cellule T (inibitori delle proteasi/tirosinchinasi e farmaci anti-CD80/86). Questi farmaci sono sempre più utilizzati, anche in età pediatrica, nel trattamento di patologie autoimmuni e neoplastiche. I trattamenti B *cell-targeting* attualmente approvati sono riportati nella Tabella 2, unitamente alle loro indicazioni cliniche, effetti immunologici ed associato rischio infettivo. Il rituximab (RTX), anticorpo monoclonale anti-CD20, può essere considerato il capostipite dei trattamenti biologici B *cell-targeting* ed esplica la sua azione immunosoppressiva mediante la citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC), la fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP), la citotossicità complemento dipendente (CDC) e l'induzione dell'apoptosi mediante signaling transmembrana (Figura 1). Il RTX è ampiamente utilizzato nel trattamento delle neoplasie CD20 positive e di numerose patologie autoimmuni, inoltre il RTX è sempre più utilizzato, in regime di off-label, per la gestione di patologie neurologiche, dermatologiche, etc. Non da ultimo, il RTX è utilizzato per il trattamento di diverse condizioni di immunodisregolazione nell'ambito degli IEL.

**Tabella 2.** Trattamenti B *cell-targeting* attualmente approvati, indicazioni cliniche, effetti immunologici e rischio infettivo (aggiornata da Ottaviano G, et al, 2023).

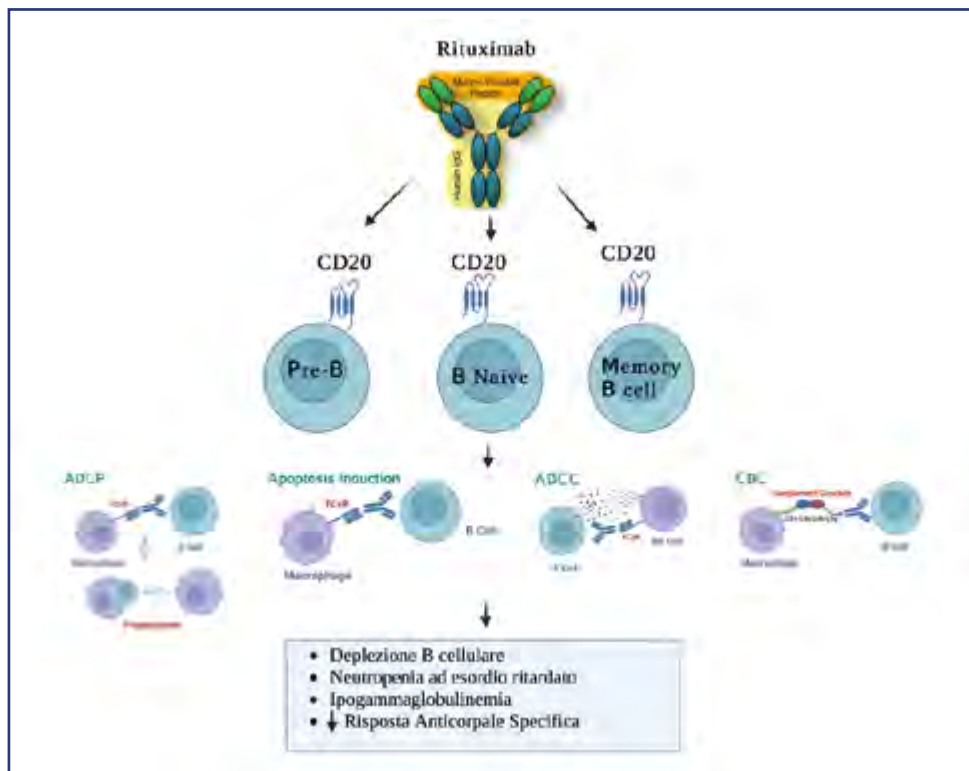
Nome	Tipologia	Indicazioni approvate	Effetti immunologici	Rischio Infettivo
Rituximab	Ab monoclonale chimerico IgG1 anti-CD20	LNH, LLC, AR, PTI, GPA, MPA, EGPA, PV	Deplezione B cellulare Neutropenia ad esordio ritardato Ipogammaglobulinemia ↓ Risposta Ab specifica	infezioni batteriche gravi, riattivazione HBV ed HCV, infezioni da CMV, VZV, enterovirus, COVID-19 con manifestazioni gravi, PML
Obinutuzumab	Ab monoclonale umanizzato glicoingegnierizzato IgG1 anti-CD20	LLC, LF	Deplezione B cellulare Neutropenia ad esordio ritardato Ipogammaglobulinemia ↓ Risposta Ab specifica	infezioni batteriche gravi, riattivazione HBV ed HCV, infezioni da CMV, VZV, enterovirus, COVID-19 con manifestazioni gravi, PML

Nome	Tipologia	Indicazioni approvate	Effetti immunologici	Rischio Infettivo
Ocrelizumab	Ab monoclonale umanizzato IgG1 anti-CD20	SM	Deplezione B cellulare Neutropenia ad esordio ritardato Ipogammaglobulinemia ↓ Risposta Ab specifica	infezioni batteriche gravi, riattivazione HBV ed HCV, infezioni da CMV, VZV, enterovirus, COVID-19 con manifestazioni gravi, PML
Daratumumab	Ab monoclonale umano IgG1 anti-CD38	MM	↓ Plasmacellule Neutropenia Linfopenia Ipogammaglobulinemia	Infezioni da VZV
Brentuximab Enfortumab vedotin	Ab monoclonale chimerico IgG1 anti-CD30 coniugato con MMAE	LH, linfoma anaplastico a grandi cellule, linfoma cutaneo T cellulare	Anemia, trombocitopenia, neutropenia	CMV e pneumocystis
Blinatumomab	Ab monoclonale murino anti CD3/CD19	LLA CD19 positiva recidivante o refrattaria, LLA cromosoma Philadelphia negativa CD19 positiva		Infezioni opportunistiche, PML
Inotuzumab Inotuzumab ozogamicin	Ab monoclonale ricombinante umanizzato IgG4 kappa anti-CD22 legato covalentemente alla N-acetil-gamma-calicheamicina dimetilidrazide	LLA a cellule B recidivante o refrattaria CD22-positiva. LLA cromosoma Philadelphia positiva recidivante o refrattaria al trattamento con almeno 1 TKI.	Anemia, trombocitopenia, neutropenia, linfopenia	Infezioni gravi
Belimumab	Ab monoclonale umano IgG1 lambda anti-BAFF solubile (BlyS)	LES, nefrite lupica		Infezioni gravi e da germi opportunisti, PML



Nome	Tipologia	Indicazioni approvate	Effetti immunologici	Rischio Infettivo
Bortezomib	Inibitore proteasoma 26S	MM, linfoma mantellare	Anemia, trombocitopenia, neutropenia	VZV, riattivazione HBV, PML
Carfilzomib	Inibitore proteasoma 20S	MM	Trombocitopenia	Riattivazione HBV, PML
Eculizumab	Ab monoclonale ricombinante umanizzato IgG2/4k anti-frazione C5 del complemento	EPN, aHUS; MG refrattaria AChR positiva; Neuromielite ottica AQP4 positiva		Infezioni da Neisseria m.
Ravulizumab	Ab monoclonale IgG2/4k anti-frazione C5 del complemento	EPN; aHUS;		Infezione da Neisseria m.
Alemtuzumab	Ab monoclonale anti- CD52	SM	Linfopenia e Neutropenia	Infezioni batteriche gravi, CMV, EBV, HSV, VZV, HPV, TBC, infezioni fungine, candidiasi, toxoplasmosi, listeriosi, PML, BKV, pneumocystis, Riattivazione di HBV, HCV

**Abbreviazioni:** AchR: Recettore dell'acetilcolina LLA: leucemia linfatica acuta; AQP4: Anti-Acquaporina 4; aHUS: sindrome emolitico uremica atipica; BKV: virus BK; LLC: leucemia linfatica cronica; EGPA: Granulomatosi eosinofila con poliangerite; LF: linfoma follicolare; gMG: miastenia gravis generalizzata; GPA: Granulomatosi con poliangerite; HBV: Virus dell'epatite B; HCV: Virus dell'epatite C; CMV: Citomegalovirus; EBV: Epstein Barr Virus; HSV: Herpes simplex Virus; VZV: Virus varicella zoster; HPV: Papillomavirus; TBC: Tuberculosis; LH: Linfoma di Hodgkin; PTI: Porpora trombocitopenica immune; MM: Mieloma multiplo; MMAE: Mono Metil Auristatina E; MPA: Poliangerite microscopica; SM: Sclerosi multipla; LNH: Linfoma Non-Hodgkin; EPN Emoglobinuria Parossistica Notturna; PML: Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva; PV: Pemfigo Volgare; AR: Artrite Reumatoide; LES: Lupus Eritematoso Sistemico, TKI: Inibitori delle tirosinchinasi.



**Figura 1.** Effetti immunologici del rituximab (Creato con Biorender)

### *Ipogammaglobulinemia persistente post-RTX*

Il rituximab esplica la sua azione sulle cellule pre-B e quelle B mature che esprimono il CD20 sulla loro membrana, mentre il compartimento plasmacellulare così come le cellule pluripotenti ematopoietiche sono risparmiate dalla sua azione immunosoppressiva, consentendo generalmente l'immunoricostituzione nell'arco di 6-9 mesi dalla somministrazione. Come precedentemente riportato, il RTX può indurre ipogammaglobulinemia generalmente di lieve entità e transitoria. Tuttavia, un sottogruppo di pazienti può sviluppare un'ipogammaglobulinemia persistente (con durata >12 mesi) con coinvolgimento non solo dell'isotipo IgG ma anche delle IgA e delle IgM ed alterazione predominante del compartimento B di memoria. La persistenza dell'ipogammaglobulinemia può associarsi ad una maggior suscettibilità ad infezioni ricorrenti



e/o gravi, che possono talvolta rendere necessari una profilassi antibiotica e/o il trattamento sostitutivo con immunoglobuline. Oltre alla deplezione B cellulare ed all'ipogammaglobulinemia, rientrano tra gli effetti immunologici del RTX anche la neutropenia ad esordio ritardato e la riduzione della risposta anticorpale specifica (Figura 1), con conseguente aumentato rischio di infezioni virali nonché fungine, protozoarie e batteriche. Nei pazienti trattati con RTX possono presentarsi infezioni opportunistiche da CMV e *Pneumocystis jirovecii* così come riattivazioni di HBV. È importante ricordare che l'ipogammaglobulinemia post RTX non deve essere necessariamente interpretata come danno immunologico iatrogeno ma può talvolta sottendere una condizione di IEL. Un work-up immunologico pre-trattamento e un costante monitoraggio clinico-laboratoristico di questi pazienti è cruciale per una corretta diagnosi differenziale tra forme primitive e secondarie di immunodeficit, con significativo impatto sul management e sulla prognosi.

### *Altri trattamenti biologici*

#### Inibitori di tirosinchinasi (TKI)

Gli inibitori di tirosinchinasi hanno rivoluzionato il trattamento della leucemia mieloide cronica (LMC) Ph+ e della leucemia linfatica acuta Ph+, anche in età pediatrica. L'imatinib, TKI di prima generazione, inibendo il prodotto genico BCR-AB presente in bambini e adulti affetti da LMC e le correlate tirosinchinasi c-KIT e PDGFR, può indurre ipogammaglobulinemia e maggiore suscettibilità ad infezioni batteriche e fungine.

#### CAR-T cell therapy

Le cellule CAR-T (*Chimeric Antigen Receptor T-cell*) rappresentano un approccio immunoterapico innovativo per il trattamento delle patologie neoplastiche. In particolare, il tisagenlecleucel è utilizzato nel trattamento della leucemia linfoblastica acuta a cellule B in bambini e giovani adulti fino a 25 anni di età non responsiva a precedente trattamento o con recidiva dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Questo farmaco consiste in linfociti T del paziente ingegnerizzati attraverso l'espressione dell'antigene CAR specifico per il CD19 espresso sulle cellule neoplastiche. In virtù del suo meccanismo d'azione il farmaco può indurre una profonda aplasia B cellulare con conseguente ipogammaglobulinemia.

### Abatacept

L'abatacept è una proteina di fusione costituita dal dominio extracellulare dell'antigene 4 associato al linfocita T citotossico umano (CTLA-4) legato alla porzione Fc modificata della immunoglobulina G1 umana (IgG1), prodotto attraverso la tecnologia del DNA ricombinante. Agisce mediante l'inibizione del co-stimolo Linfocita T e cellula presentante l'antigene (APC) con conseguente downregolazione dell'attivazione T cellulare. Sebbene non sia stato associato allo sviluppo di ipogammaglobulinemia, può indurre una riduzione della risposta anticorpale specifica agli antigeni polisaccaridici.

### **Management delle immunodeficienze iatrogene**

In accordo con le ultime linee guida dell'*American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*, tutti i candidati al trattamento immunosoppressivo per manifestazioni di immunodisregolazione e prima di un eventuale trapianto d'organo o di cellule staminali ematopoietiche devono effettuare una caratterizzazione immunologica, inclusiva di dosaggio delle immunoglobuline, risposta anticorpale specifica e tipizzazione linfocitaria estesa B e T cellulare. Ciò consente anche di ottimizzare la diagnosi differenziale tra forme di immunodeficienza primitive e secondarie. In un paziente con storia infettivologica rilevante e mancata risposta ai trattamenti antimicrobici convenzionali, può essere iniziato il trattamento sostitutivo con immunoglobuline in caso di IgG <400 mg/dl o di scarsa risposta anticorpale specifica agli antigeni polisaccaridici o proteici. La terapia sostitutiva può essere eventualmente preceduta o accompagnata da una profilassi antimicrobica. Il trattamento sostitutivo viene iniziato al dosaggio di 400-600 mg/kg/mese e adeguato sulla base della risposta clinica e di laboratorio del paziente, con l'obiettivo di raggiungere un target di IgG >800 mg/dl. Durante il follow-up il paziente deve essere sottoposto a stretto monitoraggio immunologico (ogni 3-6 mesi). In caso di miglioramento clinico e di interruzione del trattamento immunosoppressivo può essere tentata la sospensione temporanea del trattamento sostitutivo con immunoglobuline, al fine di identificare quei pazienti che possono sospenderlo definitivamente, a differenza dei pazienti con IEL che necessitano del trattamento sostitutivo a vita.





## Bibliografia essenziale

- Faggioni R, Feingold KR, Grunfeld C. Leptin regulation of the immune response and the immunodeficiency of malnutrition 1. *FASEB J.* 2001;15(14):2565–71.
- Colunga Biancatelli RML, Berrill M, Marik PE. The antiviral properties of vitamin C. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2020;18(2):99–101.
- Tuano KS, Seth N, Chinen J. Secondary immunodeficiencies: An overview. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2021 Dec;127(6):617–26.
- Wu HX, Xiong XF, Zhu M, et al. Effects of vitamin D supplementation on the outcomes of patients with pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulm Med.* 2018 Jun 28;18(1):108.
- Steiger S, Rossaint J, Zarbock A, Anders HJ. Secondary Immunodeficiency Related to Kidney Disease (SIDKD)-Definition, Unmet Need, and Mechanisms. *J Am Soc Nephrol.* 2022 Feb;33(2):259–278.
- Hemelaar J, Elangovan R, Yun J, Dickson-Tetteh L, Kirtley S, Gouws-Williams E, Ghys PD; WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterisation. Global and regional epidemiology of HIV-1 recombinants in 1990-2015: a systematic review and global survey. *Lancet HIV.* 2020 Nov;7(11):e772–e781.
- World Health Organization. (2007). WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43699>.
- Davidson RN, Wall RA. Prevention and management of infections in patients without a spleen. *Clin Microbiol Infect.* 2001 Dec;7(12):657–60.
- Kaplan B, Bonagura VR. Secondary Hypogammaglobulinemia: An Increasingly Recognized Complication of Treatment with Immunomodulators and After Solid Organ Transplantation. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2019 Feb;39(1):31–47;
- Patel SY, Carbone J, Jolles S. The Expanding Field of Secondary Antibody Deficiency: Causes, Diagnosis, and Management. *Front Immunol.* 2019 Feb 8;10:33.
- Labrosse R, Haddad E. Immunodeficiency secondary to biologics. *J Allergy Clin Immunol.* 2023 Mar;151(3):686–690.
- Leandro MJ. Infections Related to Biologics: Agents Targeting B Cells. *Infect Dis Clin North Am.* 2020 Jun;34(2):161–178.
- Tragiannidis A, Groll AH. Secondary Dysgammaglobulinemia in Children with Hematological Malignancies Treated with Targeted Therapies. *Paediatr Drugs.* 2021 Sep;23(5):445–455.
- Pecoraro A, Crescenzi L, Galdiero MR, Marone G, Rivellesse F, Rossi FW, de Paulis A, Genovese A, Spadaro G. Immunosuppressive therapy with rituximab in common variable immunodeficiency. *Clin Mol Allergy.* 2019 May 6;17:9.
- Athni TS, Barmettler S. Hypogammaglobulinemia, late-onset neutropenia, and infections following rituximab. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2023 Jun;130(6):699–712.
- Ottaviano G, Marinoni M, Graziani S, et al. Rituximab Unveils Hypogammaglobulinemia and Immunodeficiency in Children with Autoimmune Cytopenia. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jan;8(1):273–282.
- Ottaviano G, Sgrulletti M, Moschese V. Secondary rituximab-associated versus primary immunodeficiencies: The enigmatic border. *Eur J Immunol.* 2022 Oct;52(10):1572–158.

# 11. TERAPIA

---

## 11.1 LA TERAPIA SOSTITUTIVA (IMMUNOGLOBULINE ENDOVENA, IMMUNOGLOBULINE SOTTOCUTE)

**Annarosa Soresina**

Le Immunoglobuline (Ig) costituiscono un farmaco di grande importanza, che ha rappresentato e rappresenta a tutt'oggi uno strumento terapeutico unico e salvavita per molte patologie.

Sono state utilizzate a partire già dagli anni '50 e dagli anni '80 si è assistito al progressivo perfezionamento dei preparati, con immissione sul mercato di prodotti sempre più efficaci, tollerati, sicuri e più facilmente somministrabili.

Le Ig costituiscono attualmente il principale prodotto ottenuto dal plasma.

Proprio perché le Ig sono ottenute dal plasma di donatori sani, è fondamentale l'utilizzo appropriato e ottimale delle Ig stesse, basando la scelta del prodotto sulla base delle caratteristiche dei pazienti (pz) e sulle linee guida *evidence-based*, dove disponibili. La pandemia da COVID 19, forse più che mai, con la riduzione dei donatori ha portato in tutto il mondo ad affrontare la carenza di Ig disponibili. Tuttavia, in Italia con lo sforzo di tutti, Medici, Servizi trasfusionali, donatori di sangue, Farmacie e Ditte produttrici di Ig è stato garantito il fabbisogno necessario per tutti i pazienti. Insieme alle Istituzioni, è stato anche elaborato un documento che ha cercato di dare indicazioni riguardo ad un utilizzo il più possibile contenuto e razionale delle Ig. Non solo, ma per quanto riguarda le Immunodeficienze primitive (IEI), da anni grazie agli sforzi di medici e delle associazioni pazienti le Ig sono nella lista WHO dei farmaci essenziali per i soggetti con IEI.

### Caratteristiche dei prodotti

I preparati di Ig derivano da un pool di plasma ottenuto da migliaia di donatori sani. Sui pool di plasma destinato al frazionamento vengono eseguite le ricerche dei markers virali per l'HIV, l'HCV e l'epatite B, già eseguite sulle singole donazioni. Le fasi stesse del processo produttivo delle Ig sono in grado di per sé di rimuovere ed inattivare i virus.



Tutti i prodotti attualmente disponibili, prima di essere commercializzati devono rispondere ad alcuni requisiti fondamentali di qualità che riguardano l'efficacia, la sicurezza e la tollerabilità.

Per quanto riguarda l'efficacia, le attuali metodiche di preparazione non modificano la molecola immunoglobulinica garantendone la piena efficacia biologica. L'ampiezza del pool di donatori garantisce la presenza di anticorpi a un titolo 10-20 superiore a quello del plasma normale contro un largo spettro di patogeni ed antigeni "estranei". La loro presenza è critica nella terapia sostitutiva dei soggetti con IEL di tipo anticorpale. Invece, la presenza di anticorpi naturali a numerosi antigeni "self" è ritenuta essenziale per gli effetti immunoregolatori dei preparati di Ig per via endovenosa nelle patologie immunomediate. Per quanto riguarda la sicurezza, nel tempo sono stati introdotti diversi metodi quali la pastorizzazione, trattamenti solventi/detergenti, con acido caprilico e la nanofiltrazione, efficaci nella rimozione di virus capsulati e non capsulati ed anche di proteine prioniche.

Riguardo la tollerabilità, i prodotti oggi disponibili sono molto ben tollerati e ne discuteremo brevemente nel paragrafo successivo.

## **Preparati e vie di somministrazione**

Attualmente le Ig umane sono disponibili in preparazioni somministrabili per via endovenosa (ev) e per via sottocutanea (sc).

Ig per via ev (IVIG). Secondo le indicazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, come già sottolineato, le preparazioni commerciali di IVIG derivano da un pool compreso tra 1000 e 15.000 donatori e contengono IgG monomeriche in concentrazione superiore al 95% con presenza di tutte le sottoclassi IgG, mentre contengono trascurabili quantità di IgM e di IgA e, infine, hanno una minima attività anticomplementare. L'emivita delle IgG infuse è in media di 20 giorni circa ma varia considerevolmente da soggetto a soggetto e anche nello stesso soggetto, a seconda della patologia di base e della situazione clinica. Sono attualmente disponibili prodotti concentrati al 5% e al 10% che si sono dimostrati ben tollerati ed ugualmente efficaci.

Ig per via sc (SCIG). Il trattamento con SCIG costituisce attualmente un'alternativa al trattamento sostitutivo con IVIG negli IEL e non solo. Nelle preparazioni in commercio di SCIG la concentrazione di IgG è mediamente del 16%, conte-

nendo IgG monomeriche in concentrazione di almeno il 95% con presenza di tutte le sottoclassi IgG e trascurabili quantità di IgA. Sono attualmente disponibili prodotti più concentrati (concentrazione di IgG del 20%) che si sono dimostrati ben tollerati ed ugualmente efficaci con il vantaggio di ridurre i tempi di somministrazione delle stesse Ig sc. Sono disponibili anche prodotti di Ig sc al 10% con somministrazione mensile "facilitata" dalla presomministrazione di ialuronidasi umana ricombinante, permettendo l'utilizzo di volumi maggiori in un singolo sito di infusione ogni 3-4 settimane a domicilio, con efficacia e tollerabilità sovrapponibile a quella degli altri trattamenti con Ig.

Mediamente gli eventi avversi sistemici sono del 1% per quanto riguarda le SCIG versus il 4% per le IVIG; le reazioni locali (ad esempio eritema e dolore localizzato) ovviamente sono frequenti nella somministrazione sottocutanea, ma transitori. In generale, l'incidenza di eventi avversi di entità lieve o moderata varia tra il 5% ed il 15%. I più comuni eventi avversi sistemici, correlati all'infusione e reversibili, sono: cefalea, mialgie, febbre modesta e nausea. Sono stati segnalati più raramente problemi renali, per lo più associati all'uso di prodotti contenenti saccarosio, maltosio e glucosio, e casi di meningite asettica. Pertanto, se un paziente tollera bene un preparato è opportuno che continui il trattamento con questo preparato. La causa più comune di reazione durante l'infusione di Ig risulta essere la maggior velocità di infusione.

È chiaramente dimostrato che i livelli minimi post-infusionali delle IgG sono stabili in entrambi i regimi, ev e sc. Così come è dimostrato che, per quanto riguarda la prevenzione delle infezioni, l'incidenza annua di infezioni, sia totali che gravi, è sovrapponibile.

## **Indicazioni terapeutiche**

Le Ig hanno un meccanismo d'azione complesso con molteplici effetti e possono quindi essere impiegate in diversi ambiti.

L'impiego principale è la terapia sostitutiva, di cui tratteremo brevemente in questo capitolo.

Per completezza, è importante ricordare che i preparati di Ig sono utilizzati come terapia immunomodulante e antinfiammatoria in molte condizioni, grazie alla loro capacità di interagire con i fattori del complemento, di prevenire il danno tissutale complemento-mediato, di modulare l'attività dei linfociti T e di modificare il profilo delle citochine.

Come noto, l'impiego principale delle Ig è la terapia sostitutiva. Il trattamento so-



stitutivo con Ig, per via ev o sc, costituisce la terapia elettiva e “salvavita” degli IEI con difetto anticorpale. Da quando sono disponibili le Ig, la prognosi di queste patologie è drasticamente cambiata: è aumentata la sopravvivenza ed è ridotta la morbilità con una significativa riduzione delle infezioni sistemiche gravi, come sepsi ed encefaliti. Il trattamento sostitutivo con Ig rappresenta inoltre terapia di supporto per le forme di immunodeficienza combinate (umorale e cellulare), nelle quali il trapianto di midollo osseo costituisce la terapia elettiva.

Oltre all’uso negli IEI la terapia sostitutiva con Ig è indicata in alcune condizioni con difetto anticorpale secondario, come alcuni tumori, il trapianto di midollo osseo ed il trapianto d’organo, nei bambini con infezione da HIV e nei neonati prematuri. (Tabella 1). Deficit anticorpali possono essere secondari a neoplasie, infezioni croniche, ipoprotidemie, malattie infiammatorie sistemiche, traumi o avere una causa iatrogena (ad es. secondari a splenectomia o a terapia immunosoppressiva, in particolare all’utilizzo di farmaci biologici anti CD20).

**Tabella 1.** *Indicazioni all’impiego delle Immunoglobuline come terapia sostitutiva (modificato da Linee guida evidenced-based sull’impiego delle Immunoglobuline normali. Documento Aziendale ASST-Spedali Civili di Brescia, Febbraio 2018).*

## **Indicazioni secondo scheda tecnica**

### **Immunodeficienze primitive**

- Agammaglobulinemia X e autosomica recessiva
- Immunodeficienza comune variabile
- Immunodeficienza con Iper IgM
- Sindrome linfoproliferativa X recessiva
- Sindrome di Wiskott-Aldrich
- Difetto anticorpale nella atassia-teleangectasia, nella Sindrome da Del 22
- Immunodeficienze combinate

### **Immunodeficienze secondarie**

- Bambini con infezione da HIV
- mieloma o leucemia linfatica cronica con ipogammaglobulinemia secondaria grave e infezioni ricorrenti.

**Indicazioni off-label (uso consolidato)****Immunodeficienze secondarie**

- Trapianto di midollo osseo
- Trapianto di rene
- Timoma con immunodeficienza (sindrome di Good)
- altre neoplasie ematologiche con ipogammaglobulinemia secondaria grave e infezioni ricorrenti.
- ipogammaglobulinemia secondaria grave secondaria ad altre cause (es sindrome nefrosica)

**Schemi terapeutici e modalità di somministrazione**

Con preparati per via ev, il dosaggio raccomandato è di 400 – 600 mg/kg ogni 21-28 giorni così da garantire livelli di IgG sieriche pre-infusione superiori a 500 mg/dl, livello considerato protettivo per prevenire le infezioni. Per garantire gli stessi livelli protettivi di IgG, con preparati per via SC alla concentrazione del 16% o 20% (preparati "convenzionali"), il dosaggio medio è di 100-150 mg/kg ogni 7-10 giorni, mentre con preparati di Ig sc al 10% con somministrazione mensile "facilitata" dalla pre-somministrazione di ialuronidasi umana ricombinante il dosaggio è di 400 mg/kg/21-28 giorni (Tabella 2).

**Tabella 2.** *Terapia sostitutiva con immunoglobuline: preparati disponibili, modalità di somministrazione e caratteristiche (IVIG: immunoglobuline per via endovenosa; SCIG: immunoglobuline sottocute; SCIG "facilitata": somministrazione di Ig sottocute "facilitata" dalla pre-somministrazione di ialuronidasi umana ricombinante).*

	<b>IVIG</b>	<b>SCIG "convenzionale"</b>	<b>SCIG "facilitata"</b>
Farmacocinetica	Livelli di IgG fluttuanti	Livelli di IgG stabili	Livelli di IgG fluttuanti
Picco di IgG	Più elevato che SCIG	Più basso che IVIG	Più basso che IVIG
Dosaggio / intervallo	Infusioni ogni 3-4 settimane	Infusioni ogni 7-10 gg	Infusioni ogni 3-4 settimane
Modalità	Necessario accesso venoso	No accesso venoso	No accesso venoso



	<b>IVIG</b>	<b>SCIG “convenzionale”</b>	<b>SCIG “facilitata”</b>
Luogo di infusione	Ospedale	Ospedale Casa	Ospedale Casa
Eventi avversi	Rari	Ancora più rari	Ancora più rari
Reazioni locali	Rari	Più frequente nel sito di infusione, ma transitori	Più frequente nel sito di infusione, ma transitori
Gradimento	Preferito per chi non ha problemi di accessi venosi, per scelta medica	Miglioramento Qualità di Vita (autonomia, tempo, flessibilità)	Miglioramento Qualità di Vita (autonomia, tempo, flessibilità)
Costi	Maggiori costi ospedalieri	Riduzione costi personali e SSN	Riduzione costi personali e SSN

Per quanto riguarda la modalità di somministrazione, per via ev o per via sc, tale scelta è dettata dalle diverse caratteristiche/necessità dei pz. In Italia, le IVIG possono essere somministrate solo in ambiente ospedaliero e le SCIG possono essere somministrate sia in ospedale che a domicilio. La scelta della terapia sc a domicilio è motivata da parte di pazienti/famiglie, come scelta personale, maggiore autonomia, riduzione di giorni di assenza a scuola/lavoro per paziente e familiari, riduzione dei costi di viaggio. Ma altrettanto importante è la scelta dei pazienti più idonei da parte del personale sanitario, per tolleranza del prodotto di SCIG, condizioni cliniche buone, buona compliance e affidabilità e capacità di gestione della terapia a domicilio. Per la terapia domiciliare è necessario un adeguato training con “addestramento” dei pazienti o dei familiari da eseguire presso il Centro specialistico da parte di personale sanitario qualificato per insegnare la modalità e tecnica di esecuzione della terapia, quali sono i fattori che controindicano l’esecuzione della terapia, il riconoscimento di eventi avversi e le misure da intraprendere in tal caso. Deve essere fornito anche un diario personale per registrare data di somministrazione e lotto del prodotto. Trattandosi di terapia domiciliare, durante tale periodo di training viene informato e coinvolto il pediatra/medico di famiglia, cercando di creare una rete tra l’ospedale, il servizio territoriale ed il domicilio.

Le analisi di farmacoeconomia disponibili hanno dimostrato che la somministrazione domiciliare sottocutanea è economicamente vantaggiosa per il Servizio Sanitario Nazionale (SSN) consentendo di risparmiare sui costi dell’ospedalizzazione.

In Italia i prodotti di Ig sono farmaci erogati direttamente dal SSN, attraverso le farmacie ospedaliere o delle singole Agenzie di Tutela della Salute (ATS), coprendo l'intero costo e garantendo a tutti i pazienti la terapia adeguata.

### **Bibliografia essenziale**

- AIEOP Comitato Strategico e di Studio Immunodeficienze. Agammaglobulinemia X-recessiva: protocollo diagnostico e terapeutico ([https://www.aieop.org/stdoc/prot/racc\\_xla\\_2004.doc](https://www.aieop.org/stdoc/prot/racc_xla_2004.doc)).
- Documento di indirizzo AIFA e CNS sull'uso delle immunoglobuline umane in condizioni di carenza, documento approvato nella riunione della CTS dell'8 febbraio 2022.
- Espanol T, Prevot J, Drabwell A, et al. Improving current immunoglobulin therapy for patients with primary immunodeficiency: quality of life and views on treatment. *Patient Preference and Adherence* 2014; 8:621-629.
- Grigoriadou S, Clubbe R, Garcez T, et al. Clinical Guideline British Society for Immunology and United Kingdom Primary Immunodeficiency Network (UKPIN) consensus guideline for the management of immunoglobulin replacement therapy. *Clinical and Experimental Immunology*, 2022;210:1–13.
- Leiding JW, Forbes LR. Mechanism-Based Precision Therapy for the Treatment of Primary Immunodeficiency and Primary Immunodysregulatory Diseases. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019 Mar;7(3):761-773.
- Perez EE, Orange JS, Bonilla F, et al. Update on the use of immunoglobulin in human disease: A review of evidence. *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 139(3S): S1-S46.
- Soresina A, Bettoni, D. Linee guida evidenced-based sull'impiego delle Immunoglobuline normali. Documento Aziendale ASST-Spedali Civili di Brescia, Febbraio 2018.
- Sun D, Romberg N. High cost of immunoglobulin replacement therapy: Causes and implications. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2022 Nov;129(5):645.
- WHO Model List of Essential Medicines, Executive summary. The Selection and Use of Essential Medicines 2021 Report of the 23rd WHO Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines".
- Wasserman RL, Immunoglobulin replacement therapy stewardship in modern times. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2022 Nov;129 (5):546-547.





## 11.2 IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

*Franco Locatelli, Mattia Algeri*

### Introduzione

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) ha completamente rivoluzionato la storia naturale di numerose immunodeficienze primitive (PID; IEI), per la maggior parte delle quali rimane, ad oggi, l'unica opzione curativa. I primi successi in questo campo risalgono al 1968, anno in cui fu descritta la guarigione di due pazienti affetti, rispettivamente, da immunodeficienza combinata grave (SCID) e da sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS), mediante trapianto di midollo osseo dai rispettivi germani HLA-identici. Da allora, continui avanzamenti scientifici hanno consentito ad una proporzione sempre maggiore di pazienti affetti da IEI di trovare, nel trapianto, una cura definitiva per la propria patologia. In questo senso, il miglioramento delle tecniche trapiantologiche, con l'affinamento delle metodiche di tipizzazione degli antigeni di istocompatibilità, l'introduzione di regimi di condizionamento gravati da minor tossicità, l'ottimizzazione della profilassi della malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD) e delle strategie di manipolazione cellulare, abbinato al continuo perfezionamento delle terapie di supporto, ha fornito un contributo fondamentale. L'insieme di questi progressi ha, infatti, consentito di elevare enormemente la sicurezza della procedura trapiantologica, in particolar modo in quei pazienti che, non disponendo di un donatore compatibile all'interno del nucleo familiare, hanno beneficiato del trapianto da donatori alternativi, quali soggetti volontari non consanguinei HLA-compatibili reperiti sui registri internazionali, unità di sangue cordonale e donatori familiari parzialmente compatibili. Allo stesso tempo, la maggior consapevolezza della problematica tra i vari professionisti che operano in ambito pediatrico, abbinate al miglioramento delle tecniche diagnostiche, ha consentito una sempre più precoce identificazione dei soggetti affetti da immunodeficienza, permettendo di indirizzare questi pazienti al trapianto più rapidamente e in condizioni generali meno compromesse. Infine, l'implementazione delle metodiche di analisi molecolare ha permesso di definire l'alterazione genetica responsabile del quadro clinico in una percentuale crescente di casi, allargando ulteriormente l'indicazione al TCSE e consentendo, inoltre, di adottare strategie trapiantologiche ottimizzate in rapporto alla specifica diagnosi.

## Razionale e indicazioni al trapianto di cellule staminali emopoietiche

L'obiettivo del TCSE negli IEI è quello di sostituire il compartimento alterato del paziente con un patrimonio di cellule staminali ottenuto da un donatore sano capace di ricostituire un sistema immunitario funzionante nel ricevente. Il raggiungimento di tale obiettivo, che si identifica con la guarigione, si concretizza in una serie di momenti chiave:

1. Ablazione totale o parziale del sistema linfo-emopoietico del ricevente mediante una combinazione variabile nei pazienti con IEI di farmaci chemioterapici e di sieroterapia (regime di condizionamento) capace, da un lato, di "creare spazio" per l'attecchimento delle cellule staminali del donatore e, dall'altro, di eliminare le cellule immunitarie responsabili del rigetto, qualora dotate di funzionalità residua.
2. Superamento della seconda barriera immunologica, rappresentata dalle cellule immunocompetenti del donatore presenti nella sospensione di cellule staminali infuse e potenzialmente capaci di riconoscere come estranei antigeni tissutali del ricevente, innescando la malattia del trapianto contro l'ospite (*graft-versus-host disease*, GvHD).
3. Ricostituzione immunologica post-trapianto, a cui contribuiscono sia le cellule immunitarie mature ancora presenti all'interno del trapianto, sia quelle che si sviluppano ex-novo nel ricevente, a partire dalle staminali, ricapitolando il fisiologico percorso ontogenico.

Attualmente i differenti tipi di IEI per i quali è stato identificato il difetto molecolare responsabile sono oltre 450 e il numero continua a crescere di anno in anno. Con l'incremento del numero e della complessità di questi disordini, è contestualmente aumentata anche la difficoltà nell'individuare quali patologie possono giovare elettivamente di cura definitiva mediante trapianto e quali, invece, possono beneficiare di un trattamento conservativo.

Le principali indicazioni al trapianto nelle immunodeficienze congenite sono elencate in Tabella 3. Se per alcune forme, quali le SCID, l'indicazione al TCSE non è mai stata in discussione, in quanto per anni unica possibilità salvavita, per altre la decisione di procedere al trapianto è stata, o è tuttora, oggetto di controversie. In questo senso, un esempio paradigmatico è rappresentato dalla sindrome da iper-IgE autosomica dominante, causata da una combinazione di alterazioni nelle linee ematopoietiche e non-ematopoietiche secondaria a mutazioni del gene STAT3, in cui il TCSE può curare il difetto a carico di linfociti e cellule mieloidi, ma non ha effetto sulle anomalie del tessuto connettivo e vascolare che caratteriz-



zano la patologia. Un altro esempio analogo è rappresentato dal deficit di NEMO (*Nuclear Factor Kb Essential Modulator*), in cui l'allo-TCSE è indubbiamente in grado di guarire la profonda immunodeficienza che caratterizza questi pazienti, ma pare avere efficacia minima o assente sul quadro di colite, che è dovuto verosimilmente a un difetto intrinseco delle cellule epiteliali intestinali.

**Tabella 3.** *Principali indicazioni al trapianto nelle immunodeficienze congenite*

<b>Allo-TCSE curativo</b>	<b>Allo-TCSE con beneficio terapeutico incompleto</b>
Immunodeficienze combinate gravi, SCID	Displasia immuno-ossea di Schimke
Immunodeficienza combinata, CID (in base a fenotipo clinico e immunologico)	Deficit di NEMO
Malattia Granulomatosa Cronica	Deficit di ADA2
Sindrome di Wiskott-Aldrich	Ipoplasia Cartilagine-Capelli
Istiocitosi emofagocitica familiare (FHL 1-5)	Deficit di PGM3
Deficit di RAB27a (Sindrome di Griscelli)	Sindrome Chediak-Higashi
Sindrome linfoproliferativa legata all'X (XLP1, XLP2)	STAT3- GOF
Neutropenia congenita grave refrattaria a terapia con G-CSF	
Deficit di CD40 Ligando	
Deficit di CD40	
IPEX – Deficit di CD25	
Deficit di MHC Classe II	
Deficit di adesione leucocitaria di tipo I, LAD I	
Aplainsufficienza di CTLA4*	
Deficit di LRBA*	
Deficit di GATA2	
Deficit di DOCK8*	
Deficit di DOCK2*	
STAT1-GOF*	
Deficit di IL-10*	
Deficit di IL-10 receptor*	
Sindromi da difetto di riparazione di DNA a doppio filamento, non-SCID*	
Deficit di CDC42*	

\*Esperienza limitata

## Selezione del donatore e strategie di manipolazione cellulare

La scelta del donatore è di cruciale importanza per l'esito ottimale della procedura trapiantologica e va attentamente ponderata in base alla patologia di base. Nelle SCID, ad esempio, in considerazione della necessità di sottoporre urgentemente il paziente a TCSE per evitare il rischio di complicanze infettive potenzialmente fatali, è ormai consolidato il ricorso a donatori alternativi laddove non vi sia un germano HLA-compatibile. Per contro, in altre forme dall'andamento clinico meno tumultuoso, il trattamento può essere dilazionato in attesa di reperire un donatore idoneo, anche se va menzionato che i notevoli progressi nelle strategie di manipolazione cellulare hanno innalzato la sicurezza del trapianto aploidentico da genitore parzialmente compatibile a tal punto da renderlo una soluzione terapeutica considerabile per un numero sempre più vasto di IEI. Attualmente, ci sono 4 differenti tipi di donatore da considerare quale fonte di cellule staminali per i pazienti affetti da immunodeficienza. Ciascuno di essi presenta peculiari vantaggi e svantaggi, come illustrato in Tabella 4.

**Tabella 4.** Vantaggi e svantaggi di differenti tipi di donatore di cellule staminali per i pazienti affetti da immunodeficienza

Tipo di donatore	Vantaggi	Svantaggi
Germano HLA-identico ( <i>Matched related donor</i> , MRD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Facilmente accessibile</li> <li>- Basso rischio di GvHD e GF</li> <li>- Outcome eccellente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disponibile in meno del 25% dei casi</li> </ul>
Donatore volontario HLA-compatibile ( <i>Matched unrelated donor</i> , MUD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Outcome sovrapponibile a MRD se compatibilità 10/10 e se eseguito in giovane età</li> <li>- Procedura largamente consolidata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Disponibilità di un donatore 10/10 influenzata da rappresentazione dello specifico gruppo etnico nei registri internazionali</li> <li>- Disponibilità non immediata</li> <li>- Aumento del rischio di GvHD in presenza di mismatch HLA</li> </ul>
Cordone ombelicale ( <i>Cord blood</i> , CB)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rapidamente disponibile</li> <li>- Consente mismatch HLA maggiori rispetto a donatore MUD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lento recupero ematologico e immunitario</li> <li>- Outcome fortemente influenzato dalla dose cellulare (soluzione poco praticabile per pesi medio-grandi)</li> </ul>



Tipo di donatore	Vantaggi	Svantaggi
Donatore familiare aploidentico	<ul style="list-style-type: none"><li>- Facilmente accessibile</li><li>- Basso rischio di GvHD (se eseguito mediante T-deplezione ex-vivo)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Recupero immunitario più lento</li><li>- Maggior rischio di GF in condizioni di immuno-disregolazione</li><li>- Necessità di esecuzione in centri con esperienza specifica</li><li>- Esperienza limitata con impiego di ciclofosfamide post-trapianto (e con aumentato rischio di GvHD cronica)</li></ul>

### 1. Trapianto da germano HLA-identico (sibling)

Il trapianto da donatore familiare HLA-identico è universalmente considerato il gold standard, essendo caratterizzato da un rapido attecchimento, da un rischio relativamente basso di GvHD e da una rapida ricostituzione immunologica completa del ricevente. La principale limitazione di questo approccio è rappresentata dalla frequente indisponibilità di un donatore compatibile. I geni del complesso HLA, infatti, sono strettamente associati tra loro e si trasmettono in modo co-dominante mediante un blocco unico di informazione genetica, chiamato "aplotipo". Per tale motivo, ogni figlio eredita un aplotipo dal padre ed uno dalla madre e, in virtù di tale meccanismo, la probabilità di compatibilità tra fratelli è del 25%.

### 2. Il trapianto da donatore non consanguineo HLA-identico (MUD)

Considerando la modalità co-dominante della ereditarietà del sistema HLA e alla luce della contrazione demografica osservata nelle ultime decadi nei Paesi occidentali, è evidente che solo una minoranza dei pazienti che potrebbero beneficiare di un trapianto possiede un donatore HLA-identico all'interno della fratria. A partire dai primi anni '70, l'istituzione di Registri internazionali di Midollo Osseo, in cui sono inclusi oltre 42.000.000 di potenziali donatori, cui vanno sommate oltre 800.000 unità di sangue cordonale, ha reso possibile l'accesso alla procedura trapiantologica per un numero sempre crescente di soggetti. La probabilità di reperire un donatore non consanguineo HLA-identico è stimabile oggi nell'ordine del 60-70%, dipendendo, tuttavia, in larga parte dalle caratteristiche immunogenetiche e dall'etnia del ricevente. Pazienti di origine caucasica hanno, infatti, una probabilità di identificare un donatore compatibile maggiore rispetto a pazienti di origine africana o ispanica, in quanto i gruppi etnici da cui originano questi pazienti sono assai meno rappresentati nei registri rispetto al gruppo caucasico.

### 3. Il trapianto da cordone ombelicale

Il trapianto di sangue cordonale ha l'indubbio vantaggio di rappresentare una fonte di progenitori emopoietici immediatamente disponibile e studi effettuati nella popolazione pediatrica hanno dimostrato una sopravvivenza globale ed una sopravvivenza libera da malattia sovrapponibili al trapianto da un donatore non correlato. I principali svantaggi del trapianto di sangue cordonale sono rappresentati da una cinetica di attecchimento granulocitario e piastrinico più lenta, da una ritardata ricostituzione immunologica, legata principalmente alla presenza di cellule immunitarie sostanzialmente immature, e dal limitato volume delle unità stoccate, che determina un ridotto numero di cellule staminali infuse e, di conseguenza, può precludere questo tipo di soluzione ai pazienti di peso elevato. La dose cellulare infusa (normalmente espressa in termine di cellule nucleate totali per Kg del ricevente, TNC/Kg), insieme al matching HLA per i loci A, B, C e DR, rappresenta, infatti, il principale determinante per il successo di questo tipo di trapianto. Proprio per le limitazioni sopramenzionate, abbinate alla crescente diffusione e ottimizzazione del TCSE da donatore aploidentico, nell'ultimo decennio l'impiego del trapianto di unità cordonali è andato progressivamente riducendosi. Nello stesso periodo di tempo, tuttavia, si è assistito al contemporaneo sviluppo di molteplici strategie per migliorare attecchimento e ripresa immunologica, che potrebbero, nel futuro, esitare in un rinnovato interesse verso questa tipologia di trapianto.

### 4. Il trapianto da donatore aploidentico

Il trapianto da donatore aploidentico (o donatore familiare HLA-parzialmente compatibile), offre indubbi vantaggi, tra i quali: l'immediata disponibilità, almeno virtualmente, per tutti i pazienti (di cruciale importanza nelle SCID, quando è necessario procedere rapidamente con il trapianto), la possibilità di scegliere il miglior donatore tra tutti i familiari disponibili secondo determinate connotazioni immunogenetiche e la possibilità di far ricorso al donatore in caso di necessità di terapie cellulari. Tuttavia, questo tipo di trapianto presenta diverse problematiche principalmente concernenti il superamento della barriera HLA nella coppia donatore/ricevente, i quali, per i meccanismi di ereditarietà mendeliana, condividono un singolo aplotipo. La messa a punto di tecniche in grado di ottenere una deplezione estensiva dei T linfociti del donatore, responsabili dello sviluppo della GvHD, dall'inoculo trapiantato, o di abrogarne l'alloreattività dopo l'infusione, ha consentito di superare in larga parte questi ostacoli. Negli ultimi anni, il miglioramento delle strategie di manipolazione cellulare, in grado di ri-



muovere specificatamente i linfociti T  $\alpha\beta+$ , direttamente implicati nello sviluppo di GvHD, trattenendo, invece, le cellule ancillari dell'immunità innata dotate di attività antinfettiva (cellule *Natural Killer*, Linfociti T gamma/delta), ha determinato un sensibile miglioramento dell'*outcome* trapiantologico. Grazie a questa metodica, è stato possibile raggiungere tassi di sopravvivenza libera da malattia superiori al 90% in un ampio ed eterogeneo gruppo di IEI.

Limitatamente a determinate condizioni caratterizzate da immuno-disregolazione più che da franca immunodeficienza (quali ad esempio le istiocitosi emofagocitiche familiari), il trapianto aploidentico T-depleto può presentare un maggior rischio di rigetto rispetto a strategie che non prevedono manipolazione delle cellule che vengono a essere infuse.

Un approccio alternativo di TCSE aploidentico, largamente impiegato in pazienti adulti con emopatie maligne, prevede l'impiego di ciclofosfamide post-trapianto per eliminare selettivamente i linfociti T alloreattivi. Questa strategia è meno utilizzata in un contesto di patologie non maligne, quali le PID, per il più elevato rischio di GvHD cronica, che ha inevitabili ripercussioni sulla qualità di vita dei pazienti. È attualmente in corso un'analisi retrospettiva condotta dal gruppo cooperativo sui disordini ereditari (*Inborn Error Working Party, IEWP*) del gruppo cooperativo europeo sui trapianti emopoietici (EBMT), finalizzata a comparare l'*outcome* delle due principali piattaforme di TCSE aploidentico, la T-deplezione e l'impiego di ciclofosfamide post-trapianto.

La più rilevante limitazione del TCSE aploidentico, indipendentemente dalla piattaforma adottata, è rappresentata dal ritardato recupero dell'immunità T-cellulare, in particolare nel suo ramo adattivo, che determina un più elevato rischio di complicanze di tipo infettivo. Per tale motivo, al fine di ridurre il rischio di eventi infettivi e la mortalità legata al trapianto, sono state sviluppate strategie di trasferimento adottivo di cellule immunologicamente competenti manipolate *ex-vivo*, quali linfociti T della memoria, cloni T-cellulari specifici per i principali agenti patogeni responsabili di complicanze post-trapianto, o linfociti T policlonali ingegnerizzati per esprimere geni suicidi, attivabili da farmaci o sostanze inerti nel caso, dopo l'infusione, si sviluppi GvHD non controllabile con le terapie convenzionali. Pur determinando risultati clinici di indubbia rilevanza nel contesto di studi sperimentali, nessuno di questi approcci trova attualmente impiego consolidato quale strategia per accelerare il recupero immunologico post-trapianto.

## Il regime di condizionamento

Dopo la diagnosi di IEI, il riconoscimento dell'indicazione al TSCE e l'identificazione di un donatore, la scelta del regime di condizionamento rappresenta un punto di cruciale importanza per il successo della procedura trapiantologica. Una caratteristica che contraddistingue gli IEI è l'estrema variabilità fenotipica delle patologie che appartengono a questa categoria, nella quale coesistono forme con un difetto immunitario gravissimo e pressoché completo e forme connotate principalmente da immunodisregolazione e autoimmunità. Proprio per questo motivo, è ormai sempre più chiaro come un singolo schema di preparazione al trapianto non possa essere invariabilmente applicato ai diversi tipi di IEI, ma sia cruciale adottare un approccio orientato in base allo specifico difetto fenotipico o genotipico. Tuttavia, quale sia la strategia ideale nei diversi sottotipi di IEI è ancora oggetto di significative controversie.

Il gruppo cooperativo sui disordini ereditari dell'EBMT, in collaborazione con l'E-SID, elabora periodicamente delle linee guida sui regimi di condizionamento da impiegare nelle diverse condizioni, aggiornandole in base alle più recenti evidenze emerse in letteratura.

Nei difetti severi e globali dell'immunità, come le SCID, la profonda disfunzione immunologica determina un basso rischio di rigetto del trapianto. Non sorprende, a tal proposito, che alcuni sottotipi di SCID, come le forme NK-negative, possano ottenere un elevato livello di attecchimento e persistenza del compartimento T-cellulare anche in assenza di chemioterapia di preparazione al trapianto. In questi casi, al vantaggio dell'assenza di tossicità da chemioterapia si contrappone lo svantaggio della mancanza di attecchimento multilineare, in particolar modo delle cellule B, tale da richiedere supplementazione permanente con immunoglobuline.

Nei pazienti affetti da SCID che presentano cellule NK funzionanti (T-NK+) o una residua quota di cellule T disfunzionali (*leaky*-SCID), queste possono interferire con l'attecchimento dei precursori T-linfocitari e con il processo di timopoiesi, rendendo, pertanto, necessario l'utilizzo di un regime di condizionamento per ottenere una duratura ricostituzione dell'immunità T-cellulare.

In altre forme di SCID, secondarie ad un difetto molecolare nei meccanismi di riparazione del DNA, è, invece, sconsigliato l'utilizzo di agenti alchilanti, potendo quest'ultimo comportare importanti comorbidità a lungo termine.

Nei pazienti con IEI non-SCID l'immunità T-cellulare può essere intatta o alterata in forma solo parziale e, pertanto, capace di mediare il rigetto di trapianti allogeneici. Per tale motivo, in questi casi è necessaria una chemioterapia di preparazio-





ne per consentire l'attecchimento multilineare e il raggiungimento di un livello di chimerismo delle cellule del donatore tale da prevenire la recrudescenza della patologia.

Il classico regime di condizionamento mieloablattivo, basato sull'impiego di ciclofosfamide, busulfano e siero antilinfocitario (ATG), è stato largamente utilizzato in varie forme di immunodeficienza. Questo schema, tuttavia, è gravato da un significativo rischio di tossicità tissutale. Per tale motivo, negli ultimi 10-15 anni, è stato sempre più diffuso il ricorso ai cosiddetti regimi a intensità ridotta, basati sulla variabile combinazione di farmaci a minor tossicità extra-midollare, come il treosulfano, o caratterizzati da azione immunosoppressiva, come la fludarabina. Studi recenti suggeriscono che lo studio del profilo di farmacocinetica di diversi chemioterapici e del siero antilinfocitario possa rappresentare un valido strumento per migliorare ulteriormente l'outcome, favorendo attecchimento, velocizzando la ricostituzione immunitaria e riducendo al contempo la tossicità. Altri approcci in corso di sperimentazione e aventi l'obiettivo primario di mitigare la tossicità del condizionamento, evitando l'impiego di chemioterapici, riguardano l'utilizzo di anticorpi monoclonali da soli o in combinazione con immunotossine.

## **Risultati e prospettive future**

Oltre 1500 TCSE allogeneici sono stati eseguiti in Europa e più di 1000 in Nord-America. Studi di registro retrospettivi documentano come in pazienti affetti da SCID sottoposti a TCSE da donatore familiare HLA-identico, il tasso di sopravvivenza sia ormai da anni superiore al 90%, mentre si attesta intorno al 70% nei casi in cui si ricorre a un donatore alternativo, indipendentemente dalla tipologia (MUD, cordone, familiare aploidentico). Tale probabilità di sopravvivenza può essere elevata fino a raggiungere i livelli del TCSE da germano HLA-identico quando, in virtù di una diagnosi precoce, si riesce ad eseguire il trapianto precocemente, in un momento in cui le condizioni generali non sono ancora state compromesse da infezioni e disfunzioni d'organo. Questo dato sottolinea, inoltre, l'importanza dell'introduzione di un efficace programma di screening neonatale delle SCID, i cui vantaggi in termini di rapporto costo/beneficio sono stati anche recentemente dimostrati in una casistica americana. Nei pazienti affetti da IEI non-SCID la sopravvivenza libera da malattia dopo TCSE è stata storicamente leggermente inferiore rispetto alle SCID, attestandosi tra il 70% e l'80%. Tale dato è andato progressivamente migliorando nel corso degli anni, come dimostra l'esempio paradigmatico dei pazienti affetti da WAS i quali, se trapiantati

tati dopo l'anno 2006, hanno ottenuto la guarigione completa in quasi il 90% dei casi. Sebbene i risultati migliori siano storicamente stati ottenuti utilizzando donatori HLA-compatibili, identificati all'interno del nucleo familiare o nei registri internazionali, i progressi ottenuti nel contesto del trapianto aploidentico nell'ultima decade hanno consentito di ottenere tassi di sopravvivenza libera da malattia in oltre il 90% dei casi di PID (SCID e non-SCID) trapiantati dopo deplezione ex-vivo dei linfociti T  $\alpha\beta+$ . Trattandosi di patologie rare o ultra-rare, è cruciale ai fini dell'ottimizzazione dell'outcome che la procedura trapiantologica venga eseguita in centri selezionati con esperienza consolidata nel trattamento delle PID, a maggior ragione quando si impiegano donatori alternativi.

L'importanza dell'esecuzione del trapianto in giovane età, o comunque prima dello sviluppo di significative comorbidità è stata dimostrata inequivocabilmente anche nelle forme di IEI non-SCID, come WAS e malattia granulomatosa cronica. A tal proposito, giova ricordare che il trapianto nelle PID non è comunque una prerogativa esclusiva dell'età pediatrica e, anzi, viene effettuato con crescente probabilità di successo anche nel paziente giovane adulto quale strategia curativa in condizioni gravate da qualità della vita estremamente scadente e ridotta aspettativa di vita. Gli studi retrospettivi condotti in questa categoria di soggetti hanno documentato come il principale fattore prognostico sia, ancora una volta, l'assenza di danno d'organo severo. I costanti miglioramenti nella caratterizzazione genomica degli IEI e le crescenti acquisizioni sulla storia naturale di queste patologie offriranno, negli anni a venire, sempre maggiori elementi per bilanciare il rapporto rischio/beneficio del TCSE allogenico e compararlo con quello dei trattamenti conservativi in ciascuna specifica patologia. Per alcune condizioni, prima invariabilmente fatali in giovane età, sarà, inoltre, possibile studiare nel dettaglio il decorso post-trapianto, indentificando peculiarità e aspetti clinici che emergono in epoca più tardiva, non essendo suscettibili di cura mediante TCSE o essendo di quest'ultimo dirette conseguenze, e determinano significativa morbilità. Per alcune forme di PID iniziano, inoltre, ad essere disponibili trattamenti farmacologici mirati che agiscono sullo specifico meccanismo immunobiologico alterato e responsabile delle manifestazioni cliniche. Rimane ancora da definire se tali terapie possano rappresentare una vera alternativa al trapianto, con la necessità tuttavia di una somministrazione continua per tutta la vita, o piuttosto, e più probabilmente, una strategia "ponte" finalizzata all'esecuzione del TCSE nelle migliori condizioni possibili.

Per un ristretto numero di IEI, gli approcci di terapia genica, basati sulla correzione *in vitro* del difetto genetico a carico delle cellule staminali autologhe del



paziente seguita dalla loro re-infusione, hanno fornito inequivocabile dimostrazione di efficacia nel corso degli ultimi 10-15 anni. Questi approcci non sono gravati dal rischio di complicanze immunomediate quali rigetto e GvHD. Tuttavia, l'impiego della terapia genica è subordinato allo sviluppo di uno specifico vettore per ogni singolo difetto genetico, con inevitabili ripercussioni in termini di costi e conseguenti difficoltà alla loro diffusione su larga scala e alla disponibilità al di fuori di trial clinici sperimentali, problemi al giorno d'oggi ancora non completamente risolti. Per tale motivo, il TCSE allogenico è destinato a rappresentare ancora per molti anni, un insostituibile strumento terapeutico per la guarigione definitiva di numerose forme di IEI.

Una continua cooperazione tra medici trapiantologi ed immunologi è indubbiamente cruciale per definire il timing ideale della procedura, le strategie ottimali di preparazione al trapianto e il follow-up a lungo termine, permettendo di migliorare ulteriormente l'*outcome* di questi pazienti.

### **Bibliografia essenziale**

- Lankester AC, Neven B, Mahlaoui N, et al. Hematopoietic cell transplantation in severe combined immunodeficiency: The SCETIDE 2006-2014 European cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2022;149(5):1744-54 e8.
- Lankester AC, Albert MH, Booth C, et al. EBMT/ESID inborn errors working party guidelines for hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of immunity. *Bone Marrow Transplant* 2021;56 (9):2052-62.
- Merli P, Pagliara D, Galaverna F, et al. TCR $\alpha$ /CD19 depleted HSCT from an HLA-haploidentical relative to treat children with different nonmalignant disorders. *Blood Adv* 2022;6(1):281-92.
- Neven B, Diana JS, Castelle M, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide for primary immunodeficiencies and inherited disorders in children. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019;25(7):1363-73.
- Heimall J, Logan BR, Cowan MJ, et al. Immune reconstitution, and survival of 100 SCID patients post-hematopoietic cell transplant: a PIDTC natural history study. *Blood*. 2017 Dec 21;130(25):2718-2727.
- Cuvelier GDE, Logan BR, Prockop SE, et al. Outcomes following treatment for ADA-deficient severe combined immunodeficiency: a report from the PIDTC. *Blood*. 2022 Aug 18;140(7):685-705.
- Albert MH, Slatter MA, Gennery AR, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: an EBMT Inborn Errors Working Party analysis. *Blood*. 2022 Mar 31;139(13):2066-2079.
- Chiesa R, Wang J, Blok HJ, et al. Hematopoietic cell transplantation in chronic granulomatous disease: a study of 712 children and adults. *Blood*. 2020 Sep 3;136(10):1201-1211.
- Schuetz C, Gerke J, Ege M, Walter J, Kusters M, et al. Hypomorphic RAG deficiency: impact of disease burden on survival and thymic recovery argues for early diagnosis and HSCT. *Blood*. 2023 Feb 16;141(7):713-724.
- Albert MH, Sirait T, Eikema DJ, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for adolescents and adults with inborn errors of immunity: an EBMT IEWP study. *Blood*. 2022 Oct 6;140(14):1635-1649.
- Arnold DE, Chellapandian D, Leiding JW. The use of biologic modifiers as a bridge to hematopoietic cell transplantation in primary immune regulatory disorders. *Front Immunol* (2021) 12:692219.
- Aiuti A, Pasinelli F, Naldini L. Ensuring a future for gene therapy for rare diseases. *Nat Med* (2022) 28(10):1985-8.

## 11.3 CORREGGERE I DIFETTI GENETICI DELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE: TERAPIA GENICA E NUOVE FRONTIERE DELL'EDITING GENETICO

*Alessandro Aiuti, Maria Pia Cicalese*

La terapia genica autologa con cellule staminali emopoietiche (CSE) mediata da vettori virali ha dimostrato benefici clinici per il trattamento di alcuni errori congeniti dell'immunità, ottenendo notevoli risultati in termini di sicurezza e sopravvivenza globale. La terapia genica con CSE ha finora rappresentato l'unica opzione terapeutica definitiva alternativa al trapianto di midollo allogenico e presenta vantaggi sostanziali rispetto a questo, in quanto può essere effettuata in ogni paziente, anche in assenza di un donatore HLA compatibile. Inoltre, attraverso l'uso meno intensivo e di un numero ridotto di agenti chemioterapici, ha dimostrato ridurre la mortalità e le complicanze come il rigetto, la tossicità d'organo, le infezioni e la malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD). Pertanto, quando disponibile, la terapia genica può essere considerata come terapia ideale anche nei pazienti più gravi o adulti che presentano infezioni in corso e/o danni d'organo.

Generalmente, le CSE vengono raccolte dal midollo osseo o dal sangue periferico del paziente dopo l'uso di agenti mobilizzanti, vengono purificate per la presenza dell'antigene CD34+ e coltivate in vitro in presenza di vettori virali che trasportano il gene terapeutico. Un regime di condizionamento personalizzato viene utilizzato per facilitare l'attecchimento delle CSE ingegnerizzate, al fine di garantire l'efficacia terapeutica. Mentre un condizionamento a basse dosi e un chimerismo misto (cellule trasdotte e non trasdotte) sono sufficienti quando le cellule geneticamente corrette sono dotate di un vantaggio selettivo naturale, come nel caso dei linfociti trasdotti nelle immunodeficienze combinate (SCID e Sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS)), in alcune immunodeficienze in cui sono richiesti livelli più elevati di attecchimento a causa della mancanza di vantaggio selettivo della popolazione target, come nella malattia granulomatosa cronica (CGD), sono necessarie dosi di chemioterapia mieloablative o submieloablative. I vettori virali più utilizzati per la terapia genica ex vivo derivano da  $\gamma$ -retrovirus ( $\gamma$ -RV) o lentivirus. Si inseriscono in modo casuale nel genoma, con siti preferenziali in base al vettore e al tipo di cellula. Uno dei vantaggi dei lentivirus rispetto ai  $\gamma$ -RV è che l'espressione del transgene può essere regolata in modo più accurato mediante un promotore cellulare ed il rischio di mutagenesi inserzionale in



questo caso è molto basso. Ad oggi non si sono verificati eventi di oncogenesi in oltre 250 pazienti trattati con vettori lentivirali contenenti il gene terapeutico sotto il controllo di un promotore cellulare per il trattamento di immunodeficienze primitive, emoglobinopatie e alcune malattie metaboliche neurodegenerative in più di 10 anni di osservazione clinica, mentre alcuni casi di leucemia indotta dal vettore sono stati osservati in alcuni pazienti affetti da immunodeficienze primitive trattati con  $\gamma$ -RV. Per questo motivo rimane fondamentale il monitoraggio dei pazienti post-trattamento a lungo termine.

La terapia genica per le immunodeficienze primitive è stata applicata nelle ultime 2 decadi in studi clinici per SCID-X1, ADA-SCID e WAS, mostrando uno spettro di efficacia clinica che si mantiene nel tempo, e un profilo di sicurezza complessivamente favorevole. Dopo la terapia genica è stato osservato un attecchimento stabile delle cellule corrette geneticamente, un recupero delle conte e della funzionalità linfocitaria umorale e cellulare, una adeguata risposta alle vaccinazioni e alle infezioni con beneficio clinico. La prima terapia genica ex vivo è stata approvata nell'Unione Europea per l'ADA-SCID nel 2016 ed è disponibile per tutti i pazienti che non dispongano di un donatore HLA-identico familiare. Altre immunodeficienze primitive in cui la terapia genica è stata studiata in studi clinici, con efficacia variabile, sono la X-CGD, il difetto di adesione leucocitaria di tipo 1 (LAD-1) e la SCID da difetto di Artemis ed un più lungo follow-up sarà fondamentale per stabilire la persistenza dei risultati. La terapia genica con linfociti T autologhi, geneticamente modificati, è in corso di sperimentazione clinica per il deficit di FOXP3.

Una recente metanalisi mostra che la terapia genica con CSE condotta in studi clinici per 5 diversi errori congeniti dell'immunità ha consentito il trattamento di 224 pazienti che non disponevano di un donatore HLA identico, raggiungendo una sopravvivenza globale >94%. Questi risultati, pur se non ottenuti da studi comparativi, supportano l'idea che i risultati della terapia genica sono pari al trapianto di midollo osseo allogenico ed in alcuni casi consentono performance migliore in termini di sopravvivenza libera da complicanze.

Le nuove tecnologie di editing genetico hanno il potenziale di superare alcuni dei problemi associati all'uso di vettori virali e potrebbero essere adatte per malattie che richiedono una regolazione fisiologica dell'espressione genica o l'inattivazione di alleli mutati con fenotipo dominante. L'editing genetico introduce una modifica genetica stabile nei siti di interesse utilizzando nucleasi ingegnerizzate. Le piattaforme disponibili sono state progettate per indurre rotture del doppio filamento del DNA in loci genetici endogeni specifici per consen-

tire la manipolazione genetica. Il sistema delle endonucleasi CRISPR/Cas è più maneggevole perché basato su una nucleasi guidata dall'RNA che può essere riprogrammato semplicemente ridisegnando l'RNA. Dimostrazioni precliniche della capacità dell'editing genetico di correggere le mutazioni sono state fornite per vari difetti, tra cui quelli dei geni IL2RG, WAS, p47-CGD, CD40L, IPEX, RAG2 e MAGT1. Ulteriori ottimizzazioni dei protocolli per aumentare il tasso di correzione genetica nelle cellule staminali bersaglio sono in corso di studio prima di accedere alla fase clinica, che è già invece molto avanzata per il trattamento delle emoglobinopatie.

Nuovi regimi di condizionamento che mirano alla nicchia ematopoietica e risparmiano gli organi non emopoietici stanno emergendo in ambito clinico contribuendo a un uso più sicuro del trapianto di midollo autologo, eventualmente abbinato a terapia genica. La combinazione data dall'aumento dell'attecchimento delle cellule corrette e di chemioterapia a basse dosi, inclusi agenti immunodepletanti, consentirà di aumentare ulteriormente il potenziale della terapia genica.

Oggi, molte immunodeficienze primitive con fenotipo clinico variabile rimangono ancora sottodiagnosticate a causa della mancanza di conoscenze molecolari, limitando le opzioni terapeutiche per i pazienti e imponendo un pesante fardello alle famiglie e ai sistemi sanitari. L'uso più ampio di strumenti di screening validati e l'implementazione di saggi funzionali ad alta specificità sono fondamentali per effettuare diagnosi accurate e guidare i pazienti verso terapie mirate. In conclusione, la terapia genica per le immunodeficienze primitive si sta rapidamente trasformando da approccio sperimentale a terapia standard. A fronte di questi successi oggi sono ancora poche le malattie genetiche in cui ha trovato una applicazione, a causa della complessità regolatoria e degli alti costi di sviluppo e di produzione, generando disinvestimento di alcune aziende farmaceutiche del settore. L'applicazione di approcci di editing genetico, insieme alla standardizzazione delle tecnologie, saranno importanti per il futuro sviluppo clinico di queste strategie e per la loro inclusione nell'armamentario delle terapie disponibili, in alternativa al trapianto di CSE allogenico. L'ottimizzazione della produzione di questi farmaci, la revisione dei modelli di regolamentazione ed un cambiamento dei modelli di costo-beneficio saranno indispensabili per garantire l'accesso e la sostenibilità di queste terapie salvavita.



## Bibliografia essenziale

- Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L, et al. Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *Blood*. 2016;128:45–54.
- Mamcarz E, Zhou S, Lockey T, et al. Lentiviral gene therapy combined with low-dose busulfan in infants with SCID-X1. *N Engl J Med*. 2019;380:1525–1534.
- Ferrua F, Cicalese MP, Galimberti S, et al. Lentiviral haemopoietic stem/progenitor cell gene therapy for treatment of Wiskott-Aldrich syndrome: interim results of a non-randomised, open-label, phase ½ clinical study. *Lancet Haematol*. 2019;6:e239–e253.
- Kohn DB, Booth C, Kang EM, et al. Lentiviral gene therapy for X-linked chronic granulomatous disease. *Nat Med*. 2020;26:200–206.
- Ferrari G, Thrasher AJ, Aiuti A. Gene therapy using haematopoietic stem and progenitor cells. *Nat Rev Genet*. 2021;22:216–234.
- Agarwal R, Dvorak CC, Prohaska S, et al. Toxicity-free hematopoietic stem cell engraftment achieved with Anti-CD117 monoclonal antibody conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25:S92.
- Castiello MC, Ferrari S, Villa A. Correcting inborn errors of immunity: From viral mediated gene addition to gene editing. *Semin Immunol*. 2023 Mar;66:101731.
- Cowan MJ, Yu J, Facchino J. Lentiviral Gene Therapy for Artemis-Deficient SCID. *N Engl J Med*. 2022 Dec 22;387(25):2344-2355.
- Tucci F, Galimberti S, Naldini L, et al. A systematic review and meta-analysis of gene therapy with hematopoietic stem and progenitor cells for monogenic disorders. *Nat Commun*. 2022 Mar 14;13(1):1315.
- Fox T, Bueren J, Candotti F, et al. Access to gene therapy for rare diseases when commercialization is not fit for purpose. *Nat Med*. 2023 Mar;29(3):518-519.

## 11.4 PROFILASSI ANTI-INFETTIVA

*Antonio Marzollo, Linda Rossini, Emilia Cirillo, Roberta Romano*

### Definizione e generalità

L'andamento clinico dei pazienti con difetti congeniti dell'immunità è generalmente caratterizzato da episodi di infezioni ricorrenti o molto gravi, alternati a periodi di benessere o, per lo meno, discreto controllo delle manifestazioni infettive. Uno degli obiettivi del trattamento dei difetti immunitari è prevenire l'insorgenza o ridurre la gravità degli episodi infettivi. Questo scopo viene ottenuto grazie alla somministrazione di trattamenti immunitari (ad esempio, somministrazione di immunoglobuline), terapia cellulare (ad esempio, trapianto di cellule staminali ematopoietiche) o attraverso la somministrazione cronica di farmaci con un effetto antinfettivo diretto (antibatterici, antivirali, antifungini).

La profilassi antinfettiva ha ovviamente lo scopo di evitare infezioni gravi e aumentare l'aspettativa e la qualità di vita dei pazienti. È, però, associata anche a svariati rischi non trascurabili che devono essere presi in considerazione. La tossicità associata può essere causata direttamente dall'azione del farmaco (ad esempio, tossicità tendinea per i fluorochinolonici), ma anche indirettamente a causa dell'alterazione del microbiota. Inoltre, l'utilizzo cronico di farmaci antinfettivi può contribuire ad aumentare il rischio di sviluppare resistenze da parte degli agenti patogeni, suggerendo l'impiego come profilassi di principi attivi raramente impiegati per il trattamento delle infezioni gravi, quali ad esempio macrolidi o penicilline.

Infine, come ogni terapia cronica da assumere durante i periodi di benessere, anche la semplice assunzione del farmaco (ed il vissuto ad essa correlato) può incidere negativamente sulla qualità della vita e pertanto la compliance può essere complessa, soprattutto in età adolescenziale.

La scelta del trattamento antinfettivo più appropriato richiede, pertanto, la definizione del rischio infettivo del singolo paziente, che deve essere basata sulla diagnosi dello specifico difetto immunitario, sulla storia clinica del paziente (ad es. profilassi secondaria per precedente infezione) e sul progetto terapeutico personalizzato. La profilassi viene prescritta tenendo conto del profilo ri-





schio-beneficio per il singolo paziente. In Tabella 5 viene indicato il regime di profilassi più appropriato in base alle suscettibilità infettiva specifica di ciascuna situazione clinica, secondaria a difetto immunitario primitivo o acquisito. Per i diversi IEL dovuti a differenti meccanismi patogenetici, che condizionano specifiche suscettibilità a patogeni, è necessario scegliere il regime di profilassi antinfettiva più appropriato.

Per esempio, in caso di **immunodeficienza combinata grave (SCID)**, è appropriata la profilassi contro i germi opportunisti (Tabella 5):

- 】 Cotrimossazolo per la prevenzione della polmonite da *Pneumocystis jirovecii*

---

- 】 Fluconazolo, per la prevenzione della candidiasi mucocutanea e altre infezioni da lieviti

---

- 】 Acyclovir per le infezioni erpetiche

---

In caso di **Immunodeficienza Comune Variabile (CVID)** si raccomanda la profilassi con Azitromicina con l'obiettivo di ridurre le riacutizzazioni respiratorie e i sintomi da malattia polmonare, grazie all'effetto antimicrobico e immuno-modulatore della molecola (Tabella 5).

In caso di **Malattia Granulomatosa Cronica (CGD)**, per la suscettibilità a specifici batteri e miceti, si imposta profilassi con (Tabella 5):

- 】 Itraconazolo, efficace nei confronti di funghi (*Aspergillus* e *Candida*)

---

- 】 Cotrimossazolo, efficace contro batteri (*Staphylococcus*, *Burkholderia*, *Serratia spp*)

---

Essa permette di ridurre l'incidenza di infezioni potenzialmente fatali e di interventi chirurgici, con buon profilo di sicurezza.

**Tabella 5.** Principali suscettibilità infettiva in base al tipo di difetto immunitario (congenito o acquisito) e profilassi antinfettiva standard

	Esempi di situazione clinica	Batteri	Virus	Funghi
<b>Linfocita T</b>	Difetto immunitario combinato congenito Trapianto di cellule staminali ematopoietiche Chemioterapia Ciclosporina	Profilassi antibiotica in casi selezionati, personalizzata sulla base degli isolamenti microbiologici	HSV, VZV: Acyclovir, valacyclovir	Lieviti: Fluconazolo In casi selezionati profilassi mold active con Itraconazolo, posaconazolo, voriconazolo
<b>Linfocita B</b>	Difetto anticorpale congenito Rituximab CAR-T cells anti CD19	Se malattia polmonare: Azitromicina		
<b>Neutrofilo</b>	Malattia granulomatosa cronica (Chemioterapia)	Ampio spettro (incluso MRSA) Cotrimossazolo quotidiano, chinolonici		Profilassi mold-active con Itraconazolo (1° scelta), posaconazolo, voriconazolo
<b>Milza</b>	Asplenia congenita Splenectomia	Capsulati: Penicilline		
<b>Complemento</b>	Difetti congeniti Eculizumab	Capsulati: Penicilline		
<b>Immunità innata</b>	Difetti congeniti Autoanticorpi anti-citochine	Ciascuno differente; da adattare in base allo spettro di suscettibilità		

Abbreviazioni: CAR-T cells: chimeric antigen receptor T cells



## **Bibliografia essenziale**

- Maertens J, Cesaro S, Maschmeyer G, et al. 5th European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-5), a joint venture of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), the European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC), the Immunocompromised Host Society (IHS) and the European LeukemiaNet (ELN). ECIL guidelines for preventing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Sep;71(9):2397-404.
- Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, et al. Joint Task Force on Practice Parameters, representing the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology; the American College of Allergy, Asthma & Immunology; and the Joint Council of Allergy, Asthma & Immunology. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2015 Nov;136(5):1186-205.e1-78.
- Milito C, Pulvirenti F, Cinetto F, et al. Double-blind, placebo-controlled, randomized trial on low-dose azithromycin prophylaxis in patients with primary antibody deficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Aug;144(2):584-593.e7.
- Slack MA, Thomsen IP. Prevention of Infectious Complications in Patients With Chronic Granulomatous Disease. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018 May 9;7(suppl\_1):S25-S30.

## 11.5 FARMACI BIOLOGICI E SMALL MOLECULE INHIBITORS

**Francesco La Torre**

I progressi nella comprensione dei meccanismi immunitari in particolare delle malattie immunoreumatologiche hanno portato allo sviluppo e all'utilizzazione di nuove terapie "target" come i farmaci biologici e *Small Molecule Inhibitors* (piccole molecole inibitrici). Queste terapie vengono ora utilizzate per il trattamento di errori congeniti dell'immunità prettamente caratterizzati da immunodisregolazione: autoimmunità, linfoproliferazione e malignità. Il termine "medicina di precisione" descrive l'uso di agenti terapeutici per modificare le vie intracellulari la cui funzione è aumentata o diminuita a causa di difetti genetici (GOF o LOF).

### Farmaci biologici

I farmaci biologici (biotecnologici) hanno rappresentato un importante progresso nel trattamento delle malattie autoimmuni e autoinfiammatorie e un numero progressivamente crescente di nuovi farmaci biologici è disponibile. Questo approccio terapeutico ha rivoluzionato la terapia mirata e ridotto la necessità di utilizzo degli immunosoppressori tradizionali. I farmaci biologici, che includono anticorpi monoclonali e proteine di fusione, sono costruiti con tecnologia ricombinante su cellule di mammiferi e sono terapie target nei confronti delle citochine, dei loro recettori o di altre molecole coinvolte nella risposta immunitaria. A seconda del target citochinico o cellulare, i più comuni biologici attualmente utilizzati negli IEL sono i seguenti (vedi anche Tabella 6).

Rituximab (RTX), un anticorpo monoclonale (mAb) chimerico IgG1k anti-CD20, proteina transmembrana espressa dalle cellule pre-B e dalle cellule B mature. È utilizzato nel linfoma non Hodgkin a cellule B e nell'Artrite Reumatoide (AR), insieme a una moltitudine di altri usi off-label incluso l'utilizzo negli IEL con disregolazione immunitaria, nelle immunodeficienze umorali (ad esempio per il trattamento della malattia polmonare interstiziale linfocitica granulomatosa o della citopenia autoimmune (CA) nella immunodeficienza comune variabile (CVID). L'efficacia della deplezione delle cellule B nel trattamento delle malattie autoimmuni è dovuta alla sua capacità di ridurre la produzione di citochine, la presentazione dell'antigene e la generazione di anticorpi. L'ipogammaglobuli-



nemia transitoria rappresenta un effetto collaterale comune della terapia con RTX in pazienti precedentemente immunocompetenti. In alcuni casi l'ipogammaglobulinemia post-RTX può durare più a lungo. I fattori di rischio per l'ipogammaglobulinemia post-RTX persistente sono iniezioni multiple di RTX, regime di mantenimento e bassi livelli basali pre-infusionali di immunoglobuline. È interessante notare che in alcuni pazienti trattati con RTX con citopenia isolata autoimmune, il trattamento ha smascherato un IEI sottostante poiché l'autoimmunità può precedere l'insorgenza dell'ipogammaglobulinemia. Pertanto, va sottolineato che un IEI sottostante dovrebbe essere esclusa nei pazienti con ipogammaglobulinemia post-RTX persistente.

Abatacept, proteina solubile costituita dal dominio extracellulare di CTLA-4 (antigene 4 associato ai linfociti T citotossici) legato alla porzione Fc modificata di IgG1. È un inibitore di adesione e migrazione dei linfociti T ed è indicato in Artrite Idiopatica Giovanile (AIG) e AR, ma anche utilizzato con successo nei deficit di CTLA-4 e di LRBA (Lipopolisaccaride responsivo a proteina di ancoraggio Beige-like). CTLA-4 "mette un freno" all'attivazione delle cellule T e previene le risposte autoimmuni mediate dalle cellule T regolatrici (Treg.). L'effetto a valle dell'interazione CTLA-4/CD80/86 è quello di limitare la proliferazione e la funzione degli effettori. LRBA ha un ruolo nel riciclare CTLA-4 sulla superficie cellulare e nel salvarlo dalla degradazione, pertanto, le mutazioni che portano alla perdita della funzione (LOF, loss of function) di LRBA, aumentano la degradazione di CTLA-4 e compromettono la funzione delle cellule T. I deficit di CTLA-4 e di LRBA sono caratterizzati da ipogammaglobulinemia, infezioni ricorrenti, autoimmunità e linfoproliferazione e iniziano tipicamente in età pediatrica o durante l'adolescenza con citopenia autoimmune e splenomegalia. Essi rappresentano due esempi di come il trattamento degli IEI abbia beneficiato di una migliore comprensione dei geni coinvolti nell'immunità, nonché dello sviluppo di nuovi agenti per modulare il sistema immunitario come abatacept che mimando gli effetti di CTLA-4 migliora la sintomatologia dei due difetti sopramenzionati a partire dal meccanismo patogenetico.

Tocilizumab, anticorpo monoclonale umanizzato IgG1 diretto contro il recettore dell'interleuchina-6 (IL -6), indicato in Artrite Reumatoide (AR) e Artrite Idiopatica Giovanile (AIG) poliarticolare e sistemica e nella sindrome da rilascio di citochine (CRS). È stato utilizzato negli IEI come terapia aggiuntiva nei pazienti con mutazioni con aumento di funzione (GOF, gain of function) di STAT (Trasduttori di

segnale di trascrizione attivata) di tipo 3 (STAT3) con quadri di epatite autoimmune, linfoproliferazione, enteropatia e malattia interstiziale polmonare.

Ustekinumab, anticorpo monoclonale IgG1κ interamente umano, che lega IL12 e IL23, indicato in Psoriasi, Artropatia psoriasica, Morbo di Crohn (MC) e Retto-colite ulcerosa (RCU). È stato utilizzato in pazienti con deficit di adesione dei leucociti di tipo 1 (LAD-1) in cui si è dimostrato una maggiore espressione di IL-17 e IL-23. Ustekinumab inibendo il segnale di IL-12 e IL-23 e quindi a valle la risposta IL-17, è stato utilizzato con successo nella malattia paradontale grave in pazienti con LAD-1.

Dupilumab, anticorpo monoclonale interamente umano contro il recettore di IL-4 che inibisce sia IL-4 che IL-13, indicato nella dermatite atopica (DA) grave, nell'asma e nell'esofagite eosinofila. Dupilumab è stato utilizzato in pazienti con sindrome da iper-IgE (HIES), immunodeficienza autosomica dominante, con LOF di STAT3 che porta a difetti dei linfociti Th17, ridotta produzione di interferone gamma e della trasduzione del segnale di IL-10 e sbilanciamento di IL-4. Essa è caratterizzata dalla triade di dermatite atopica, infezioni cutanee e polmonari ricorrenti. In questi pazienti dupilumab ha dimostrato di migliorare la dermatite atopica e altre manifestazioni della HIES tra cui l'asma e l'aspergillosi broncopolmonare allergica.

### **Small Molecule Inhibitors (SMIs)**

Le SMIs sono molecole a basso peso molecolare che possono entrare facilmente nelle cellule e modulare altre proteine consentendo terapie mirate. Le SMIs sono state utilizzate negli IEL dovute a mutazioni di STAT1 e STAT3. Un esempio tipico di SMI sono i JAK inibitori (Jakinib). I JAK (Janus kinase) sono delle chinasi legate ai recettori delle citochine che necessitano dei JAK per attivare le cascate di segnali intracellulari. Infatti, il percorso JAK/STAT trasduce i segnali a valle di molteplici citochine. Almeno 17 citochine che si legano a uno dei 6 distinti recettori, trasmettono segnali attraverso il percorso JAK/STAT e modulano molti tipi di risposte immunitarie, tra cui la differenziazione dei linfociti, l'immunità innata, l'eritro- e mielopoiesi, la produzione di piastrine, l'immunità antitumorale e antivirale. Una conseguenza delle vie JAK/STAT disregolate è l'autoimmunità, poiché le citochine coinvolte nella patogenesi delle malattie autoimmuni e in-



fiammatorie utilizzano JAK e STAT per trasdurre i segnali intracellulari. Le mutazioni nei geni JAK/STAT causano una serie di IEI e i polimorfismi in questi geni sono associati a malattie autoimmuni. I Jakinib utilizzati sono:

- 】 Ruxolitinib: inibitore di JAK1 e JAK2, indicato per il trattamento della neoplasia mieloproliferativa e della policitemia vera.
- 】 Tofacitinib: inibitore di JAK1 e JAK3, indicato in AR, artrite psoriasica e RCU.
- 】 Baricitinib: inibitore di JAK1 e JAK2, indicato in AR, dermatite atopica e alopecia areata.

L'uso di questi Jak-inib è stato utilizzato per trattare la disregolazione immunitaria nei pazienti con mutazioni GOF in STAT1 e STAT3. Uno studio condotto su 17 pazienti ha mostrato un miglioramento sintomatico in 14 dei 17 pazienti trattati. Tre dei pazienti sono deceduti a causa di complicanze della malattia grave. Gli eventi avversi osservati includevano trombocitopenia, iperbilirubinemia, aumento delle transaminasi, infezioni respiratorie virali e herpes zoster. Tuttavia, con il trattamento a lungo termine sono stati osservati notevoli miglioramenti nelle caratteristiche di disregolazione immunitaria della malattia. In considerazione del fatto che sempre più spesso vengono identificati errori congeniti dell'immunità che coinvolgono le vie di attivazione delle citochine, inclusa la via JAK/STAT, sono attese maggiori applicazioni delle SMI. Tra queste sono in fase di studio inibitori di PI3K $\delta$  (leniolisib e nemoralisib) per la APDS (sindrome da fosfoinositide 3-chinasi attivata) dovuto a mutazioni GOF in PIK3C $\delta$  (APDS1) o mutazioni LOF in PIK3R1 (APDS2). I fenotipi di APDS1 e APDS2 si sovrappongono, con caratteristiche che includono senescenza delle cellule T, linfoproliferazione, autoimmunità, linfoma e infezioni da *S. pneumoniae* e *H. influenzae* così come infezioni virali ricorrenti o persistenti (EBV, CMV, HSV e VZV) (Tabella 6).

L'identificazione dei meccanismi implicati nella patogenesi della disregolazione immunitaria negli IEI ha aperto la strada allo sviluppo di nuovi trattamenti mirati. Rispetto agli immunosoppressori convenzionali, i trattamenti di precisione offrono il vantaggio di abbassare il rischio di effetti collaterali. Siamo solo all'inizio di una nuova era e sono già stati ottenuti risultati incoraggianti.

Tabella 6. Schema riassuntivo dei meccanismi di azione ed usi dei farmaci biologici e delle SMI negli IEI

Farmaco	Target	Struttura molecolare	Esempio di uso negli IEI
Rituximab	CD20	mAb chimerico IgG1k	CVI (malattia polmonare interstiziale linfocitica granulomatosa, CA)
Abatacept	CD80/CD86	proteina fusione IgG1 di CTLA-4	deficit CTLA-4 deficit LRBA
Tocilizumab	IL-6R	mAb umanizzato IgG1k	STAT3-GOF
Ustekinumab	IL12/IL23	mAb umano IgG1k	Malattia paradontale in LAD-1
Dupilumab	IL-4R	mAb umano IgG1k	HIES
Ruxolitinub	JAK1 and JAK 2	inibitore di piccole molecole	STAT1-GOF, STAT3-GOF
Tofacitinib	JAK1 and JAK 3	inibitore di piccole molecole	STAT1-GOF, STAT3-GOF
Baricitinib	JAK1 and JAK 2	inibitore di piccole molecole	STAT1-GOF
Leniolisib	PI3Kd	inibitore di piccole molecole	ADPS
Nemiralisib	PI3Kd	inibitore di piccole molecole	ADPS

### Bibliografia essenziale

- Delmonte OM, Castagnoli R, Calzoni E, Notarangelo LD. Inborn errors of immunity with immune dysregulation: from bench to bedside. *Front Pediatr* 2019;7:353.
- Lee SJ, Chinen J, Kavanaugh A. Immunomodulator therapy: monoclonal antibodies, fusion proteins, cytokines, and immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2 Suppl 2):S314–S323.
- Leiding JW, Forbes LR. Mechanism-based precision therapy for the treatment of primary immunodeficiency and primary immunodysregulatory diseases. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7(3):761–773.
- Perez E. Future of Therapy for Inborn Errors of Immunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2022;63(1):75-89.
- Giardino G, Romano R, Lougaris V, et al. Immune tolerance breakdown in inborn errors of immunity: Paving the way to novel therapeutic approaches. *Clin Immunol* 2023;251:109302.
- Ballow M, Leiding JW. Precision Medicine in the Treatment of Primary Immune Deficiency Patients With Disorders of Immune Dysregulation.. *Clin Rev Allergy Immunol* 2022;63(1):1-8.
- Verbsky JW, Hintermeyer MK, Simpson PM, et al. Rituximab and antimetabolite treatment of granulomatous and lymphocytic interstitial lung disease in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147(2):704-712 e17.
- Nihal A, Comstock JR, Holland KE, et al. Clearance of atypical cutaneous manifestations of hyper-IgE syndrome with dupilumab. *Pediatr Dermatol* 2022;39(6):940-942.
- Banerjee S, Biehl A, Gadina M, et al. JAK-STAT signaling as a target for inflammatory and autoimmune diseases: current and future prospects. *Drugs* 2017;77(5):521–546.
- Forbes LR, Vogel TP, Cooper MA, et al. Jakinibs for the treatment of immune dysregulation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) or STAT3 mutations. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142(5):1665–1669.





## 12. LE VACCINAZIONI NEL BAMBINO IMMUNOCOMPROMESSO

**Baldassarre Martire, Martino Barretta, Giorgio Conforti**

I difetti congeniti o acquisiti della risposta immunitaria, espongono il soggetto ad un aumentato rischio di malattie infettive che oltre ad avere un decorso clinico grave, possono condizionare l'outcome e la storia naturale della malattia di base aumentando ad es. il rischio di comorbidità per patologia neoplastica o autoimmune. L'aumentata suscettibilità alle infezioni di questi pazienti, impone quindi l'adozione di tutte le misure di prevenzione, farmacologiche e non. Tuttavia, la condizione di immunodeficienza può interferire con la sicurezza e l'efficacia delle vaccinazioni, in misura e modalità differenti a seconda del tipo di difetto immunitario di cui soffre il paziente, rendendo reale il rischio di insuccesso dell'intervento vaccinale. La decisione di vaccinare un paziente immunocompromesso non può quindi prescindere sia da una attenta valutazione del profilo di sicurezza e di efficacia del vaccino che dal tipo di difetto immunitario, al fine di garantire la massima protezione ed evitare eventi avversi.

Attualmente sono note circa 500 forme di immunodeficienze geneticamente determinate (*Inborn Errors of Immunity*, IEI) con differente grado di compromissione immunologica, suscettibilità infettiva e grande eterogeneità di espressione fenotipica. La risposta immunitaria agli antigeni vaccinali è di conseguenza molto variabile, potendo risultare ottimale, insufficiente o del tutto assente. Numerosi documenti/consensus di società scientifiche e di enti di sanità pubblica forniscono raccomandazioni sul programma vaccinale da adottare nei pazienti affetti da immunodeficienza, sulla base dell'evidenza scientifica attualmente disponibile, la cui applicazione deve tuttavia tener conto della rapida evoluzione delle conoscenze in questo campo.

### **Vaccinazioni nei difetti dell'immunità umorale**

I difetti anticorpali maggiori: agammaglobulinemia (XLA), immunodeficienza comune variabile (CVID), sindrome da IperIgM e minori: deficit selettivo di IgA, sottoclassi IgG, difetti anticorpali specifici e degli isotipi delle catene leggere, ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia (THI), rappresentano la categoria più ampia, di tutte le forme di IEI (>50%), e si caratterizzano per un difetto

dello sviluppo e/o della funzione dei linfociti B con associate o meno alterazioni variabili delle altre componenti del sistema immunitario.

**Ha senso vaccinare i pazienti che non possono produrre anticorpi? Il concetto di non vaccinare a priori i pazienti con difetto anticorpale risulta ampiamente superato.** Numerosi studi dimostrano una risposta all'immunizzazione attiva da virus antiinfluenzale e da antigeni polisaccaridici, mediata dai linfociti *helper effector memory* e dalle cellule *B switched memory*, rispettivamente, in pazienti con XLA e CVID. I vaccini inattivati (antitetano, antidifterite, antipertosse, anti-*Haemophilus influenzae*, anti-pneumococco, anti-meningococco B, ACW135Y, anti-Salmonella typhi, antiepatite B, anti-papillomavirus e antinfluenzale inattivato) possono essere considerati sicuri e ben tollerati, non essendo stati riportati tassi più alti di eventi avversi rilevanti rispetto alla popolazione normale. La risposta alla vaccinazione anti-pneumococco polisaccaridico 23-valente (PPSV23) può essere talvolta subottimale; pertanto, l'*Advisory Committee on Immunization Practices* (ACIP) raccomanda la somministrazione sequenziale del vaccino anti-pneumococco coniugato seguito da quello polisaccaridico 23-valente dopo 8 settimane. Nei pazienti con difetti anticorpali minori, l'immunogenicità di questi vaccini non è significativamente inferiore a quella dei soggetti immunocompetenti.

**A differenza dei vaccini inattivati, le vaccinazioni con patogeni vivi attenuati non sono raccomandate.** Attualmente non sono disponibili dati sufficienti circa la sicurezza della vaccinazione antimorbillo, varicella e rotavirus nei pazienti con difetto anticorpale maggiore; pertanto, secondo quanto riportato dal CDC queste vaccinazioni possono, in casi specifici, essere considerate solo sulla base del rischio di esposizione e dello stato immunologico del paziente.

Di contro, nei pazienti con difetto selettivo di IgA e delle sottoclassi IgG possono essere somministrati tutti i vaccini a virus vivo attenuato.

### **Vaccinazioni nei difetti maggiori dei T linfociti (SCID/CID)**

Le immunodeficienze combinate gravi (SCID, *Severe Combined Immunodeficiencies*) sono un gruppo estremamente ampio ed eterogeneo di patologie congenite del sistema immunitario, complessivamente caratterizzato da una marcata riduzione/assenza dei linfociti T con gradi variabili di difetto funzionale/numerico dei linfociti B e delle cellule NK.



Nei pazienti con SCID tutti i vaccini a virus o batteri vivi attenuati possono causare gravi complicanze e non devono essere somministrati. I vaccini uccisi o inattivati sono sicuri, data l'incapacità di replicarsi, ma la loro efficacia immunogenica è limitata e pertanto in generale non sono consigliati. I vaccini polisaccaridici coniugati batterici, quali i vaccini anti-pneumococco, meningococco ed *Haemophilus influenzae* di tipo B, possono essere suggeriti nei soggetti con difetto T-cellulare completo, pur considerando la possibilità di una risposta subottimale. Le immunodeficienze combinate (*Combined Immunodeficiencies*, CID) sono caratterizzate da un difetto parziale dell'immunità cellulare e da alterazioni immunologiche meno gravi di quelle che caratterizzano le SCID. La diagnosi di CID è spesso ritardata perché le manifestazioni cliniche sono in genere meno gravi e i programmi di screening neonatale non sono sempre in grado di identificarle. In questi pazienti i vaccini vivi sono in genere controindicati; in casi particolari potrebbero essere considerati solo dopo aver valutato lo status immunologico: in generale, possono essere somministrati se i linfociti T CD4 sono  $\geq 500/\text{mm}^3$ , i linfociti T CD8  $\geq 200/\text{mm}^3$  e la risposta a sostanze che stimolano la replicazione dei linfociti (*mitogeni*)  $> 50\%$  del controllo sano. Il CDC raccomanda livelli di CD4+ più alti se si tratta di vaccinare bambini di età inferiore ai 6 anni:  $> 1000/\text{mm}^3$  tra 1 e 6 anni,  $> 1500/\text{mm}^3$  sotto l'anno di vita. I vaccini contro *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* di tipo B e *Neisseria meningitidis* e gli altri vaccini inattivati virali e batterici possono essere somministrati anche se con possibile risposta vaccinale inadeguata.

### **Vaccinazioni nei difetti congeniti del numero e della funzione dei fagociti**

I difetti congeniti dei fagociti possono essere dovuti ad una alterazione quantitativa e/o qualitativa, delle funzioni di chemiotassi e del killing intracellulare, dei neutrofili e dei monociti-macrofagi. Al primo gruppo appartengono le Neutropenie Congenite, al secondo diversi tipi di patologie il cui prototipi sono la Malattia Granulomatosa Cronica (CGD) e i difetti di adesione leucocitaria (LAD). Sia pure in assenza di studi controllati, nella Malattia Granulomatosa Cronica l'immunizzazione attiva è fortemente consigliata, in particolare i vaccini con microrganismi inattivati sono considerati utili, sicuri e ben tollerati. I soggetti affetti da CGD e da neutropenia congenita sono in grado di rispondere correttamente alla stimolazione antigenica con antigeni virali vivi. D'altro canto, l'aumentato rischio di sovrainfezioni batteriche in corso di infezioni virali (esempio, stafilococco su lesioni da varicella) dovrebbe essere tenuto in considerazione in questi

soggetti. Uno studio recente condotto su una coorte di 169 pazienti con CGD ha dimostrato una incidenza di malattia vaccinale (*BCGite*) dopo somministrazione del Bacillo di Calmette-Guerin in oltre il 59% dei soggetti vaccinati. Questa vaccinazione è pertanto controindicata e deve essere rinviata fino ad esclusione della diagnosi, anche nei fratelli dei soggetti affetti. I vaccini vivi per *Salmonella typhi* dovrebbero essere evitati, per mancanza di dati in letteratura e a causa dell'elevata incidenza di infezioni sostenute da questo patogeno nei soggetti con CGD e neutropenia congenita. Al contrario, possono essere usati i vaccini inattivati per *Salmonella typhi*. Il vaccino vivo con BCG e quello orale contro il tifo non sono altresì raccomandati nelle neutropenie congenite.

### Vaccinazioni negli immunodeficit secondari

Le immunodeficienze secondarie sono un gruppo vasto ed eterogeneo di malattie che interessano il sistema immunitario come conseguenza di specifiche patologie extra immunologiche:

- 】 malattie infettive (principalmente infezione da HIV),
- 】 neoplasie ematologiche e tumori solidi,
- 】 disordini metabolici
- 】 trattamenti con farmaci immunosoppressori o biologici.

Sia l'immunità innata che quella adattativa possono essere compromesse a vari stadi e con un diverso grado di intensità, causando una aumentata suscettibilità infettiva. Sono stati definiti dei criteri per valutare il livello di deficit immunitario nelle varie forme di immunodeficienza secondaria (*Advisory Committee on Immunization Practices; Infectious Diseases Society of America, Red Book 2021*). Numerosi studi, nonché metanalisi, mostrano chiaramente che la somministrazione di vaccini inattivati può essere considerata sicura ed efficace, tuttavia, nella maggior parte dei casi non sono disponibili studi randomizzati controllati su casistiche numerose. La maggior parte degli autori consiglia la vaccinazione dopo aver valutato il rapporto rischio/beneficio sulla base della storia clinica del paziente e dei test di laboratorio.

### Vaccinazione anti COVID-19 negli IEI

La maggior parte dei dati relativi alla immunogenicità dei vaccini anti SarS CoV-2 nei soggetti con immunocompromissione deriva da studi condotti su pazienti



con COVID. In una coorte di 329 pazienti vaccinati con 2 dosi di anti sarS CoV 2 a mRNA, il 60% ha dimostrato la produzione di anticorpi neutralizzanti anti-Spike specifici e di linfociti B memory con bassa capacità di legame. La risposta T cellulare è stata osservata con frequenza variabile e con una efficienza neutralizzante inferiore rispetto a quella indotta dal vaccino antiinfluenzale. Fattori predittivi di risposta subottimale sono il grado di linfocitopenia B e T cellulare, bassi livelli di cellule B switched memory e di IgA e IgM sieriche. Sulla scorta di questi dati la Task Force delle Società Italiane di Immunologia raccomanda la vaccinazione dei soggetti con immunodeficit preferibilmente con vaccini a RNAm per il buon profilo sicurezza e di immunogenicità e il basso rischio di eventi avversi.

### **Vaccinazioni e terapia sostitutiva con immunoglobuline**

Livelli protettivi di anticorpi verso i comuni antigeni vaccinali, sono contenuti nei diversi preparati di Immunoglobuline: in particolare Tossoido *Tetanico* e *Difterico*, *Morbillo*, *Varicella*, *Pertosse*, *Pneumococco* e la maggior parte dei comuni sierotipi meningococchi.

La presenza di questi anticorpi non interferisce con la risposta immunogenica ai vaccini inattivati che possono quindi essere somministrati in ogni momento rispetto alla terapia sostitutiva.

Studi dimostrano, invece, una possibile variabile interferenza con la risposta immunitaria ai vaccini vivi attenuati (esempio: *rosolia*, *morbillo*, *parotite*, *varicella*). La somministrazione di questo tipo di vaccini, quindi, deve avvenire dopo un intervallo di 3-12 mesi dall'ultima dose di Immunoglobuline.

### **Vaccinazioni e chemioterapia**

L'immunosoppressione indotta da chemioterapia comporta la scomparsa dell'immunità vaccinale nei soggetti che avevano completato il programma di vaccinazione prima dell'inizio e persiste per l'intero periodo della terapia e fino a 6-12 mesi dopo la sua sospensione.

La ricostituzione di nuove cellule B transizionali e linfociti B e T naïve si verifica rapidamente, mentre quella delle cellule B e T di memoria è più lenta e può essere incompleta fino a 5 anni dopo la fine del trattamento, specialmente nel caso di regimi chemioterapici ad alta intensità. I livelli di immunoglobuline si normalizzano nell'arco di settimane dalla fine della chemioterapia, la risposta funzionale dei linfociti T nei confronti di antigeni quali CMV, HSV1, VZV, Candida, Tetano e Difterite si normalizza in un anno o più dopo la fine della chemioterapia.

### Vaccinazioni dopo chemioterapia

Maggiore e migliore evidenza è disponibile per quanto riguarda l'indicazione alle vaccinazioni dopo l'interruzione della chemioterapia. La maggior parte degli autori concorda che un intervallo di 6-12 mesi dal termine della terapia sia adeguato a ottenere un sufficiente recupero immunologico, consentendo ai pazienti di essere protetti. La rivaccinazione o la somministrazione di una dose booster dopo 6 mesi dalla chemioterapia di vaccini inattivati o con antigeni purificati, e dopo 6-12 mesi per i vaccini con virus vivi attenuati si è dimostrata efficace nel portare a valori protettivi il titolo anticorpale nella quasi totalità dei pazienti, senza effetti collaterali significativi.

La vaccinazione antinfluenzale è raccomandata dopo già 3 mesi dallo *stop therapy* e deve essere effettuata con vaccino a virus inattivato.

Per HPV e HAV non ci sono dati disponibili e le raccomandazioni sono basate solo su expert opinion

### **Quali vaccini devono essere considerati nei pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE)?**

La perdita dell'immunità vaccinale dopo TCSE dipende da diversi fattori:

- 】 lo status vaccinale del ricevente e del donatore;
- 】 la fonte delle cellule staminali, manipolazione del trapianto
- 】 l'età del paziente, le comorbidità associate
- 】 il regime di condizionamento
- 】 la malattia di trapianto verso l'ospite (GVHD)
- 】 la terapia immunosoppressiva e le infezioni post trapianto.

La risposta immunitaria al vaccino è bassa nei primi 6 mesi dopo il TCSE. Il numero dei linfociti B torna ai valori normali entro 3-12 mesi. Le cellule B di nuova generazione mostrano una risposta antigene-specifica ridotta durante il primo anno dopo il trapianto per ridotta capacità di switching isotipico e di mutazione somatica. Linfociti T *naïve* capaci di rispondere ai nuovi antigeni vengono generati solo 6-12 mesi dopo il trapianto. Una migliore risposta alla vaccinazione è stata dimostrata nei casi in cui i donatori sono stati immunizzati contro HBV, il TT, HiB e con Pneumococco.



Il calendario vaccinale deve essere sempre concordato con il Centro Trapianti.

- 】 I vaccini contenenti organismi inattivati o antigeni purificati, hanno un buon profilo di sicurezza e non sono associati ad un maggior rischio di effetti collaterali: possono essere somministrati a distanza di almeno 6 mesi dalla terapia immunosoppressiva

---

- 】 Dovrebbero essere eseguite
  - 3 dosi di DTP-Polio-Hib-HBsAg, separatamente o in associazione secondo l'età (esavalente fino al settimo anno),
  - 2 dosi di vaccini PCV13/PCV15, MenB e Men ACW135Y.

---

- 】 Il vaccino antinfluenzale inattivato è raccomandato per tutti i pazienti almeno 4-6 mesi dopo il TCSE e deve essere somministrato annualmente.

---

- 】 I vaccini contenenti organismi vivi virali e batterici non devono essere somministrati entro 24 mesi dal trapianto o in pazienti con GVHD o in trattamento immunosoppressivo, per il rischio di malattia vaccinale.

---

## Vaccinazioni e farmaci biologici immunomodulatori

I farmaci biologici hanno radicalmente modificato l'outcome di molte malattie immunodisregolatorie (autoimmunitarie e autoinfiammatorie) grazie alla loro efficacia, tollerabilità e rapidità di azione. Si tratta di modificatori selettivi della risposta immunologica che hanno come target specifici meccanismi patogenetici immuno-mediati e una azione farmacologica che può persistere settimane o mesi dopo la loro interruzione. I soggetti in trattamento presentano un maggiore rischio infettivo, soprattutto per patologie respiratorie, legato alla immunodisregolazione della malattia di base e agli effetti immunomodulanti della terapia biologica.

Le evidenze scientifiche riguardanti la sicurezza e l'efficacia dei vaccini nei pazienti in trattamento con IBM sono limitate, in particolare nell'età pediatrica. La maggior parte degli studi condotti riguardano pazienti adulti con malattia reumatologica/autoinfiammatoria, che peraltro utilizzano markers surrogati di efficacia come il grado di sierconversione e sieroprotezione, piuttosto che la variazione dell'incidenza delle infezioni.

Numerosi sono al riguardo i **quesiti aperti**.

- 】 Incerta capacità di montare una adeguata risposta immunitaria alla vaccinazione
-

- 】 Tipo, durata e variabilità della risposta in relazione alla malattia di base
- 】 Possibilità di flare di malattia indotta dalla vaccinazione.

Sulla base delle evidenze scientifiche attualmente disponibili possono essere indicati alcuni criteri di ordine generale

- 】 La schedula vaccinale deve essere individualizzata in base allo stato clinico, immunologico e vaccinale del paziente. I pazienti devono essere informati della potenziale risposta immunitaria subottimale.
- 】 Le vaccinazioni devono essere completate quando possibile prima della terapia
  - I vaccini inattivati devono essere preferibilmente somministrati almeno 2 settimane prima della terapia; sono generalmente considerati sicuri durante il trattamento, ma la loro efficacia può variare secondo il potere immunosoppressivo del farmaco (*rituximab, abatacept, inibitori del TNFalfa*)
- 】 I vaccini vivi attenuati devono essere somministrati almeno 4 -6 settimane prima dell'inizio della terapia: sono generalmente controindicati durante e per settimane o mesi dopo l'interruzione dell'IMB.

### **Devono essere eseguiti test specifici prima di vaccinare pazienti con IEI?**

Una volta inquadrato il difetto immunologico, non è necessario effettuare test prima di eseguire la vaccinazione. In alcune condizioni di deficit parziale di linfociti T (es. sindrome DEL 22, atassia-teleangectasia, Wiskott-Aldrich), è consigliabile verificare il grado di immunodepressione prima di somministrare un vaccino vivo: esistono dei valori soglia della conta linfocitaria e dei parametri di funzionalità cellulare che guidano lo specialista al fine di garantire la massima sicurezza della vaccinazione.

### **Devono essere eseguiti test dopo la vaccinazione?**

In generale non sono necessari test atti a verificare l'avvenuta risposta al vaccino, in molte situazioni inoltre ciò non sarebbe possibile. Nei difetti anticorpali il vaccino induce una risposta cellulare che non è valutabile con i normali test di laboratorio. La vaccinazione può essere utilizzata nella fase di accertamento diagnostico della malattia per valutare la risposta anticorpale verso antigeni proteici e/o polisaccaridici (per esempio nella CVID) o per verificare il grado di immunoricostruzione dopo TCSE.





## Vaccinazione dei contatti familiari e caregiver

L'immunizzazione dei familiari e di coloro che prestano cura al paziente immunocompromesso spesso rappresenta l'unica possibilità per questi soggetti di ottenere una protezione verso le malattie prevenibili da vaccini. È quindi fondamentale verificare che tutti i contatti siano vaccinati, se non già protetti.

- 】 I vaccini inattivati sono fortemente raccomandati
- 】 I vaccini vivi attenuati (MRP) possono essere somministrati poichè non c'è evidenza di trasmissione interumana del virus vaccinale.
- 】 Polio e antiinfluenzale vivi sono controindicati: raccomandati quelli inattivati
- 】 La vaccinazione contro varicella zoster è raccomandata per i familiari senza storia personale di infezione dopo eventuale controllo dello status anticorpale


**In conclusione**, i soggetti con difetto della risposta immunitaria rappresentano un gruppo estremamente ampio ed eterogeneo di condizioni patologiche che rendono il livello di sicurezza e di immunogenicità delle vaccinazioni molto variabile e incerto. La decisione di vaccinare un paziente con immunodeficienza primitiva o secondaria e il relativo programma vaccinale, devono prevedere una precisa valutazione dei rischi e dei benefici che tenga in considerazione la malattia di base, il livello di immunocompromissione, il tipo di vaccino da somministrare e l'eventuale stato vaccinale del singolo paziente, al fine di garantire la massima protezione ed evitare eventi avversi.

La vaccinazione è spesso possibile e a volte raccomandata.

In generale non sono necessari test atti a verificare l'avvenuta risposta immunologica al vaccino.




















La vaccinazione dei contatti è fondamentale poiché, spesso, per questi pazienti, essa rappresenta l'unica possibilità di protezione verso le malattie infettive prevenibili.









**Tabella 1.** Sintesi delle principali indicazioni per l'esecuzione delle vaccinazioni nei soggetti affetti da immunodeficienza primitiva

	<b>Vaccini ad antigeni purificati o inattivati</b>	<b>Vaccini virali vivi/attenuati (MPR + V, Rotavirus, influenzale vivo attenuato)</b>	<b>Vaccini batterici vivi/attenuati (<i>S. tify</i>, BCG)</b>
<b>Difetti umorali minori (deficit assoluto di IgA, deficit di sottoclassi, deficit anticorpale specifico)</b>	 Raccomandate: antinfluenzale annuale, anti-pneumococco, anti-meningococchi, anti-Hib		
<b>Difetti umorali maggiori (XLA, CVID)</b>	 Raccomandate: antinfluenzale annuale, anti-pneumococco, anti-meningococchi, anti-Hib	 Attivare strategia "cocooning"	
<b>Difetti cellulari severi (SCID)</b>	 Solo anti-pneumococco, anti-meningococchi Anti Hib (risposta immunitaria incerta)! Le restanti da eseguire dopo TCSE	 ! Da eseguire dopo 24 mesi dal TCSE Attivare strategia "cocooning"	
<b>Difetti cellulari combinati isolati o in contesto sindromico</b>		 ! Da valutare caso per caso in base al grado di immunodepressione (numero di linfociti CD4, proliferazione cellulare)	
<b>Difetti del complemento</b>			
<b>Difetti dei fagociti (neutropenia, CGD)</b>			
<b>Suscettibilità genetica selettiva per infezioni virali, batteriche, micobatteriche e fungine</b>			



**Tabella 2.** Sintesi delle principali indicazioni per l'esecuzione delle vaccinazioni nei soggetti affetti da immunodeficienza secondaria

	Quando?	Vaccini ad antigeni purificati o inattivati (non vivi)	Vaccini virali vivi/attenuati (MPR + V, Rotavirus, influenzale vivo attenuato)
Terapia con immunoglobuline	Durante	 Non vi è interferenza	
	Dopo		  ! Aspettare 3-12 mesi dopo l'ultima infusione (secondo le dosi infuse)
Chemioterapia	Prima	 ! Almeno 2 settimane prima	 ! Almeno 4 settimane prima
	Durante	 Valutare dose booster alla sospensione	 ! Attuare la <i>cocooning strategy</i>
	Dopo	 ! Dopo 6 mesi dalla sospensione	 ! Dopo 12 mesi dalla sospensione
TCSE	Prima		
	Dopo	 ! Dopo 6 mesi	 ! Dopo 24 mesi (no terapia con Ig, no GvHD)
Trapianto organi solidi	Prima	 ! Almeno 2 settimane prima! Pensare a vaccini supplementari a seconda dell'organo trapiantato	 ! Almeno 4 settimane prima
	Dopo	 ! Dopo 6 mesi	
HIV			 Da valutare caso per caso in base al grado di immunodepressione (numero, % linfociti CD4)

	Quando?	Vaccini ad antigeni purificati o inattivati (non vivi)	Vaccini virali vivi/attenuati (MPR + V, Rotavirus, influenzale vivo attenuato)
<b>Corticosteroidi ad alto dosaggio (&gt; 2 mg/kg/die o &gt;20 mg/die)</b>	Prima	 ! Almeno 2 settimane prima	 ! almeno 4 settimane prima
	Durante	 ! Valutare dose booster alla sospensione RACCOMANDARE anti-influenzale	 ! Sì se bassi dosaggi, terapia sostitutiva, terapia inalatoria, intra-articolare, topica
	Dopo		 ! Dopo i 3 mesi
<b>Immunosoppressori</b>	Prima	 ! Almeno 2 settimane prima	 ! Almeno 4 settimane prima
	Dopo	Valutare secondo il farmaco somministrato e il grado di immunosoppressione; in ogni caso non prima di 1 mese dallo <i>stop therapy</i>	Valutare secondo il farmaco somministrato e il grado di immunosoppressione; in ogni caso non prima di 1 mese dallo <i>stop therapy</i>



## Il pediatra di famiglia e la vaccinazione nelle immunodeficienze

Le Immunodeficienze primitive e secondarie sono un caleidoscopio di condizioni cliniche estremamente vasto ed eterogeneo, che non permette una schematizzazione rigida delle indicazioni e delle controindicazioni alla vaccinazione. La decisione se vaccinare o meno può in molti casi essere più impegnativa e complessa rispetto al bambino con malattia cronica o rara non immunologica e richiedere una valutazione clinica e di laboratorio individualizzata sul singolo paziente, in un percorso decisionale in cui fondamentale diventa la comunicazione con la famiglia.

Da questa complessità scaturisce la necessità di una stretta interazione e collaborazione fra il pediatra di famiglia e lo specialista immunologo al fine di garantire la massima protezione e di evitare eventi avversi.

### Bibliografia essenziale

- Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2022 Oct;42(7):1508-1520.
- Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2014;58:309-18.
- Kobayashi M, Bennett NM, Gierke R, et al. Intervals between PCV13 and PPSV23 vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64:944-7.
- Martire B, Azzari C, Badolato R, et al. Vaccination in immunocompromised host: recommendations of Italian Primary Immunodeficiency Network Centers (IPINET). *Vaccine* 2018;36:3541-54.
- Bonilla FA. Vaccines in Patients with Primary Immune Deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2020 Aug;40(3):421-435.
- Ko J, Radigan L, Cunningham-Rundles C. Immune competence and switched memory B cells in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2005;116:37-41.
- Paroli M, Accapezzato D, Francavilla V, et al. Long-lasting memory-resting and memory-effector CD4+ T cells in human X-linked agammaglobulinemia. *Blood* 2002 Mar 15;99(6):2131-7.
- Shields AM, Faustini SE, Hill HJ, et al. COV-AD consortium SARS-CoV-2 Vaccine Responses in Individuals with Antibody Deficiency: Findings from the COV-AD Study. *J Clin Immunol*. 2022 Jul;42(5):923-934.
- D'Amelio R, Asero R, Cassatella MA, et al. Anti-COVID-19 Vaccination in Patients with Autoimmune-Autoinflammatory Disorders and Primary/Secondary Immunodeficiencies: The Position of the Task Force on Behalf of the Italian Immunological Societies. *E. Biomedicines*. 2021 Sep 4;9(9):1163.
- Cotugno N, Finocchi A, Cagigi A, et al. Defective B-cell proliferation and maintenance of long-term memory in patients with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:753-61.e2.
- Zhou Q, Hui X, Ying W, et al. A cohort of 169 chronic granulomatous disease patients exposed to BCG Vaccination: a retrospective study from a single center in Shanghai, China (2004–2017). *J Clin Immunol* 2018;38:260-72.

- Cesaro S, Giacchino M, Fioredda F, et al. Guidelines on vaccinations in paediatric haematology and oncology patients. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1-10.
- van Tilburg CM, Sanders EAM, Rovers MM, et al. Loss of antibodies and response to (re-) vaccination in children after treatment for acute lymphocytic leukemia: a systematic review. *Leukemia* 2006;20:1717-22.
- Zignol M, Peracchi M, Tridello G, et al. Assessment of humoral immunity to poliomyelitis, tetanus, hepatitis B, measles, rubella, and mumps in children after chemotherapy. *Cancer* 2004;101:635-41.
- van Tilburg CM, van Gent R, Bierings MB, et al. Immune reconstitution in children following chemotherapy for haematological malignancies: a long-term follow-up. *Br J Haematol* 2011;152:201-10.
- Olkinuora H, Käyhty H, Davidkin I, et al. Immunity after (re)vaccination of paediatric patients following haematopoietic stem cell transplantation. *Acta Paediatr* 2012;101:e373-7.
- Kennedy LB, Li Z, Savani BN, et al. Measuring immune response to commonly used vaccinations in adult recipients of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:1614-21.
- Igendorf I, Freund M, Jilg W, et al. Vaccination of allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients: report from the international consensus conference on clinical practice in chronic GVHD. *Vaccine* 2011;29:2825-33.
- Ljungman P, Cordonnier C, Einsele H, et al. Vaccination of hematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:521.
- Mikulska M, Lanini S, Gudiol C, et al. ESCMID Study Group for Infections in Compromised Hosts (ESGIHC). Consensus Document on the safety of targeted and biological therapies: an infectious diseases perspective *Clin Microbiol Infect* 2018;24:S71-82.
- Martire B, Ottaviano G, Sangerardi M, Sgrulletti M, Chini L, Dellepiane RM, Montin D, Rizzo C, Pignata C, Marseglia GL, Moschese V Vaccinations in Children and Adolescents Treated With Immune-Modifying Biologics: Update and Current Developments. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2022 Jun;10(6):1485-1496.
- Shearer WT, Fleisher TA, Buckley RH, et al Medical Advisory Committee of the Immune Deficiency Foundation., Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:961-6.



## 13. LA GESTIONE DEL BAMBINO CON IMMUNODEFICIENZA

---

### 13.1 FOLLOW-UP E QUALITÀ DI VITA: IL BAMBINO TRAPIANTATO

**Stefano Frenos, Luisa Galli, Elena Chiappini**

La migliore conoscenza della patogenesi e della fisiopatologia molecolare di molti IEI, grazie ai continui progressi in ambito genetico molecolare, la disponibilità di nuove molecole nella terapia medica, la possibilità di nuove modalità di somministrazione di terapie ormai consolidate, come la terapia sostitutiva con immunoglobuline, i risultati sempre più incoraggianti ottenuti con il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE), la possibilità di utilizzare la terapia genica in alcune condizioni e la condivisione di percorsi diagnostico-terapeutici a livello nazionale ed internazionale hanno portato ad un notevole miglioramento nell'aspettativa e nella qualità di vita per i pazienti, bambini e adulti, con IEI. Molti IEI possono guarire e tutte possono essere curate, diventando malattie croniche. Questo significa che è necessario riuscire a realizzare per ciascun paziente un percorso di continuità assistenziale, non solo nel passaggio dall'età pediatrica all'età adulta, ma anche nella collaborazione sempre più attiva e proficua tra ospedale e territorio. Come ben noto, nella gestione dei pazienti con IEI fondamentale è la pronta terapia e prevenzione dei problemi infettivi, ma anche la precoce diagnosi ed il tempestivo trattamento delle complicanze a lungo termine, in particolare la broncopneumopatia cronica, la sinusopatia cronica, le complicanze autoimmuni e le patologie neoplastiche.

In questo ambito può essere rilevante considerare - per quanto riguarda la pratica clinica - la possibilità di avere, tra i nostri assistiti, bambini con IEI che sono stati sottoposti a TCSE o bambini con IEI che eseguono terapia sostitutiva con immunoglobuline.

Come appena sottolineato, il pediatra o il medico di famiglia diventano parte integrante dell'organizzazione assistenziale del paziente. Le alte dosi di chemioterapia o radioterapia utilizzate nel regime di condizionamento pre-TCSE raggiungono tutti gli organi e tessuti del paziente, producendo effetti collaterali

precoci e/o tardivi di varia intensità. I pazienti sottoposti a TCSE possono presentare molte complicanze, correlate o meno al trapianto stesso, sia precoci che tardive, che possono inficiare sia la riuscita del trapianto stesso sia il benessere del paziente. È pertanto fondamentale che si instauri e si mantenga uno stretto rapporto di collaborazione tra il centro ospedaliero di riferimento e il medico che opera sul territorio. Sarebbe inoltre auspicabile che il pediatra del paziente sia formato, costantemente informato ed aggiornato sui problemi che possono sviluppare questi pazienti, affinché si possa instaurare una rete di collaborazione ospedale-territorio efficace per la miglior riuscita delle cure per il paziente; meglio ancora, dovrebbero essere strutturati specifici Percorsi Diagnostico-Terapeutici Assistenziali, *evidence-based*, condivisi ed istituzionali (PDTA). In questo capitolo si tratteranno in maniera schematica le principali complicanze precoci e tardive post-TCSE, nonché quelli che possono essere gli aspetti più difficili della gestione in ambito territoriale di un paziente sottoposto a TCSE ed alcuni consigli pratici per affrontare al meglio i vari aspetti della vita quotidiana.

## **1. Quali sono le principali complicanze precoci del paziente sottoposto a TCSE?**

Le complicanze precoci dopo un TCSE e la relativa frequenza di insorgenza dipendono molto dal tipo di trapianto eseguito, autologo o allogenico. La malattia del trapianto contro l'ospite, *Graft versus Host Disease* (GvHD), è appannaggio del trapianto allogenico, mentre le infezioni, la malattia Veno-Occlusiva del fegato (VOD), la cistite emorragica e la microangiopatia trombotica, con diversa incidenza, possono presentarsi in entrambe le tipologie di trapianto.

### 1a. Malattia Veno-Occlusiva/Sindrome da Ostruzione Sinusoidale (VOD/SOS)

La VOD, nota anche come Sindrome da Ostruzione Sinusoidale, deriva da un danno tossico a livello dei sinusoidi intra-epatici e degli epatociti conseguente al regime di condizionamento pre-trapianto, autologo o allogenico. In particolare, sono riconosciuti come fattori di rischio la somministrazione di busulfano, ciclofosfamide o la presenza di pregresse epatopatie.

Tipicamente questa complicanza insorge nelle prime 4 settimane post-TCSE. È una delle più frequenti cause di tossicità trattamento-correlata, con un'incidenza dal 3% al 54% dei pazienti, a seconda delle varie casistiche. La prognosi varia a seconda della severità dei sintomi d'esordio, con una mortalità del 90% per pazienti con VOD di grado severo.





### *Come riconoscerla?*

Questa sindrome è tipicamente caratterizzata da ittero a bilirubina diretta, epatomegalia dolente, aumento ponderale dovuto al versamento ascitico e ritenzione idrica nei primi 35-40 giorni dopo il trapianto.

### *Quando contattare il centro di riferimento?*

In caso di comparsa di iperbilirubinemia e/o epatomegalia dolente e/o ascite e/o aumento di peso superiore al 5% di quello basale, si consiglia di contattare immediatamente il centro di riferimento trapiantologico.

### 1b. Microangiopatia trombotica

La microangiopatia trombotica post-TCSE è una sindrome ben riconosciuta ma ancora oggi scarsamente definita. Un elevato numero di termini, infatti, è stato impiegato per descriverla, tra i quali: porpora trombotica trombocitopenica, sindrome emolitico-uremica, microangiopatia associata al trapianto (TAM) e anemia emolitica microangiopatica.

In relazione alle differenti definizioni attribuite a questa patologia, l'incidenza di TAM varia dall' 1% al 65% e il tasso di mortalità complessivo si aggira intorno al 60%. L'insorgenza della microangiopatia trombotica è caratterizzata da un danno endoteliale diffuso che provoca la formazione di trombi a livello del microcircolo con fenomeni ischemici principalmente a carico del rene e del sistema nervoso centrale.

### *Come riconoscerla?*

Il quadro clinico consiste in anemia emolitica su base meccanica con aumento degli schistociti circolanti, ittero, piastrinopenia, danno renale e sintomi neurologici. La diagnosi precoce è importante per poter iniziare rapidamente un trattamento, prima che lo stabilirsi di un danno d'organo renda la prognosi più sfavorevole.

### *Quando contattare il centro di riferimento?*

In caso di comparsa di ittero e/o petecchie e/o oliguria/anuria e/o sintomi neurologici *sine causa* nota, si consiglia di contattare immediatamente il centro di riferimento trapiantologico.

### 1c. Cistite emorragica

La cistite emorragica è una complicanza maggiore del post-TCSE. Vengono riconosciuti due meccanismi eziopatogenetici:

I. l'effetto tossico dei farmaci impiegati nel ciclo di condizionamento sulle cellule della vescica;

II. le infezioni provocate da virus che interessano il tratto urinario.

La cistite emorragica da farmaci appare precocemente dopo trapianto ed il farmaco maggiormente implicato nella patogenesi è la ciclofosfamide, più raramente altri farmaci (es. ifosfamide).

La forma associata ad infezioni virali compare più tardivamente, in genere dopo il primo mese dal trapianto. I virus coinvolti sono il poliomavirus umano tipo BK o JC, l'adenovirus tipo 11 o il citomegalovirus.

#### *Come riconoscerla?*

La cistite emorragica può presentarsi in vario modo: dalla forma lieve con microematuria asintomatica alla forma grave con ematuria franca, anemizzazione rapida e formazioni di coaguli massivi endovesicali.

#### *Quando contattare il centro di riferimento?*

Sarebbe opportuno che il pediatra di famiglia presti particolare attenzione a disturbi urinari nel bambino post-TCSE ed esegua almeno un esame delle urine con stick nei casi sospetti. Si consiglia di contattare il centro trapiantologico nel caso in cui il paziente presenti ematuria franca ma anche in caso di occasionale microematuria riscontrata ambulatorialmente.

#### 1d. Infezioni

La causa principale di decesso post-TCSE nel bambino è rappresentata dalle infezioni. Il rischio di infezioni è correlato al grado di immunosoppressione ed alla presenza di GvHD. In base ai fattori di rischio infettivi è possibile individuare tre fasi (Figura 1):

- la fase pre-attecchimento, in cui prevalgono le infezioni batteriche, facilitate dalla grave neutropenia e dalla mucosite;
- la fase post-attecchimento, in cui l'alterazione della funzionalità linfocitaria predispone all'insorgenza di infezioni virali
- la fase tardiva, frequentemente caratterizzata da disfunzione del sistema immune con rischio di infezione o riattivazione di virus erpetici come pure infezioni da batteri capsulati.

I principali fattori di rischio per le infezioni post-TCSE sono il tipo e lo stato della malattia che ha portato al trapianto, le co-morbidità del paziente, il grado di

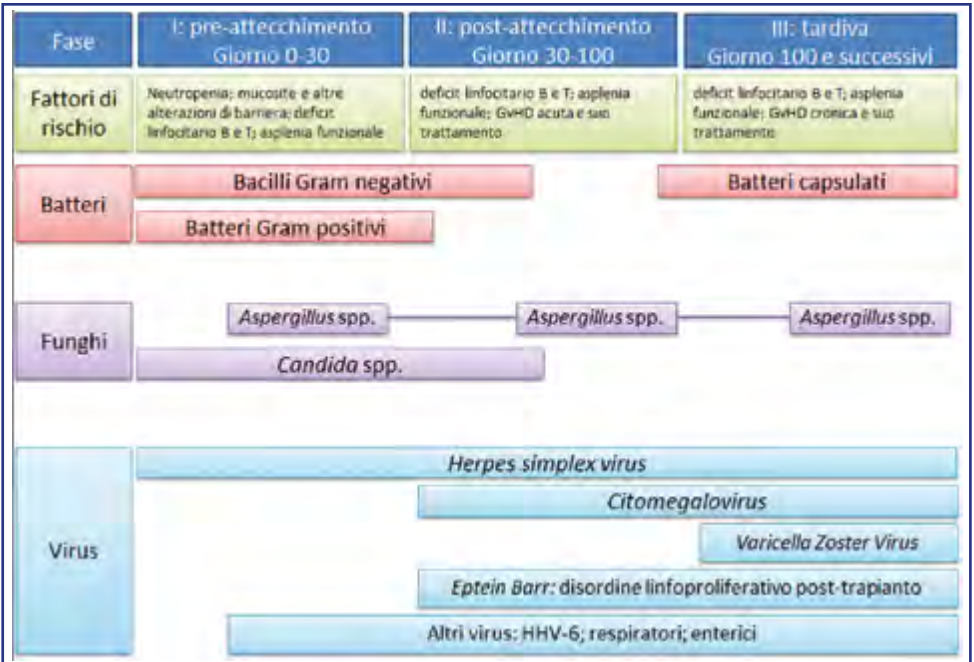


neutropenia e di compromissione della risposta immunitaria cellulo-mediata e lo stato delle barriere anatomiche di difesa (ad esempio per presenza di mucosite o inserzione di cateteri).

La ricostituzione dello stato immunitario dopo il trapianto dipende sia dal tipo di trapianto (autologo o allogenico), dalla fonte di cellule progenitrici (midollo osseo, sangue periferico o sangue cordonale), dal regime di condizionamento impiegato (mieloablattivo, ridotta intensità o non mieloablattivo), dal grado di istocompatibilità tra il donatore e il ricevente, e dal tipo di proflassi anti-GvHD, oltre che dalla presenza e il grado di GvHD. Alcuni pazienti possono presentare diversi gradi di immunodeficienza per mesi o anche per anni dopo il trapianto. In funzione di tutti questi molteplici fattori, quindi, è facilmente intuibile come la predisposizione ai diversi tipi di infezione e la risposta alle terapie antimicrobiche possano essere veramente ampie.

Schematicamente nella Figura 1 sono riassunte le diverse fasi post-TCSE, iniziale (0-30 giorni), intermedia (30-100 giorni) e tardiva (giorno 100 e successivi) con relativo rischio infettivo e patogeni di volta in volta coinvolti.

**Figura 1.** Cronologia delle infezioni predominanti dopo il trapianto di cellule staminali emopoietiche



Per la prevenzione delle infezioni, il lavaggio delle mani rappresenta al momento la forma di profilassi più efficace: si raccomanda perciò il più scrupoloso lavaggio delle mani sia per il bambino che per le che prestano assistenza. Gli schemi per la profilassi antinfettiva farmacologica nelle varie fasi variano fra i diversi Centri in relazione anche alla epidemiologia locale. In generale essa comprende solitamente farmaci antivirali (ad esempio aciclovir), antifungini (ad esempio fluconazolo) e antibatterici (ad esempio cotrimossazolo).

*Quando contattare il centro di riferimento?*

È importante contattare il centro per sospetta infezione in caso di febbre di grado elevato e/o persistente, sintomi respiratori, diarrea, eruzioni cutanee, disuria, stranguria o altri disturbi della minzione.

*1e. Graft versus Host Disease (GVHD)*

Tradizionalmente la GVHD viene clinicamente suddivisa in due forme distinte, la forma acuta (aGvHD) e la forma cronica (cGvHD).

La **aGvHD** è una reazione immunologica che può seguire il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche. La aGvHD è mediata prevalentemente da cellule T, di derivazione dalle cellule emopoietiche del donatore, e comporta una tempesta citochinica responsabile del danno d'organo. L'aGvHD tipicamente interessa cute, fegato e intestino.

*Come riconoscerla?*

Segni e sintomi sono vari e possono accompagnarsi a febbre.

- ▶ **Cute.** La cute è frequentemente interessata. Clinicamente può presentarsi con un rash eritematoso maculopapulare che coinvolge spesso inizialmente il palmo delle mani e la pianta dei piedi. Può essere pruriginoso o doloroso e progredire interessando tutta la superficie corporea.
- ▶ **Fegato.** Il fegato è spesso coinvolto con sintomi variabili, prevalentemente caratterizzati da un quadro di epatite colestatica di gravità variabile.
- ▶ **Intestino.** Il coinvolgimento intestinale può caratterizzarsi per nausea, vomito, diarrea acquosa o muco-ematica accompagnata da dolori addominali diffusi. Può evolvere fino all'ileo paralitico, ma talvolta, si manifesta anche solamente con un quadro di inappetenza protratta.



*Quando contattare il centro di riferimento?*

Contattare prontamente il centro in caso di rash cutaneo maculopapulare e/o ittero e/o diarrea profusa.

La **cGVHD** è una reazione immunologica che può seguire il trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche. Ha caratteristiche intermedie tra un processo autoimmunitario ed un'immunodeficienza. La causa più frequente di morte correlata a cGVHD è rappresentata dalle infezioni. La cGVHD si manifesta con quadri di tipo sclerodermico localizzati o generalizzati, lichen, sindrome secca orale o oculare, malassorbimento, epatopatia, fascite, miosite, contratture, bronchiolite obliterante e i più svariati quadri "autoimmuni".

*Quando contattare il centro di riferimento?*

Se il paziente sottoposto a TCSE dovesse presentare qualsiasi segno o sintomo sopraelencati e/o comunque una manifestazione di tipo auto-immunitaria, è raccomandabile contattare il centro trapiantologico per concordare il miglior percorso diagnostico-terapeutico.

## **2. Quali sono le principali complicanze tardive post-TCSE?**

Le complicanze tardive post trapianto possono interessare vari organi ed apparati e sono il risultato dell'interazione di vari fattori rappresentati da: l'effetto della patologia primitiva, la chemioterapia (dosi cumulative, modalità di somministrazione, timing) e/o radioterapia (età alla somministrazione, dose, campo e frazionamento) erogata sia durante il protocollo di prima linea che regime di condizionamento pre TCSE, alcune complicanze comparse dopo il TCSE e da una predisposizione individuale/genetica a sviluppare alcuni effetti tardivi. Si possono verificare danni diretti al singolo organo/apparato come pure danni generalizzati, senza tralasciare la possibile recidiva della malattia di base e la possibile comparsa di un secondo tumore. Il periodo di insorgenza è molto variabile e può andare da mesi fino ad anni dopo il TCSE. Per tale motivo queste complicanze possono essere osservate dal medico trapiantologo di riferimento ma nella maggior parte dei casi è il medico/pediatra di famiglia che deve tener presente queste problematiche al fine di contattare tempestivamente il centro di riferimento. Di seguito riportiamo in modo succinto le complicanze più frequenti suddivise per organo/apparato specificando fra parentesi se siano più di pertinenza del trapianto autologo o allogenico.

### 2a. Complicanze Cardiache (Autologo++, Allogenico++)

La principale complicanza cardiaca tardiva post-TCSE è l'**insufficienza cardiaca** che comporta una riduzione della contrattilità miocardica espressa come riduzione della frazione di accorciamento del ventricolo sinistro (FA<30%) o della frazione di eiezione (FE<50%), entrambe valutate mediante l'ecocolordoppler cardiaco.

Questo quadro di insufficienza cardiaca è dovuto principalmente alla somministrazione pre-TCSE di farmaci antraciclinici (dose cumulativa >240 mg/m<sup>2</sup>), ifosfamide e/o alla radioterapia mediastinica o alla presenza di altri fattori di rischio post TCSE.

Sarebbe opportuno valutare la funzione cardiaca almeno una volta l'anno o al massimo ogni due anni, in relazione alla dose cumulativa dei farmaci antraciclinici ricevuti e/o alla radioterapia.

### 2b. Complicanze Vascolari (Autologo+, Allogenico+++)

Quadri di pre-ipertensione e di ipertensione sono frequenti nei pazienti che sono stati sottoposti a chemio-radioterapia da almeno 3-5 anni. A tal riguardo sarebbe opportuno non limitarsi a una misurazione occasionale della pressione arteriosa ma è auspicabile l'effettuazione di un holter pressorio almeno una volta ogni 5 anni.

### 2c. Complicanze Endocrinologiche (Autologo+, Allogenico+++)

Le complicanze endocrinologiche sono soprattutto secondarie all'utilizzo della total body irradiation (TBI) e all'uso di farmaci chemioterapici in particolare busulfano e ciclofosfamide.

Le ghiandole più interessate sono le gonadi, la tiroide e l'ipofisi.

Un quadro di *sterilità* invece è purtroppo molto frequente sia nel sesso femminile che in quello maschile.

L'età al trapianto sembra avere una importanza fondamentale: più il paziente è giovane maggiori sono le probabilità di un recupero gonadico.

Le *complicanze tiroidee* sono anch'esse secondarie all'azione tossica della TBI e/o del busulfano e/o della ciclofosfamide. L'incidenza è di circa l'11% e di solito l'esordio è 2-3 anni dopo il TCSE.

La più comune forma di alterazione tiroidea è rappresentata da un ipotiroidismo compensato e asintomatico (TSH aumentato e FT4 normale).



Altre forme di disfunzione tiroidea riportate dopo TCSE sono la tiroidite di Hashimoto e la malattia di Graves.

Si consiglia pertanto, soprattutto nei pazienti a rischio di controllare almeno una volta all'anno la struttura (con ecografia) e la funzionalità tiroidea.

La radioterapia al cranio è stata da tempo riconosciuta come causa di *alterazioni della funzione di ipotalamo e ipofisi*. La crescita di statura di questi pazienti si caratterizza di regola con una prima fase di rallentamento, che coincide con il periodo della terapia, seguita da una seconda fase, a partire dalla sospensione della terapia, durante la quale si verifica un'accelerazione della crescita che può consentire anche un completo recupero della statura con il raggiungimento dei valori attesi in assenza di trattamento antitumorale. Questi pazienti devono essere seguiti con particolare attenzione in quanto le prime manifestazioni del difetto di GH possono essere subdole e presentarsi talvolta tardivamente. La gestione di tutte queste condizioni cliniche deve essere obbligatoriamente affidata ad endocrinologi e/o ginecologi con particolare esperienza e formazione per le specifiche problematiche.

#### 2d. Sindrome Metabolica (Autologo+, Allogenico+++)

Per sindrome metabolica si intende l'associazione di obesità centrale con aumento della circonferenza addominale, incremento del valore dei trigliceridi, bassi livelli di colesterolo HDL, ipertensione arteriosa, elevazione dei livelli glicemici a digiuno, o alterata tolleranza glucidica o diabete 2 (*Criteria of International Diabetes Federation 2007*).

È importante porre diagnosi precoce di questa situazione metabolica e instaurare un precoce trattamento farmacologico al fine di ridurre le complicanze vascolari (aterosclerosi) che aumenterebbero il rischio di eventi cardiovascolari acuti (infarto acuto del miocardio, ictus) in questi pazienti una volta raggiunta l'età adulta.

#### 2e. Complicanze neurologiche (Autologo+, Allogenico+++)

Le principali complicanze neurologiche tardive sono causate principalmente dal danno da TBI. Infatti, si possono talvolta riscontrare a distanza di anni delle modificazioni neuro-radiologiche evidenziabili con la risonanza magnetica nucleare (RMN) o con la tomografia assiale computerizzata (TAC).

Tali alterazioni sono la leucoencefalopatia (calcificazioni cerebrali) oppure la comparsa di angiomi cavernosi (cavernomi) e sono dovute all'azione iatrogena

della radioterapia sulla parete endoteliale. Queste alterazioni hanno spesso solo un'espressione neuroradiologica e non francamente clinica.

### 2f. Complicanze oculari (Autologo+, Allogenico+++)

Le complicanze oculari tardive sono rappresentate dalla cataratta e dalla cheratoconjuntivite secca. Tale complicanza si manifesta solitamente non prima di 5 anni dopo il TCSE e con una frequenza molto variabile (20-80%) a seconda del tipo di irradiazione ricevuta e a seconda del tipo di chemioterapico eseguito. Si consiglia pertanto di effettuare visite oculistiche ogni 2 anni circa per i primi 15-20 anni dopo il TCSE.

### 2g. Complicanze renali (Autologo+, Allogenico+++)

Le più frequenti complicanze renali sono quelle secondarie alla tossicità di alcuni farmaci utilizzati durante il TCSE come la ciclosporina, alcuni antibiotici, la ciclofosfamide, ecc. Si manifestano con l'alterazione transitoria dei parametri di funzionalità renale e sono completamente reversibili.

La malattia renale cronica è invece caratterizzata da una importante riduzione della velocità di filtrazione glomerulare, inferiore a 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>. La maggior parte dei pazienti con malattia renale cronica post-TCSE resta asintomatica nelle prime fasi ameno che non si effettuino regolari controlli della funzionalità renale. I pazienti sottoposti a TCSE devono controllare regolarmente (ogni anno) la pressione arteriosa ed effettuare almeno un esame chimico-fisico delle urine al fine di diagnosticare precocemente alterazioni della funzionalità renale.

### 2h. Complicanze epatiche (Autologo+, Allogenico+++)

Le principali cause di disfunzione epatica post-TCSE sono la cGVHD, il sovraccarico di ferro e le infezioni virali (HBV, HCV). Queste cause possono essere indipendenti oppure possono coesistere nello stesso paziente. Le manifestazioni possono esordire anche a distanza di molti anni dal TCSE e pertanto è opportuno mantenere uno stato di sorveglianza attiva anche per queste patologie.

### 2i. Complicanze respiratorie (Autologo+, Allogenico+++)

Le complicanze polmonari non infettive post-TCSE possono coinvolgere sia le vie aeree sia il parenchima polmonare. Sono molto frequenti e possono esordire tra i 3 mesi e i 2 anni dopo il trapianto anche se alcune forme possono esordire anche a distanza di molti anni. Le principali forme sono la Polmonite Organizzata Criptogenetica (POC), la Bronchiolite Obliterante – polmonite in organizzazione





(BOOP o BO) e la Fibrosi Polmonare Idiopatica (FPI). Queste complicanze si evidenziano soprattutto con una modificazione delle prove di funzionalità respiratoria. Pertanto, è necessario che tutti i pazienti che hanno ricevuto un TCSE allogenico e quelli che hanno ricevuto radioterapia sul torace o chemioterapia con busulfano, effettuino prove di funzionalità respiratoria inizialmente con cadenza annuale e successivamente ogni 2-3 anni. Inoltre, si devono incentivare i pazienti a svolgere regolare attività fisica con la finalità di mantenere la dinamicità della cassa toracica.

### 2l. Malattia linfoproliferativa post-trapianto (Allogenico++++)

Le malattie linfoproliferative post trapianto (*Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders* - PTLD) sono delle proliferazioni linfoidi o plasmocitiche che si sviluppano in seguito ad immunosoppressione in pazienti sottoposti a TCSE allogenico o di un organo solido. Il gruppo delle PTLD comprende uno spettro di lesioni che varia dalle proliferazioni policlonali legate in genere alla riattivazione del virus Epstein-Barr (EBV) fino alle proliferazioni clonali (associate o meno a EBV). Le PTLD mostrano un quadro molto variabile ed inizialmente i pazienti possono presentare sintomi non specifici quali stanchezza, sonnolenza, perdita di peso e febbre. Frequenti sono pure le linfadenopatie. Il quadro clinico dipende inoltre dagli organi coinvolti, quali per esempio polmoni, tratto gastrointestinale e fegato. Il sistema nervoso centrale è coinvolto raramente.

### 2m. Recidiva della malattia primitiva e secondi tumori (Autologo++, Allogenico++)

I pazienti sottoposti a TCSE autologo o allogenico devono necessariamente effettuare un adeguato follow-up oncologico definito dal centro di riferimento poiché hanno un rischio variabile dal 2% al 6% di sviluppare una neoplasia solida a 10 anni dal trapianto.

## **3. Gestione del catetere venoso centrale (CVC)**

Un presidio fondamentale nel percorso terapeutico dei bambini trapiantati è il posizionamento e l'utilizzo del CVC.

Un CVC è un presidio la cui estremità distale termina a livello del terzo inferiore della vena cava superiore o alla giunzione cavo-atriale o a livello della vena cava inferiore per i cateteri inseriti dalle estremità inferiori. La posizione della punta in una zona ad alto flusso permette un'ottimale emodiluizione garantendo la somministrazione in sicurezza di farmaci vescicanti, irritanti, chemioterapici,

iperosmolari. Il vantaggio di un catetere venoso centrale rispetto a una semplice ago cannula è ormai più che validato, soprattutto nei pazienti cronici o che necessitano di lunghe ospedalizzazioni o lunghe terapie endovenose, in quanto garantisce il risparmio del letto venoso del paziente e riduce il dolore, lo stress e l'ansia associata alle multiple venipunture.

La scelta del presidio idoneo per ciascun tipo di paziente nel più breve tempo possibile porta ad un miglioramento dell'*outcome* del paziente e si rivela vantaggioso nel rapporto costo-efficacia.

#### *Quali sono le complicanze CVC correlate?*

Le principali complicanze CVC-correlate sono le infezioni, le occlusioni e la rottura del CVC stesso.





#### Come riconoscere le complicanze CVC correlate?

È necessario monitorare quotidianamente il sito di emergenza del catetere, vivamente quando si cambia la medicazione o mediante palpazione attraverso la regolare medicazione a seconda della situazione clinica del singolo paziente. Se i pazienti hanno sensibilità sul sito di inserimento, febbre senza un'apparente causa o altre manifestazioni che suggeriscono un'infezione locale o sistemica, la medicazione deve essere rimossa per permettere l'esame approfondito del sito. Le infezioni localizzate al sito d'inserzione del CVC sono caratterizzate da uno più dei seguenti segni e sintomi:

- 】 arrossamento cutaneo,
- 】 tumefazione,
- 】 secrezione anomala o purulenta all'emergenza,
- 】 dolore,
- 】 cattivo odore.

Per la valutazione visiva dei segni di infezione e il relativo trattamento, utilizzare lo score clinico per i CVC indicato in Figura 2.



Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Cute sana, non segni di flogosi	Iperemia <1 cm al punto di uscita del CVC; +/- fibrina	Iperemia >1 cm e <2 cm al punto di uscita del CVC; +/- fibrina	Iperemia, secrezione, pus; +/- fibrina
			
Medicazione standard	Clorexidina gluconato a 0.5% in alcol isopropilico 70%, ogni 2 giorni	Eeguire tampone cutaneo; medicazioni ravvicinate. Clorexidina gluconato a 0.5% in alcol isopropilico 70%, ogni 2 giorni. Se il tampone è positivo, trattare con antibiotici.	Eeguire tampone cutaneo; medicazioni ravvicinate ogni 1-2 giorni. Trattamento antibiotico sistemico immediato.

**Figura 2.** Score clinico di valutazione per i CVC

Nei cateteri parzialmente impiantati (tunnellizzati) si deve valutare anche il tratto sottocutaneo del catetere; nei totalmente impiantati (Port) valutare sia il tratto sottocutaneo che la tasca.

*Quando contattare il centro di riferimento?*

In caso di score >1 e/o altri segni di complicanze, contattare prontamente il centro di riferimento.

#### **4. Quali vaccinazioni devono essere eseguite e quando?**

Il sistema immunitario dei pazienti sottoposti a TCSE viene alterato in seguito all'utilizzo di chemio-radioterapia pre-TCSE, al ciclo di condizionamento, alla terapia immunosoppressiva e all'eventuale comparsa di GvHD (TCSE allogenico).

Il paziente sottoposto a TCSE autologo non sviluppa frequentemente e rapidamente una immunodepressione come il paziente sottoposto a TCSE allogenico. Esistono, tuttavia, evidenze che importanti deficit immunitari siano possibili anche dopo TCSE autologo (soprattutto nei pazienti sottoposti a regimi di polichemio/radioterapia) e che la risposta alle vaccinazioni è simile a quanto avviene per il TCSE allogenico.

Considerata la compromissione del loro sistema immunitario, questi pazienti hanno un rischio maggiore di sviluppare infezioni e poiché negli ultimi anni stanno riemergendo tra la popolazione generale infezioni virali come il morbillo, la prevenzione delle infezioni mediante vaccinazione/rivaccinazione riveste un ruolo fondamentale nel migliorare la prognosi generale di questi pazienti.

Le vaccinazioni assolutamente raccomandate nei pazienti post-TCSE, con vaccini ricombinanti o con virus uccisi, sono quelle anti-*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, difterite, tetano, pertosse, poliomielite, epatite B e virus influenzali. Queste vaccinazioni sono sicure in questi pazienti ma, al fine di ottenere una risposta immunologica adeguata, dovrebbero essere somministrate solo se è stata confermata la completa remissione dalla patologia di base e ad almeno due settimane di distanza dalla somministrazione di immunoglobuline per via endovenosa (IVG).

In generale i **vaccini vivi attenuati** sono sostanzialmente controindicati nei primi 2 anni dal trapianto e non devono essere effettuati nei pazienti che ricevono terapia immunosoppressiva. Secondo alcuni autori, tuttavia, la vaccinazione antimorbillo, parotite, rosolia può essere somministrata solo in bambini che non abbiano un titolo anticorpale protettivo e senza condizioni cliniche a rischio (GvHD, terapia immunosoppressiva nei 3 mesi precedenti, linfociti T CD4+ <200 cell/μL).

**Sono controindicate le vaccinazioni con poliovirus orale, BCG e vaccino anti-tifoideo orale.**

Per alcune vaccinazioni non sono presenti indicazioni in letteratura o sono molto limitate, cosicché il loro utilizzo è a discrezione del centro di riferimento, in base a quanto stabilito per la popolazione generale dall'Istituto Superiore di Sanità (Epatite A, Papilloma Virus Umano e *Neisseria meningitidis* tipo A, C, W e Y).

## 5. Quando il bambino trapiantato può rientrare in comunità?

Il bambino sottoposto a TCSE autologo potrebbe rientrare in comunità tra i due e quattro mesi circa dopo il trapianto. Per il paziente sottoposto a TCSE allogeneo



nico, invece, il reinserimento in comunità deve essere valutato caso per caso in base al recupero della risposta immunologica ed in base alla presenza di complicanze correlate al trapianto. In genere questo non avviene prima dei 6-12 mesi e comunque richiede un preventivo accordo con il centro di riferimento.

## **6. È possibile fare attività sportiva?**

L'attività fisica migliora la qualità della vita, l'umore e la prestazione fisica dei bambini sottoposti a trapianto, riduce lo stress psicologico e l'astenia. In caso di piastrinopenia, ovviamente, sono da evitare le attività a rischio di trauma e può essere consigliato semplicemente camminare. In generale il nuoto è controindicato per il rischio infettivo ed è assolutamente da vietare nei portatori di CVC. Alcuni centri consigliano dopo la dimissione per la prima settimana riposo, con ripresa dell'attività fisica gradualmente nelle successive 3 settimane iniziando con passeggiate e cyclette e consigliano di non riprendere le attività sportive agonistiche per almeno 6 mesi. È opportuno, tuttavia, concordare con il Centro un programma personalizzato a questo proposito

## **7. È possibile tenere animali domestici?**

In generale sarebbe consigliabile non stare a stretto contatto con gli animali domestici per i sei mesi successivi al trapianto. Si consiglia comunque di mantenere gli animali in buona salute (controlli veterinari frequenti) e di evitare contatti con animali malati.

È sempre raccomandato l'accurato lavaggio delle mani dopo contatto con animali. Si consiglia inoltre di evitare le aree con stormi di uccelli e loro escrementi e vasche di pesci.

## **8. Il bambino trapiantato può viaggiare?**

I viaggi non indispensabili in luoghi esotici e che richiedano particolari vaccinazioni (ad esempio febbre gialla) sono sconsigliati. In ogni caso questi viaggi dovrebbero essere effettuati solo dopo la sospensione delle terapie immunosoppressive e in genere dopo 6-12 mesi dal trapianto o dallo spegnimento di una GvHD nel paziente che ha ricevuto un trapianto allogenico e 3-6 mesi nel paziente che ha ricevuto un trapianto autologo. In ogni caso sono raccomandate le precauzioni usuali per tutti i viaggiatori (attenzione all'ingestione di cibo

e acqua potenzialmente contaminato, evitare di assumere ghiaccio, ecc.) e di evitare di bagnarsi (anche solo i piedi) in laghi o stagni di acqua dolce, o camminare a piedi nudi.

### **Bibliografia essenziale**

- Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kröger N. The EBMT Handbook, Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies - 2019. [https://www.ebmt.org/sites/default/files/2019-01/2019\\_Book\\_TheEBMTHandbook.pdf](https://www.ebmt.org/sites/default/files/2019-01/2019_Book_TheEBMTHandbook.pdf)
- Kilicarslan Toruner E, Altay N, Kisecek Z. Determine the difficulties of home care in children following haematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2016;25:661-7.
- Ljungman P, Cordonnier C, Einsele H, et al. Vaccination of hematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation* 2009;44:521-6.
- Cordonnier C, Einarsdottir S, Cesaro S, et al. Vaccination of haemopoietic stem cell transplant recipients: guidelines of the 2017 European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL 7). *Lancet Infect Dis* 2019 Jun;19(6):e200-e212.
- Cesaro S, Muggeo P, Zama D et al. Consensus on COVID-19 Vaccination in Pediatric Oncohematological Patients, on Behalf of Infectious Working Group of Italian Association of Pediatric Hematology Oncology. *J Clin Med* 2022 Feb 24;11(5):1235.
- Area "Linee Guida e Consensus". Associazione Italiana Oncologia Ematologia Pediatrica. <http://www.aieop.org/web/index.php>.
- Lehrnbecher T, Robinson PD, Ammann RA et al. Guideline for the Management of Fever and Neutropenia in Pediatric Patients With Cancer and Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: 2023 Update. *J Clin Oncol* 2023 Mar 20;41(9):1774-1785.



## 13.2 L'APPROCCIO NUTRIZIONALE

*Margherita Caroli, Vito Leonardo Miniello, Giovanna Tezza, Maria Carmen Verga*

Nel Capitolo 10 è stato descritto come la malnutrizione possa essere responsabile di un quadro di immunodeficit.

Una relazione sinergica tra infezione e malnutrizione è stata suggerita per la prima volta nel 1968 dalla monografia dell'OMS "*Interactions of Nutrition and Infection*", che riportava numerose evidenze sia sull'effetto negativo delle infezioni sullo stato nutrizionale, sia, parimenti, sulla maggiore suscettibilità alle infezioni di individui malnutriti.

La tesi dell'OMS era che, per effetto di questa sinergia, gli esiti combinati della malnutrizione e dell'infezione fossero maggiori della semplice somma delle due. Le ricadute che le infezioni comportano sullo stato nutrizionale possono realizzarsi con diversi meccanismi: i più importanti e comuni sono sintetizzati nelle Tabelle 1 e 2.

**Tabella 1. Infezioni e stato nutrizionale**

Esiti nutrizionali delle infezioni	Patogenesi
<b>Anoressia</b>	Infezioni intercorrenti possono comportare consistenti diminuzioni nell'assunzione di cibo: se qualsiasi nutriente è già al limite o è carente nell'individuo, l'ulteriore riduzione dell'assunzione può rendere la carenza clinicamente più rilevante e sintomatica. <i>Pratiche culturali e terapeutiche.</i> La raccomandazione di mangiare poco o di digiunare in caso di febbre, diarrea o altri sintomi di infezione è una pratica molto diffusa che aggrava l'effetto dell'anoressia.
<b>Diminuzione dell'assorbimento intestinale</b>	Molte infezioni gastrointestinali sono associate al malassorbimento: le enteriti batteriche, virali e protozoariche e le parassitosi intestinali. Durante le malattie febbrili sistemiche, inoltre, si verifica anche malassorbimento di vitamina A.
<b>Perdite cataboliche</b>	Una risposta catabolica si verifica con tutte le infezioni anche quando sono subcliniche e non accompagnate da febbre. Sotto lo stimolo del rilascio di interleuchina 1 da parte dei leucociti si determina la mobilizzazione di aminoacidi dalla periferia, principalmente dal muscolo scheletrico. Gli aminoacidi sono utilizzati per la gluconeogenesi nel fegato e l'azoto rilasciato viene escreto nelle urine.
<b>Perdite anaboliche</b>	Durante l'infezione, gli aminoacidi sono utilizzati principalmente per la sintesi di immunoglobuline, linfochine, proteina C-reattiva e una varietà di altre proteine coinvolte nelle reazioni infiammatorie.

Esiti nutrizionali delle infezioni	Patogenesi
<b>Febbre</b>	La febbre aumenta il metabolismo basale del 13% per ogni °C. Durante un periodo di febbre alta, il metabolismo può aumentare di quasi un terzo. Una ulteriore perdita di azoto e amminoacidi si ha con il sudore, spesso dovuto alla defervescenza per il calo rapido della temperatura corporea.

**Tabella 2. Infezioni: alterazioni del metabolismo di macro e micronutrienti**

<b>Carboidrati</b>	<p>Le risposte cataboliche hanno la principale funzione di fornire i substrati aminoacidici per la gluconeogenesi.</p> <p>Con l'infezione acuta si verifica quindi una conversione continua del carbonio alanina in carbonio glucosio, anche quando l'apporto di carboidrati esogeni è adeguato.</p> <p>Tutti gli ormoni che regolano il metabolismo dei carboidrati partecipano alle risposte dell'ospite all'infezione. È stato documentato un aumento della concentrazione a digiuno sia di glucagone che di insulina nel siero. Nonostante la stimolazione iniziale della gluconeogenesi, il corpo può eventualmente sviluppare una grave ipoglicemia.</p> <p>L'ipoglicemia letale può svilupparsi in neonati settici in corso di epatiti virali gravi</p>
<b>Energia</b>	<p>Si stima che il costo energetico della sintesi di 1 g di proteine perse sia di 31 kJ (7,5 kcal) e quello per la sostituzione di 1 g di grasso sia di 48,5 kJ (11,6 kcal).</p> <p>Le perdite energetiche medie calcolate dalla sola perdita di proteine sarebbero comprese tra 17 e 21 kJ/kg/die (tra 4 e 5 kcal /kg/die). Questa perdita sembra piccola ma rappresenta il 14-29% del fabbisogno di un bambino di 1 anno di età.</p>
<b>Micronutrienti: vitamine A, C, gruppo B, ferro, rame, zinco</b>	<p>Le infezioni comportano una diminuzione dei livelli sierici di questi micronutrienti.</p> <p>Per quanto riguarda la vitamina C, la diminuzione delle concentrazioni plasmatiche e l'aumento dei livelli urinari si determinano anche a seguito delle vaccinazioni antimorbillo e antivaricella e dopo il comune raffreddore.</p> <p>La diminuzione del ferro sierico è causata dal suo sequestro nel sistema reticoloendoteliale: questo meccanismo priva l'agente infettivo del ferro per la sua replicazione ed inibisce la diffusione dell'infezione.</p>

Analogamente, per l'interazione sinergica tra nutrizione e immunità, specifiche carenze nutritive possono avere importanti ricadute non solo sui meccanismi di risposta immunitaria, ma anche sui meccanismi di difesa aspecifici, che includono la flora intestinale, le barriere anatomiche (pelle, mucosa ed epitelio), le so-





stanze secretorie come il lisozima, il muco e l'acido gastrico, la risposta febbrile, le alterazioni endocrine ed il legame del ferro sierico e tissutale nonché i sistemi antimicrobici nei neutrofili, come il *burst* respiratorio ed i sistemi indipendenti dall'ossigeno, come la lattoferrina, il lisozima, l'idrolasi e le proteasi.

Le funzioni delle cellule T sono più sensibili delle funzioni delle cellule B alla maggior parte delle carenze nutrizionali.

Tra queste, la *carezza proteico-energetica*, insieme alla *carezza di ferro*, è la più importante e frequente causa di alterata risposta immune, con aumento della frequenza e della gravità delle infezioni, perché la maggior parte dei nutrienti è direttamente o indirettamente coinvolta nella sintesi proteica così come la maggior parte delle risposte immunitarie coinvolge la produzione di proteine con funzioni specifiche.

Nei bambini il risultato è una riduzione della crescita e dello sviluppo.

## **Proteine**

Quasi tutti i meccanismi immunitari dipendono dalla replicazione cellulare o dalla produzione di composti proteici attivi, per cui nei bambini piccoli essenzialmente tutte le forme di immunità sono influenzate dalla malnutrizione proteico-energetica. Gli effetti includono una ridotta formazione di anticorpi, diminuzione delle immunoglobuline sieriche, diminuzione delle immunoglobuline secretorie A, diminuzione della funzione timica e dei linfociti splenici, ipersensibilità cutanea ritardata, diminuzione della formazione del complemento, diminuzione dell'interferone ed effetti sui meccanismi aspecifici che includono barriere anatomiche e sostanze secretorie come lisozima e muco.

Le concentrazioni di immunoglobuline nei soggetti malnutriti variano in base alle specifiche immunoglobuline, alla presenza ed al tipo di infezione concomitante, nonché in base alla natura ed alla gravità della carezza nutrizionale

## **Aminoacidi specifici**

Qualsiasi carezza di un aminoacido essenziale può provocare compromissione dell'immunità associata a carezza proteica. C'è stato anche un grande interesse per la possibilità che l'aggiunta alla dieta di alcuni aminoacidi possa migliorare la risposta immunitaria. In particolare, negli studi clinici, la somministrazione di arginina potenzia i fagociti dei macrofagi alveolari, deprime le cellule T *suppressor* e stimola le cellule T *helper*.

### **Micronutrienti: Vitamine, Zinco, Rame, Magnesio**

Bassi livelli di vitamine A, E, C, D, complesso B, come di zinco, rame e magnesio, comportano vari deficit immunitari, come ridotta attività delle cellule *natural killer*, minore produzione di interferone, alterata ipersensibilità cutanea ritardata, attività dei macrofagi meno efficace e minore risposta cellulo-mediata, formazione di anticorpi, atrofia del timo.

### **Ferro**

La carenza di ferro è oggi la carenza di nutrienti più diffusa nel mondo e negli studi clinici è costantemente associata a una maggiore morbilità da malattie infettive.

I meccanismi chiaramente identificati sono il ridotto potere di uccisione dei fagociti, una minore risposta alla stimolazione dei linfociti, un minor numero di cellule *natural killer* associate a una ridotta produzione di interferone e un'ipersensibilità cutanea ritardata depressa. Apparentemente la formazione di cellule B e di anticorpi non è influenzata.

### **Eccessiva assunzione di ferro e infezione**

Il ferro è necessario per un'ampia varietà di funzioni biochimiche non solo dell'ospite ma anche dell'agente infettivo.

Quando agli individui la cui resistenza alle infezioni è compromessa dalla carenza di ferro viene somministrato ferro per via parenterale o alte dosi di ferro per via orale, può verificarsi una disastrosa esacerbazione dell'infezione e la morte. Ciò accade perché il patogeno utilizza il ferro per la replicazione prima che il sistema immunitario dell'ospite abbia avuto il tempo di ripristinare le fisiologiche funzioni.

Per il bambino con immunodeficienza primitiva è quindi particolarmente importante una dieta corretta, che fornisca tutti i nutrienti necessari per la crescita e lo sviluppo. È altresì importante, la regolare valutazione dello stato nutrizionale, che prevede:

1. anamnesi nutrizionale,
2. valutazione della crescita con misurazione dei parametri antropometrici,
3. registrazione dell'assunzione di energia e nutrienti con diario nutrizionale,



4. indagini di laboratorio (Tabella 3). Ove possibile, possono essere utilizzate indagini strumentali accurate per la valutazione della composizione corporea, tra cui la densitometria assiale a raggi X (DEXA), di provata accuratezza.

**Tabella 3. Indici nutrizionali**

- 
- Emocromo
  - Elettroliti
  - Azotemia, Creatinina
  - Profilo lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi)
  - Profilo proteico (elettroforesi proteica, aminoacidemia, pre-albumina, *Retinol-binding protein*)
  - C4
  - Stato marziale (sideremia, ferritinemia, transferrinemia)
  - Dosaggio plasmatico di fattori nutrizionali specifici (es. vitamine, zinco)
- 

## Intervento nutrizionale

In alcuni casi può essere necessario un intervento nutrizionale prescritto da centri specialistici, con adeguato follow-up.

Al fine dell'appropriatezza dell'intervento sono stati proposti alcuni criteri, in base ai valori antropometrici integrati con la storia clinica essenziale:

- 】 crescita o incremento ponderale inadeguato per più di 1 mese in un bambino di età <2 anni;
- 】 perdita di peso o assenza di incremento ponderale per un periodo >3 mesi in un bambino di età >2 anni;
- 】 declino della velocità di crescita >2 cm / anno, rispetto all'anno precedente, nella fase precoce della pubertà e al centro della stessa;
- 】 declino del peso per l'età di 2 percentili;
- 】 declino della velocità di crescita >0,3 DS/anno;
- 】 plica tricipitale <5° percentile per l'età.

**In conclusione**, il pediatra deve conoscere le abitudini alimentari del bambino con immunodeficienza associata a problematiche di crescita, saper riconoscere quando è necessaria una valutazione dell'*intake* nutrizionale ed inviare il bambino presso un centro con specialisti della nutrizione per un corretto eventuale intervento dietetico ed un adeguato follow-up.

In assenza di scarso accrescimento o patologie associate (diabete, celiachia) il bambino con IEI non necessita di diete speciali ma di un regime alimentare appropriato per età.

Solo in caso di patologie acute sono necessarie correzioni dietetiche e uno stretto controllo del peso.

### **Bibliografia essenziale**

- Parvaneh N, Casanova JL, Notarangelo LD et al. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131:314-24
- Scrimshaw NS, SanGiovanni JP. Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. *Am J Clin Nutr.* 1997 Aug;66(2):464S-477S.
- Pieniawska-Śmiech K, Bar K, Babicki M, Śmiech K, Lewandowicz-Uszyńska A. Assessment of weight and height of patients with primary immunodeficiency disorders and group of children with recurrent respiratory tract infections. *BMC Immunol.* 2020 Jul 16;21(1):42.
- Olsen EM, Petersen J, Skovgaard AM, et al. Failure to thrive: the prevalence and concurrence of anthropometric criteria in a general infant population. *Arch Dis Child.* 2007;92:109–114.
- Stephens MB, Gentry BC, Michener MD, et al. What is the clinical workup for failure to thrive? *J Fam Pract.* 2008;57:264-6.
- Hendaus M, Al-Hammadi A. Failure to thrive in infants. *Georgian Med News.* 2013; 214: 48-54.
- World Health organization. The WHO Child Growth Standards. [www.who.int/childgrowth/standard](http://www.who.int/childgrowth/standard)
- WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr.* 2006;450:S76-85.
- Puntis JWL. Malnutrition and Growth. *JPGN* 2010;51:S125-26.



## 13.3 A CASA, A SCUOLA, IN VIAGGIO

*Alberto Martelli, Luigi Terracciano, Rosa Maria Dellepiane, Dora Di Mauro*

La recente pandemia di COVID19 ha ulteriormente sottolineato, se mai ce ne fosse stato bisogno, quanto siano importanti tutte le norme atte a ridurre le possibilità di contagio interumano. I bambini con immunodeficit e le loro famiglie conoscevano questi accorgimenti già molto tempo prima, perché la prevenzione delle infezioni, perlopiù respiratorie e gastrointestinali, riveste un ruolo determinante per questi bambini più vulnerabili.

**Occorre però ricordare che non tutte le immunodeficienze presentano la stessa gravità e non impegnano allo stesso modo genitori e familiari nella gestione della vita quotidiana. Tra gli obiettivi della cura delle immunodeficienze primitive vi è anche far sì che il paziente possa condurre una vita serena e normale.**

**Per gli IEI più gravi** è necessario che il paziente stia il più possibile senza infezioni: per questo potrebbero essere utili **alcuni esempi** con consigli, spesso solo di buon senso e di conseguenza proponibili facilmente a tutti i componenti della famiglia, agli educatori ed ai compagni di scuola.

### **A casa**

Igiene personale. Oltre alla pulizia quotidiana, è importante ricordare che la cute integra è la prima barriera per evitare infezioni, soprattutto da *Staphylococcus aureus*, talvolta anche meticillino-resistente. Nei bambini con associato eczema (deficit di IgA con allergia, Sindromi con Iper-IgE, sindrome di Wiskott-Aldrich) è importante mantenere la cute idratata seguendo, dopo accurata pulizia, le indicazioni del dermatologo e/o del curante. Nei bambini con Malattia Granulomatosa Cronica e nei deficit dei fagociti, anche solo numerici, è molto importante lavare profondamente ogni taglio o abrasione con acqua e sapone, proseguire con un antisettico e, infine, risciacquare con perossido di idrogeno (acqua ossigenata). Qualsiasi arrossamento o irritazione intorno all'area interessata o la presenza di pus o febbre devono essere comunicati al proprio medico al loro primo manifestarsi.

Pulizia delle mani. L'igiene delle mani è senza dubbio la misura più semplice ed efficace per prevenire le infezioni sia in ospedale che al proprio domicilio, come raccomandato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e dal Ministero della Salute. Essere consapevoli di questo messaggio è fondamentale non solo per il piccolo paziente con immunodeficienza ma per tutto il nucleo familiare e per gli adulti che accudiscono direttamente i bambini. Avere un comportamento corretto può infatti contribuire alla riduzione di molte malattie diffusibili per via oro-fecale e per contatto, che possono avere un decorso più grave nei bambini con con IEI: in questo modo; in questo modo è possibile far risparmiare loro un ricovero oppure una nuova infezione anche se trattabile a domicilio.

Quello che si esegue normalmente con acqua e sapone è chiamato lavaggio sociale o igienico delle mani e ha lo scopo di eliminare lo sporco visibile e rimuovere la flora microbica transitoria. Questa pratica è raccomandata per proteggere dalla trasmissione di infezioni da contatto per via aerea, attraverso le goccioline di Flügge ed anche per via oro-fecale (per esempio, le più comuni sono: influenza, infezione da Sars-CoV2, raffreddore, gastroenterite virale soprattutto da Rotavirus, e batterica, bronchiolite in particolare da Virus Respiratorio Sinciziale).

Il lavaggio si esegue prima di manipolare oggetti, giochi, farmaci, prima di preparare o servire alimenti, prima e dopo aver cambiato il pannolino, prima e dopo aver toccato una persona malata, prima di toccare occhi/naso/bocca (per esempio per usare lenti a contatto, lavare i denti, ecc.), prima e dopo aver toccato un animale, quando si rientra a casa, dopo aver maneggiato la spazzatura, dopo aver utilizzato soldi. È bene ricordare di lavare sempre le mani prima di mangiare. È poi necessario lavare le mani con acqua e sapone quando sono visibilmente sporche o contaminate con materiale proteico, con sangue o altri liquidi biologici e dopo l'uso dei servizi igienici. Il lavaggio sociale deve durare **dai 40 ai 60 secondi** perché sia efficace. Meglio usare sapone liquido contenuto in un dosatore, rispetto alla saponetta, dove per contatto possono rimanere i nostri germi. Il sapone liquido non è esposto all'aria e quindi non permette ai germi di proliferare, come invece può accadere sulla superficie della saponetta. Applicare il sapone su entrambi i palmi delle mani e strofinare sul dorso, tra le dita e nello spazio al di sotto delle unghie. È importante che le unghie siano tenute corte e arrotondate, poiché sotto le unghie si annidano e proliferano miceti e batteri.



Per lo stesso motivo è meglio evitare unghie artificiali o estensioni. Inoltre, le unghie lunghe e appuntite, naturali o artificiali, oltre a favorire la crescita di batteri, possono perforare facilmente i guanti e limitare le prestazioni degli operatori sanitari. Al termine del lavaggio asciugare le mani possibilmente con un asciugamano personale pulito o con carta usa e getta o con un dispositivo ad aria calda. Nella Figura 1 è riportata l'illustrazione del lavaggio sociale delle mani.

Per rimuovere i germi dalle mani è sufficiente il comune sapone, ma, in assenza di acqua, si può ricorrere ai cosiddetti *hand sanitizers* (igienizzanti per le mani), a base alcolica. Con gli igienizzanti a base alcolica sono sufficienti **20-30 secondi** per igienizzare le mani. Questi prodotti vanno usati quando le mani sono asciutte, altrimenti non sono efficaci.

Non mettere le mani in bocca non è solo una buona regola del *bon ton* ma, insieme al lavaggio delle mani, è una valida modalità di prevenzione delle infezioni trasmissibili prevalentemente per via oro-fecale, soprattutto enterobatteri, parassiti e protozoi.

È inoltre buona abitudine tossire/starnutare nella piega del gomito per non contaminare le mani con microrganismi che possono essere trasmessi ad altre persone tramite il contatto con superfici di vario genere (cellulare, maniglie, ascensore, ecc.). Viene inoltre raccomandato di utilizzare fazzoletti monouso per soffiare il naso, possibilmente eco-sostenibili, di smaltirli nei rifiuti e di lavarsi le mani subito dopo l'uso.

Figura 1. Indicazioni riguardanti l'igiene delle mani



## Come lavarsi le mani con acqua e sapone?

**LAVA LE MANI CON ACQUA E SAPONE, SOLTANTO SE VISIBILMENTE SPORCHE! ALTRIMENTI, SCEGLI LA SOLUZIONE ALCOLICA!**





**Durata dell'intera procedura: 40-60 secondi**



**0**  
Bagna le mani con l'acqua



**1**  
applica una quantità di sapone sufficiente per coprire tutta la superficie delle mani



**2**  
friziona le mani palmo contro palmo



**3**  
il palmo destro sopra il dorso sinistro intrecciando le dita tra loro e viceversa



**4**  
palmo contro palmo intrecciando le dita tra loro



**5**  
dorso delle dita contro il palmo opposto tenendo le dita strette tra loro



**6**  
frizione rotazionale del pollice sinistro stretto nel palmo destro e viceversa



**7**  
frizione rotazionale, in avanti ed indietro con le dita della mano destra strette tra loro nel palmo sinistro e viceversa



**8**  
Risciacqua le mani con l'acqua



**9**  
asciuga accuratamente con una salvietta monouso



**10**  
usa la salvietta per chiudere il rubinetto



**11**  
...una volta asciutte, le tue mani sono sicure.

**WORLD ALLIANCE**  
for PATIENT SAFETY

WHO acknowledges the Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), in particular the members of the Infection Control Programme, for their active participation in developing this material.



**World Health Organization**

October 2006, version 1.

All reasonable precautions have been taken by the World Health Organization to verify the information contained in this document. However, the published material is being distributed without warranty of any kind, either expressed or implied. The responsibility for the interpretation and use of the material lies with the reader. In no event shall the World Health Organization be held liable for damages arising from its use.





Lavare i denti. Un'accurata igiene orale è importante per tutti. In particolare, nei bambini con IEI è bene cercare di evitare la formazione di carie dentaria, parodontopatie e gengiviti, che possono essere il punto di partenza per la diffusione di infezioni batteriche sistemiche e di endocarditi. I bambini con deficit di produzione di anticorpi sono particolarmente suscettibili a infezioni del tratto gastrointestinale e respiratorio e ad alto rischio di carie dentaria, perdita dei denti e malattie gengivali. Lo *Streptococcus mutans*, in particolare, sembra essere il principale responsabile di carie dentaria, che può facilitare la perdita dei denti e, conseguentemente, un alterato stato di nutrizione. È fortemente raccomandato: effettuare visite di controllo dal dentista ogni 6 mesi; sciacquare la bocca con acqua sempre dopo aver bevuto o mangiato bevande o cibi dolci (meglio se entro 10 minuti, tempo considerato necessario per abbassare il pH orale a un punto critico che faciliterebbe l'attacco batterico) e masticare chewing gum con xylitolo (che previene l'aderenza batterica alla superficie dei denti e ha effetto inibitorio diretto sullo *Streptococcus mutans*; inoltre, la masticazione stimola direttamente la produzione di saliva, che aiuta nella pulizia dei denti riducendo il tempo di esposizione alle sostanze cariogene nella cavità orale). È inoltre ormai noto a tutti quanto sia utile considerare nel proprio stile di vita la possibilità di ridurre l'*intake* di cibi e bevande dolci, soprattutto nell'intervallo tra i pasti principali. Nei pazienti con malattia granulomatosa cronica (ma anche in tutti quelli con deficit dell'immunità innata e con rischio di infezioni invasive da *Aspergillus*) è consigliato lavare i denti due volte al giorno con perossido di idrogeno e pasta dentifricia al bicarbonato; risulta inoltre utile usare collutorio per ridurre la possibilità di gengiviti. Infine, è importante effettuare sempre le profilassi delle endocarditi, anche in assenza di cardiopatia, assumendo antibiotici prima e dopo qualsiasi trattamento ortodontico.

Attenzione ai contatti con recenti vaccinazioni con virus vivi attenuati. Le vaccinazioni dei familiari/conviventi di un bambino con immunodeficienza sono da raccomandare perché riducono il rischio di malattia al piccolo paziente. È bene però tenere presente che il paziente con immunodeficienza deve evitare contatti diretti con soggetti vaccinati con vaccini a virus vivo/vivo attenuato (es. Rotavirus e Varicella). Si ricorda di evitare anche il contatto diretto con familiari/conviventi che abbiano lesioni cutanee da *Herpes simplex* in atto. L'infezione erpetica, che si può contrarre per contatto diretto, soprattutto facilitata da lesioni cutanee, può essere tanto più grave quanto più importante è il difetto immunologico (soprattutto a carico della componente T cellulare).

Ambiente domestico. Per i pazienti con deficit dei fagociti e Malattia Granulomatosa Cronica si raccomanda di non tenere piante in casa (rischio di inalazione di muffe che spesso crescono nei terreni); se si posseggono fiori freschi è consigliabile aggiungere un cucchiaino di candeggina nell'acqua del vaso che li contiene per ridurre la formazione di muffa o alghe. Per tutti è bene evitare di toccare la terra delle piante con le mani nude per l'elevato rischio di contrarre un'infestazione intestinale da parassiti (ossiuri, *Enterobius vermicularis*, Tenia, *Giardia Lamblia*) anche se più a rischio sono i pazienti con agammaglobulinemia *X-linked*, CVID, SCID, deficit di IgA.

Inoltre, nell'ambiente domestico è indicato utilizzare un vaporizzatore, svuotandolo e lavandolo quotidianamente con candeggina per evitare la formazione di muffe. Infine, non si devono sollevare o spostare tappeti o mattonelle in presenza del paziente ed è necessario pulire a fondo gli ambienti prima di abitarli o dormirci.

Animali domestici. A meno che non ci siano problemi specifici di allergia, gli animali domestici sono tollerati ma è importante non utilizzare la segatura per la lettiera; assicurarsi che essi siano in regola con le vaccinazioni previste; effettuare controlli frequenti dal veterinario per prevenire e curare precocemente le infestazioni da *Toxoplasma gondii*, *Bartonella*, *Leishmania*, *Toxocara canis*; mantenere pulite l'acqua nelle ciotole e la lettiera (precauzione consigliata per evitare inalazione di muffe, soprattutto nella Malattia Granulomatosa Cronica). Ricordare che i pappagalli possono veicolare la *Chlamydia psittaci*. I pazienti con deficit immunitari caratterizzati da difetto di collaborazione tra linfociti B e T, tra cui anche la sindrome da iper-IgM, sono maggiormente a rischio di infezioni da opportunisti quali *Pneumocystis jiroveci*, *Cryptosporidium species* (infezione cronica che può provocare diarrea persistente, arresto della crescita e calo ponderale, colangiopatia), *Toxoplasma gondii* e *Cryptococcus neoformans* (interessamento cerebrale diffuso) e *Mycobacteria species*. Per questi pazienti è bene consigliare di ridurre al minimo il contatto con cuccioli (gatti e cani) e di evitare il contatto con animali da fattoria (soprattutto agnelli e vitelli).

Attenzione all'acqua. Nei pazienti con deficit combinati e nella sindrome da iperIgM vi è un alto rischio di infezioni da *Cryptosporidium species*. Per ridurre il più possibile le infezioni da *Cryptosporidium* è bene bere solo acqua in bottiglia oppure acqua bollita o filtrata con filtri professionali con pori di grandezza <1µm; inoltre, si consiglia di evitare nella prima infanzia la piscina e il nuoto



nei laghi (il nuoto è permesso in piscina per età superiore a 5 anni). Infine, è bene indagare la causa di tutti gli episodi di diarrea (specificarne la ricerca in laboratorio).

Evitare di mangiare prodotti non sicuri. A meno che non vi siano problemi di allergie o intolleranze alimentari, si può mangiare di tutto. Il buon senso ci dice di non assumere prodotti artigianali non sicuri (per esempio il gelato, il pesce crudo e il pesce di origine non sicura, per rischio di tossinfezioni e parassitosi - anisakis), la carne cruda e il salame artigianale (rischio di parassitosi intestinale e toxoplasmosi), il latte non pastorizzato (rischio di tubercolosi e brucellosi), i formaggi prodotti da latte non pastorizzato (brucellosi, echinococchi) e i prodotti avanzati da più giorni anche se conservati in frigorifero (pericolo di muffe per Malattia Granulomatosa Cronica).

Non fumare. Il tabacco contiene *Aspergillus*; è inoltre ben noto che il fumo passivo è un fattore favorente le infezioni respiratorie ricorrenti, che sono più frequenti tra i bambini che vivono in famiglie in cui almeno un adulto fuma. Eseguire con costanza e regolarità, se prescritti, lavaggi nasali e fisioterapia respiratoria secondo le indicazioni personalizzate del medico di riferimento e del fisioterapista.

Informare immediatamente il proprio medico ad ogni episodio di febbre.

## **Attività fisica**

L'Organizzazione Mondiale della Sanità sottolinea come un adeguato e regolare esercizio fisico e sane abitudini alimentari siano fondamentali per mantenersi in buona salute. Sport e attività fisica sono i presupposti fondamentali per condurre una vita in benessere. L'attività fisica induce infatti una serie di modificazioni benefiche per l'organismo e per la sfera psicoemotiva favorendo anche la socializzazione. Essa ha anche un effetto positivo sulla ventilazione polmonare e sul rapporto ventilazione/perfusione. Nelle immunodeficienze primitive, soprattutto a carico dell'immunità umorale, la terapia sostitutiva con immunoglobuline ha portato a grandi progressi nella cura, con drastica riduzione delle gravi infezioni delle basse vie respiratorie, che purtroppo non impediscono l'instaurarsi di broncopneumopatia cronica per l'impossibilità di sostituire le IgA e le IgM a livello delle mucose. Da qui nasce l'importanza della

fisioterapia respiratoria quotidiana e dei lavaggi nasali proposti a tutti i pazienti con immunodeficienza umorale dal momento della diagnosi, che sono da effettuare costantemente anche in benessere. I pazienti con stili di vita attivi hanno una progressione più lenta della malattia respiratoria. L'attività sportiva è perciò da consigliare sicuramente anche nei pazienti con immunodeficienza primitiva. In diversi studi è stato riscontrato un miglioramento della situazione respiratoria in pazienti che praticano regolarmente un'attività sportiva e come questo vantaggio venga perso dopo la sospensione dell'attività fisica. In pazienti con patologie ostruttive l'attività fisica può aumentare l'espettorazione e modificare alcuni parametri di funzionalità respiratoria. La scelta dello sport dipende da diversi fattori, personali e ambientali, ma anche dalla situazione clinica del paziente; per tali motivi andrebbe discussa con i medici e i fisioterapisti. Chi ha deficit immunitari può praticare la maggior parte degli sport, comunque il criterio di scelta deve rispettare l'inclinazione personale. Quello che conta è che il paziente possa impegnarsi nel suo sport preferito. Le limitazioni all'attività sportiva sono legate alla gravità delle patologie intercorrenti e fanno parte della valutazione eseguita dal fisioterapista e dal medico durante le visite mediche.

### **Precauzioni all'aperto**

Evitare granai, grotte e altre aree polverose o umide (pericolo *Aspergillus*). Per evitare l'inalazione di una ingente quantità di funghi, si consiglia di non lavorare in ambienti con muffa, fieno, schegge di legno, erba tosata e altri scarti di erba o legna che appaiano marci o con funghi. Non utilizzare campi da gioco con trucioli di legno ma con superficie liscia o ghiaia. Se si pratica del giardinaggio cercare di indossare una mascherina per filtrare l'aria (pericolo *Aspergillus*). Proteggere le mani se si deve toccare direttamente la terra per evitare di contrarre infestazione intestinale da parassiti (ossiuri, *Enterobius vermicularis*, Tenia, *Giardia Lamblia*) anche se più a rischio sono i pazienti con Agammaglobulinemia, CVID, SCID e deficit di IgA. L'attenzione all'acqua deve essere rivolta anche durante il gioco all'aperto, come in giardino e nel cortile di casa. Spesso i bambini giocano con l'acqua delle fontanelle e, se non controllati da un adulto, anche con l'acqua delle pozzanghere. Preoccupazione dei genitori e degli educatori deve essere quella di assicurare ai bambini un luogo sano e sicuro per il gioco.



## A scuola

Affinché la frequenza scolastica sia la più serena possibile è necessaria la condivisione delle informazioni sanitarie del proprio figlio/a con gli insegnanti, il dirigente scolastico, il medico scolastico se presente. È necessario far conoscere le relazioni cliniche aggiornate ed i contatti con il pediatra di famiglia e gli specialisti che seguono l'alunno. Ricordiamo che nel bambino con immunodeficienza risulta ancora più categorico l'allineamento a tutte le vaccinazioni, obbligatorie e raccomandate, con la nota eccezione delle vaccinazioni con virus vivi attenuati. Queste ultime devono però essere eseguite nel nucleo familiare per riverberarne la protezione sul bambino fragile.

## In viaggio

L'ampia possibilità di raggiungere paesi lontani in poche ore rappresenta uno dei traguardi raggiunti della nostra società. Tuttavia, i viaggi devono essere intrapresi con una certa prudenza dai bambini con immunodeficienza e dalle loro famiglie.

Sicuramente si devono prediligere i paesi sviluppati, evitando quelle zone del mondo che non forniscono garanzie igieniche sufficienti alla tutela della salute. Il viaggio deve essere organizzato con largo anticipo ed è raccomandato informare il proprio pediatra di famiglia almeno qualche settimana prima della partenza in modo che possa valutare la necessità di somministrare vaccini, intraprendere profilassi antibiotica specifica nonché identificare eventuali controindicazioni. Il pediatra di famiglia informerà i genitori sui rischi e sulle patologie più comuni che possono essere contratte in quel determinato Paese.

Prima della partenza è bene procurarsi i farmaci necessari per tutto il periodo di vacanza ed anche oltre. È raccomandabile ripartire i farmaci indispensabili tra bagaglio a mano e stiva, in modo da non rimanere scoperti in caso di bagaglio smarrito.

Se il viaggio prevede una variazione di fuso orario di poche ore, bisognerà aggiornare subito l'orario dei farmaci. Se la variazione di fuso orario è molto elevata, sarà necessario riprogrammare gradualmente l'orario di assunzione dei farmaci, eventualmente anche su indicazioni del centro specialistico di riferimento. Se necessario lo stesso centro rilascerà un certificato attestante la condizione di immunodepressione e la terapia in corso.

Il bambino immunodepresso che viaggia dovrebbe aver eseguito le vaccinazio-

ni di routine secondo il piano vaccinale del proprio Paese. Talvolta può essere necessario introdurre variazioni al calendario vaccinale, in modo da anticipare la protezione prima della partenza. In generale, le vaccinazioni di routine per i viaggiatori internazionali (a seconda del paese da visitare) sono per febbre gialla, tifo, colera, epatite A, meningococco A, C, W135, Y, encefalite giapponese, meningoencefalite da zecca, rabbia e tubercolosi. Verificare con lo specialista di riferimento quali vaccinazioni non possono essere eseguite, in base alla patologia individuale.

### **Cosa mettere in valigia**

- Farmaci utilizzati abitualmente, in quantità sufficiente per tutta la durata del viaggio ed eventualmente un 10% in più per fronteggiare eventuali imprevisti
- Farmaci e presidi di uso comune che potrebbero non essere disponibili nel Paese di destinazione
- *Pep mask* per chi la utilizza abitualmente al domicilio
- Antibiotico ad ampio spettro
- Soluzioni reidratanti orali e probiotici
- Soluzioni disinfettanti e gel disinfettante per le mani
- Analgesici e antipiretici
- Pomate cortisoniche contro punture di insetti
- Anticinetosici contro mal d'auto, d'aereo, di mare
- Prodotti antizanzare (eventualmente anche zanzariera per lettino)
- Creme solari ad alta protezione
- Certificato di patologia del centro di riferimento con eventuale terapia in corso (eventualmente tradotto in inglese)

Attenzione a cosa si mangerà durante il viaggio. La “diarrea del viaggiatore” è infatti tra le patologie infettive più diffuse durante un viaggio internazionale, soprattutto in Asia, Medio Oriente, Africa, Messico e America Centro-Meridionale. Nel 90% dei casi questa patologia insorge nei primi 14 giorni del viaggio e si manifesta con diarrea acquosa spesso con emissione di feci mucose o ematiche, talvolta si associano febbre, vomito e crampi addominali. Nei bambini immunocompetenti la risoluzione è spontanea e avviene nel giro di pochi giorni mentre nei bambini immunocompromessi il decorso clinico può essere



grave, prolungato, con il rischio di complicanze e necessità di ricovero. Pertanto, in questi bambini la prevenzione è fondamentale. È necessario rispettare semplici regole:

- 】 bere solo acqua e bevande contenute in bottiglie sigillate,
- 】 evitare l'uso di ghiaccio nelle bevande,
- 】 consumare solo latte bollito o pastorizzato
- 】 evitare di assumere verdura cruda e frutta con la buccia,
- 】 evitare uova, pesce e carne non cotte, gelati, dolci cremosi, budini e i succhi di frutta preparati artigianalmente,
- 】 utilizzare acqua confezionata in bottiglia anche per l'igiene orale,
- 】 evitare l'uso di bagni pubblici.

La somministrazione profilattica di probiotici può essere utile per ridurre il rischio di colonizzazione intestinale da parte di agenti patogeni. Le soluzioni reidratanti orali potrebbero non essere disponibili in alcuni paesi ed è quindi importante portarle con sé in valigia.

In generale, i bagni in mare non comportano rischi di malattie infettive. Si raccomanda tuttavia di effettuare bagni solamente in zone turistiche attrezzate e indossare scarpette per proteggersi dalle punture di pesci, ricci, crostacei e coralli. Le acque dolci possono invece veicolare numerose infezioni e infestazioni parassitarie (leptosirosi, legionellosi, shigellosi, criptosporidiosi, ciclosporiasis, amebiasi) e andrebbero quindi evitate, soprattutto in aree a basso tenore igienico-sanitario e in zone endemiche per patologie veicolate dalle acque (es. schistosomiasi).

Cosa fare al rientro a casa? Importante ricordare che diverse malattie, come malaria e parassitosi intestinali, possono manifestarsi anche dopo giorni o settimane dal rientro. È essenziale consultare il pediatra curante in presenza di febbre, diarrea persistente, vomito, ittero, sintomi urinari, manifestazioni cutanee. In particolare, è bene sapere che la febbre al ritorno da un'area ad endemia malarica rappresenta una possibile emergenza medica ed è necessario consultare immediatamente il proprio curante.

## Quando il bambino con immunodeficienza diventa allergico

La prevalenza delle malattie allergiche pediatriche è aumentata nelle ultime decadi, pertanto risulta più probabile la possibilità che due patologie differenti, quali l'immunodeficienza e l'allergia, possano coesistere. In realtà entrambe hanno una radice comune nel sistema immunitario, anche se la prima è determinata da un deficit quantitativo o funzionale di alcune componenti del sistema immunitario e la seconda da una disregolazione dello stesso.

In rare occasioni le patologie possono concomitare, per esempio nel deficit di IgA e in alcuni casi di sindromi da Iper-IgE. Sono comunque pochi i dati epidemiologici sulla presenza contemporanea di immunodeficienza e allergia. Nello studio dell'*US Immunodeficiency Network* (USIDNET) è stata valutata la prevalenza di allergie alimentari e di dermatite atopica nel bambino con immunodeficienza, che risultano però meno rappresentate in questi pazienti rispetto alla popolazione pediatrica immunocompetente.

Le domande che il pediatra deve porsi di fronte a un bambino con immunodeficienza e successiva comparsa di allergia sono perlopiù rivolte a due aspetti particolari: l'uso dello steroide inalatorio od orale, in relazione alla possibile ulteriore immunodepressione conseguente, e l'utilizzo dell'immunoterapia specifica (ITS) per inalanti nel bambino con rinite e/o asma bronchiale allergica.

## Uso degli steroidi nel bambino con immunodeficienza

La terapia con steroidi è sempre vista dai genitori con un certo scetticismo tanto che è stato coniato il termine *ad hoc* di steroidofobia. Questa riluttanza all'uso può essere ancora più avvertita dai genitori di un bambino con immunodeficienza che possono avere in mente il concetto dell'immunodepressione indotta da steroidi. In questi casi una corretta e attenta comunicazione da parte del pediatra può risultare risolutiva. Infatti, è ben noto che il trattamento a lungo termine con steroidi sistemici esercita effetti immunosoppressivi sul sistema immunitario cellulare e aumenta la suscettibilità a tutti i tipi di infezioni intracellulari. I corticosteroidi inalatori sono il trattamento cardine per la rinite e l'asma nel lungo periodo e sono generalmente accettati come sicuri, con minimo assorbimento sistemico. Anche se questi farmaci sono di solito utilizzati per lunghi periodi e, talvolta, in dosi elevate, vi è scarsa evidenza del loro impatto sull'immunità cellulo-mediata, l'immunità innata e antivirale. Mentre i benefici immediati del trattamento con corticosteroidi derivano da modificazioni vascolari di breve durata e da una limitata immunosoppressione, il





trattamento di lunga durata con glucocorticoidi (GC) o con dosi elevate ha alcuni effetti collaterali che possono coinvolgere numerosi apparati. Nei meccanismi fisiologici del nostro organismo i GC occupano un posto di rilievo, in quanto si dimostrano essenziali per controbilanciare gli effetti pro-infiammatori di citochine, chemochine e altre molecole, sintetizzate in risposta a un evento infiammatorio o di altra natura. La loro azione regolatrice viene quindi a essere analoga a quella di molti altri sistemi, attivanti e inibenti, presenti nel nostro organismo. Ma questo effetto molteplice dei GC può determinare, oltre agli effetti favorevoli, anche degli effetti contrari, come l'immunosoppressione, l'inibizione della guarigione delle ferite e molte altre alterazioni sistemiche.

Le Linee Guida non raccomandano, nel trattamento dell'asma e della rinite allergica, dosi diverse di steroidi nel caso in cui il bambino sia portatore di immunodeficienza. Ciononostante, le Linee Guida vanno sempre adattate, con buon senso clinico ed equilibrio, al singolo bambino, cercando di definire sempre la terapia meglio tollerata e più efficace, ricorrendo ad una terapia personalizzata.

Pertanto, specie nei bambini che si ammalano spesso, si potrà valutare la possibilità di eseguire una terapia di fondo con antileucotrieni, riducendo, nello stesso tempo, la dose di steroidi inalatori per avere comunque una terapia combinata ma volta a ridurre l'effetto immunosoppressore dello steroide ad alto dosaggio. Anche nei casi di bambini con immunodeficienza e concomitante rinite allergica si potrà ricorrere a dosi più basse di steroidi nasale, associando altri farmaci attivi sulla rinite.

Si dovrà anche considerare la possibilità di iniziare un percorso di *immunoterapia specifica (ITS)* da eseguire solo in casi molto selezionati e presso Centri di terzo livello con esperienza in casi simili. L'ITS è in gran parte capace di ridurre l'utilizzo di steroidi inalatori perché determina, nella maggioranza dei casi trattati, un netto miglioramento della sintomatologia, già nel corso del trattamento. Questo effetto porta con sé una riduzione nell'impiego dei farmaci, steroidi compresi.

Per il futuro, senza ricorrere agli steroidi od utilizzandoli in misura minore, si potranno sempre più utilizzare i *farmaci biologici*, che presentano un eccellente profilo di efficacia e tollerabilità, anche a lungo termine. La futura riduzione dei costi, associata alla possibilità di poter effettuare la terapia a domicilio con autoiniettori facilitati, potrebbe comportare un utilizzo più diffuso di queste terapie.

Un'altra opzione, auspicabile, come già descritto molti anni orsono, è quella

che possa portare alla preparazione di *GC modificati* provvisti di effetti terapeutici, senza presentare effetti collaterali. Per ora però molecole con queste caratteristiche non sono ancora state sintetizzate. Inoltre, le componenti multifattoriali della resistenza ai GC nell'asma rimangono poco chiari. Inutile dare steroidi inalatori a bambini con asma che non rispondono a tali trattamenti, a maggior ragione se sono affetti anche da immunodeficienza. Escludendo la mancanza di compliance al trattamento, la farmacocinetica anomala e rari difetti genetici dei recettori, la maggior parte della resistenza ai GC nell'asma è attribuita a un difetto secondario di funzione dei recettori per GC. Attraverso la proteomica potremo meglio comprendere i meccanismi di efficacia o resistenza a questa terapia. Infatti, la proteomica consiste nell'identificazione sistematica di proteine e nella loro caratterizzazione rispetto a struttura, funzione, attività, quantità e interazioni molecolari, pertanto esiste la possibilità di identificare *biomarker* di GC-resistenza attraverso studi di proteomica funzionale. Questo potrebbe facilitare l'identificazione dei fenotipi allergici *responder* ai GC.

## **La scelta dell'immunoterapia specifica nel bambino allergico con immunodeficienza**

L'immunoterapia allergene specifica (ITS) è ampiamente raccomandata dalla letteratura internazionale perché, grazie alla sua efficacia, è l'unico strumento terapeutico capace di modificare la storia naturale della malattia allergica. Pertanto, l'immunoterapia è una terapia eziologica che può modificare la storia naturale delle malattie allergiche, a differenza della terapia farmacologica tradizionale che agisce solo sui sintomi e non sulla causa scatenate gli stessi. L'ITS è definita come la somministrazione di dosi scalari progressivamente crescenti di un estratto allergenico al soggetto allergico, con lo scopo di ridurre la sintomatologia provocata dall'esposizione naturale all'allergene stesso. L'ITS fu introdotta per la prima volta nella pratica clinica per il trattamento della pollinosi da Noon e Freeman nel 1911. L'efficacia clinica dell'ITS deriva attualmente dalla possibilità di ottenere dei prodotti allergenici altamente standardizzati: la qualità del prodotto utilizzato è importante per ottenere dei risultati clinicamente validi. Percorrendo queste finalità, l'AIFA sta realizzando un meccanismo regolatorio per la commercializzazione di questi prodotti, considerati ormai farmaci a tutti gli effetti, che possa essere sempre più accurato. L'indicazione all'ITS è costituita dalle sindromi allergiche respiratorie (asma, rinite, congiuntivite) provocate da reazioni IgE-mediate verso allergeni respiratori. Attualmen-



te la diagnostica molecolare ha consentito non solo la possibilità di effettuare diagnosi di precisione, ma anche di poter meglio definire nei confronti di quali pazienti potrebbe essere più efficace l'ITS.

Negli IEI generalmente l'ITS è controindicata anche se, nel *Position Paper* dell'*European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI), vengono definite controindicazioni relative e non assolute. Ogni immunodeficienza, infatti, ha un impatto e un meccanismo patologico diverso. Per esempio, il deficit di IgA (la più comune immunodeficienza primaria) è spesso non diagnosticato e, in molti casi, probabilmente l'ITS è stata prescritta in pazienti con tale immunodeficienza non indagata.

Per quanto riguarda le immunodeficienze acquisite, uno studio ben articolato ha dimostrato la sicurezza e l'efficacia dell'ITS sublinguale con i *tablet* di un mix di 5 graminacee in soggetti adulti affetti da HIV e in trattamento con terapia antiretrovirale. Occorrerà valutare anche casistiche pediatriche.

Numerose sono le *Consensus* che definiscono le categorie di pazienti nei quali attualmente l'ITS è controindicata: spesso, però, il motivo di questa controindicazione non è fondato su evidenze scientifiche ma su preconcetti e misure precauzionali. Questo è vero soprattutto nella popolazione pediatrica.

### **Bibliografia essenziale**

- Yousefi H, Aghamohammadi A, Rezaei N. Clinical recommendations for oral management of patients with primary antibody deficiencies. *Expert Rev Clin Immunol* 2016;12(4):359-60.
- Shearer WT, Fleisher TA, Buckley RH, et al. Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(4): 961-6.
- Brivio A, Cerruti C, Foa M, Lopopolo MA. La Fisioterapia Respiratoria nelle Immunodeficienze primitive. Quaderni sulle Immunodeficienze primitive N-8. Associazione Immunodeficienze Primitive - AIP Onlus. Maggio 2011.
- van Warmerdam J, Campigotto A, Bitnun A, et al. Invasive Pneumococcal Disease in High-risk Children: A 10-Year Retrospective Study. *Pediatr Infect Dis J.* 2023;42:74-81.
- Tuano KS, Orange JS, Sullivan K, et al. Food allergy in patients with primary immunodeficiency diseases: prevalence within the US Immunodeficiency Network (USIDNET). *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(1):273-5.
- Bahceciler NN. Does inhaled corticosteroid treatment result in a secondary immune deficiency predisposing to recurrent infections? *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2012;11(3):217-20.
- Pazdrak K, Kurosky A. Functional proteomics for the characterization of impaired cellular responses to glucocorticoids in asthma. *Adv Exp Med Biol* 2014; 795: 255-70.
- WHO Position paper. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998;53:S1-S41.
- Incorvaia C, Moingeon P, Buttafava S, et al. Focusing the mechanism of action to dissect the different treatments of respiratory allergy. *Expert Rev Clin Immunol* 2015;11(9):1005-13.
- Pitsios C, Demoly P, Bilò MB, et al. Clinical contraindications to allergen immunotherapy: an EAACI position paper. *Allergy* 2015;70(8):897-909.

## 14. TRANSIZIONE E IEI

---

*Michele Fiore, Lucia Leonardi, Maria Carmen Verga, Antonino Trizzino*

La gestione del paziente adolescente con IEI rappresenta una sfida significativa per il clinico e per il SSN, dovuta alla coesistenza di 3 problemi:

1. le peculiarità del paziente adolescente,
  2. l'assenza di figure professionali specifiche per questa età,
  3. gli IEI sono malattie in genere rare e croniche.
- 

L'adolescenza può essere definita come la "fase di passaggio tra infanzia ed età adulta". In realtà, questa definizione potrebbe essere riduttiva se si considera che l'adolescenza è un periodo abbastanza lungo e importante della vita. È riconosciuto che molte delle caratteristiche biologiche e neuropsicologiche degli adolescenti, così come le loro principali cause di morbilità e mortalità, hanno proprie specificità che le differenziano sia da quelle dell'infanzia che da quelle dell'adulto.

Nel processo di transizione verso l'età adulta entrano in gioco ed interagiscono tra loro fattori di natura biologica, psicologica e sociale.

Durante l'adolescenza avvengono profondi cambiamenti sia di tipo comportamentale e sociale che fisico e mentale. Fra le varie problematiche legate all'adolescente, in qualità di individuo, la ricerca della propria identità, il forte desiderio di indipendenza, l'identificazione con il gruppo dei pari sono quelli che caratterizzano maggiormente gli aspetti sociali e inter-relazionali (sia intrafamiliari che extra) di questa epoca della vita.

### **Adolescenza e IEI: aspetti psicologici post-diagnosi e rischi associati**

La diagnosi di IEI in un paziente adolescente ha un impatto psicologico che è generalmente predominante nella sua severità rispetto al quadro clinico. In questa fascia d'età, infatti, raramente si osservano criticità cliniche impattanti sulla qualità di vita, in quanto le complicanze autoimmuni-infiammatorie intervengono in epoche successive.

Nei casi di diagnosi tardiva, la comunicazione della diagnosi finalmente interrompe l'incubo dell'ignoto e si associa nella maggior parte dei casi al miglio-



ramento notevole delle condizioni cliniche con l'inizio della terapia sostitutiva: il ragazzo torna alla normalità, ma allo stesso tempo l'adolescente deve fare i conti con una nuova realtà il cui impatto maggiore è legato alla necessità di una terapia sostitutiva *lifelong*.

Il primo meccanismo di difesa di fronte alla diagnosi di malattia cronica che impedisce la propria autonomia è la negazione. Questa reazione comune ad ogni età, nell'adolescente può andare oltre le prime fasi di assestamento con rischi importanti come la ridotta *compliance* alla terapia (nego la malattia e quindi la sua terapia). Sia nell'adolescente con recente diagnosi, ma anche in quello in cui la diagnosi era presente in età scolare, può accadere che le terapie farmacologiche siano discontinue o sospese o che non si osservino le indicazioni comportamentali prescritte dal medico e in generale si rifiuti o minimizzi la propria condizione.

La negazione è anche nutrita dal bisogno di essere accettato nel gruppo dei coetanei (in quanto il vissuto del proprio corpo "malato" confrontato al corpo "sano" dei pari può far emergere dei sentimenti di inadeguatezza, tra cui la paura di essere etichettato per la propria malattia).

La qualità della vita (*Quality of Life, QoL*) viene inoltre compromessa dai continui controlli clinici e dalla routine diagnostico-terapeutica che possono interferire con le abitudini del giovane paziente.

La malattia cronica può infine ostacolare l'adolescente nelle già complesse fisiologiche tappe di crescita, influenzando le dinamiche con i genitori, che vengono congelate in un rapporto di interdipendenza, ma anche il rapporto con i pari, rispetto ai quali si avverte un profondo disagio, ed infine influenzando il rapporto con sé stesso, caratterizzato da disistima, vergogna, ansia sociale, depressione e rabbia che possono condurre al ritiro in sé stesso o all'aggressività con conseguente mancata *compliance* al programma terapeutico.

Queste sono alcune delle motivazioni che rendono difficile la transizione.

## **L'organizzazione dei servizi sanitari per l'adolescente**

Dal punto di vista assistenziale, questa fascia di età non è definita con precisione ed in modo uniforme, perché risulta essere diversa se si prendono in considerazione le cure primarie oppure quelle ospedaliere; è addirittura diversa da regione a regione, da ospedale a ospedale e anche tra i diversi reparti del medesimo ospedale. Si passa dalle cure pediatriche, caratterizzate dall'accoglienza

e dall'accompagnamento del piccolo paziente e della sua famiglia, a quelle di tipo adulto, caratterizzate dal rapporto diretto medico-paziente e dalla responsabilizzazione di quest'ultimo. Questa fase della vita è piena di bisogni di salute peculiari che spesso le varie articolazioni del sistema sanitario non sembrano in grado di intercettare in maniera sistematica. Gli adolescenti non possono essere accomunati per diagnosi, terapia e necessità di supporto psicologico a nessuna delle altre età della vita e costituiscono, pertanto, una difficoltà specifica di gestione.

La malattia cronica può essere considerata un'ulteriore situazione interferente. Oltre alle problematiche cliniche ben note (note depressive, tendenza, comportamenti a rischio, ecc.), si può instaurare un difficile rapporto con i servizi sanitari e rifiuto delle cure, come risultato della necessità di affermare la propria "normalità" e la propria indipendenza. Il rapporto con il sistema di cure al quale il ragazzo si è sottoposto fino a quel momento, può diventare difficile.

Tale aspetto peggiora se i servizi ai quali, dopo una certa età, deve rivolgersi non sono pensati per individui con un'identità in continuo cambiamento. I genitori percepiscono la relazione con i medici dell'adulto come non più esclusiva con loro. L'adolescente è spesso restio a lasciare la struttura pediatrica, dove in un certo senso è cresciuto ed è stato seguito. Vi è quella strana sensazione di separazione da un ambiente conosciuto per anni, in confronto ad una nuova sede dove non ha più il sostegno dei familiari che vengono coinvolti assai meno dai medici dell'adulto.

L'adolescente in Italia è attualmente assistito sia dal pediatra di libera scelta (PLS) (dagli ultimi dati in nostro possesso, circa il 79% dei soggetti in età adolescenziale) sia dal medico di medicina generale (MMG). Il PLS può mantenere l'adolescente fino a 16 anni compiuti solo se il ragazzo è affetto da malattia cronica o disagio. L'assistenza ospedaliera è invece garantita all'adolescente fino al 18° anno ed è prolungata se il soggetto è affetto da patologie rare e croniche. In realtà, per quanto riguarda l'aspetto assistenziale agli adolescenti, esistono alcuni problemi nelle realtà ospedaliere.

Pur essendo specificamente indicato nel Progetto Obiettivo Materno Infantile che tutti i minori di età compresa tra 0 e 18 anni devono essere ricoverati in area pediatrica e che il secondo livello assistenziale per gli adolescenti è identificabile con l'U.O. di Pediatria, dati recenti indicano come solo il 58% dei bambini e adolescenti tra 5 e 14 anni e solo il 16% degli adolescenti tra 15 e 17 anni vengono ricoverati in Pediatria. Questo è dovuto anche al fatto che oltre un terzo delle strutture pediatriche in Italia ricovera solo fino a 16 anni, in alcune il limite è addirittura di 14 anni. Inoltre, solo il 26% dei reparti di pediatria possiede un'area di degenza



dedicata agli adolescenti. Ne consegue che molti adolescenti vengono assistiti in condizioni di promiscuità e da personale medico non adeguatamente formato in ambito pediatrico.

### **La malattia cronica 'misconosciuta'**

Nel caso di IEI, il gap assistenziale nei confronti dell'adolescente è complicato ulteriormente da una limitata *awareness* dei medici e pediatri generalisti sui sintomi e campanelli di allarme proprie di queste condizioni.

Solo di recente l'immaginario clinico comune, che vedeva gli IEI come malattie a prognosi infausta e letali nei primi mesi di vita, ha lasciato spazio ad una nuova consapevolezza su quelle che sono in realtà gli IEI più comuni, ovvero i difetti dell'immunità umorale. Questi difetti anticorpali hanno più spesso esordio clinico dopo la prima/seconda decade di vita con sintomi che vanno oltre le infezioni ricorrenti, tra i quali particolarmente comuni sono le autoimmunità.

Il lavoro di *awareness* è stato intensificato progressivamente, attraverso convegni e pubblicazioni mirate, ma pur sempre a macchia d'olio, di conseguenza gli IEI sono tuttora gravati da un considerevole ritardo diagnostico su cui si innesta il limite del *gap* assistenziale per questa fascia di età

### **Il processo di transizione e il transfer**

Per **transizione** si intende il "passaggio programmato di adolescenti affetti da malattia cronica da un sistema di cure centrato sul bambino ad uno orientato sull'adulto".

A questa definizione, possiamo aggiungere che la transizione non corrisponde ad un singolo momento, ma è parte di un più ampio e dinamico passaggio dal bambino dipendente all'adulto indipendente, con profondi cambiamenti che interessano non solo l'aspetto clinico, ma anche quello culturale e sociale.

Oggi siamo di fronte ad un notevole aumento del numero di adolescenti con malattia cronica (malattie croniche complesse e malattie rare) che complessivamente riguardano circa il 18-20% degli adolescenti.

Dal punto di vista, invece, della organizzazione dei sistemi di cure, la mancanza di comunicazione tra pediatri e medici dell'adulto e la mancanza di linee guida e/o protocolli di transizione condivisi sono motivo frequente di una inadeguata transizione.

Nel caso degli IEI, negli ultimi anni, la prognosi a lungo termine è molto migliorata (maggiori conoscenze scientifiche e miglioramento delle terapie). Questo risultato ha consentito a molti più pazienti, rispetto a quanto non avvenisse anni fa, di raggiungere l'età adulta. Solo a titolo di esempio, nei pazienti affetti da agammaglobulinemia *X-linked* (XLA) il tasso di mortalità dei pazienti con XLA si è ridotto, oggi, al 5% e nei pazienti affetti da Immunodeficienza Comune Variabile la sopravvivenza è diventata pari al 78% a 10 anni dalla diagnosi.

Per cercare di rendere il periodo della transizione meno traumatico possibile, questo dovrebbe essere intrapreso quando il paziente dimostra di avere una sufficiente comprensione della patologia della quale è affetto e della sua gestione, di essere capace ad organizzare e mantenere gli appuntamenti medici, di saper gestire i sintomi o le emergenze ed è clinicamente e psicologicamente stabile. Soprattutto, la transizione non può essere improvvisata: è ormai acquisito che, per qualsiasi patologia cronica, i centri pediatrici e quelli dell'adulto di riferimento debbano redigere le linee guida del processo di transizione nella loro realtà. Sulla base delle linee guida, per ogni paziente deve essere predisposto un piano di transizione scritto e condiviso dagli specialisti di riferimento per la transizione di entrambi i centri (pediatrico e dell'adulto), nonché dall'adolescente e dai suoi *caregiver*. Solo una programmazione competente e strutturata può garantire il successo della transizione.

La transizione di individui affetti da IEI pediatrici a strutture per adulti, tuttavia, è un compito particolarmente complesso non solo per l'elevato numero di patologie (ad oggi oltre 500), ma anche perchè, al momento, non esistono *Consensus* internazionali sui processi di assistenza in fase di transizione. In una recente intervista per l'Osservatorio delle malattie rare, il Responsabile Nazionale dall'*Italian Primary Immunodeficiency Network* (IPINet) ha dichiarato che *"Una prima concreta difficoltà sta nell'identificare la struttura sanitaria idonea a cui trasferire il paziente. Se il medico pediatra ha un approccio olistico e multidisciplinare al paziente, necessario a causa delle varie complicanze che le immunodeficienze congenite comportano, per i pazienti in età adulta non esiste un'analoga figura ma diverse strutture specialistiche"*.

Ovviamente, vista la storia naturale degli IEI ed i progressi fatti negli ultimi anni, uno degli aspetti rilevanti della transizione in questi pazienti è certamente il fatto che vi sia una oggettiva difficoltà per i medici dell'adulto che prendono in carico questi pazienti. Sono malattie rare, le cui conoscenze e novità terapeutiche sono spesso di pertinenza dell'età pediatrica e quindi in questi ultimi anni ci





sono stati categorie di pazienti che sono passati per la prima volta all'età adulta. Le peculiarità della transizione in soggetti affetti da IEI sono certamente il peggioramento della patologia polmonare, l'aumentato rischio di tumori progressivo con l'età, fenomeni di disregolazione immunitaria e problemi clinici correlati. In questo campo, forse unico esempio, del tutto recentemente c'è stato il lavoro a cura dell'*Italian Primary Immunodeficiency Network* (IPINet).

L'opera è stata quella di raggruppare le peculiarità specifiche di ogni sottogruppo di IEI. Sono stati individuati e suddivisi dei gruppi di disturbi clinicamente correlati (*Clinical Related Disorders*, CRD). Ciascun gruppo di CRD è costituito da IEI che condividono principali problemi clinici comuni che richiedono la massima attenzione durante la fase di transizione. Un lavoro svolto con il preciso obiettivo di facilitare la identificazione dei *team* multidisciplinari e di dare indicazioni specifiche sulle necessità assistenziali e sulle migliori misure sanitarie preventive per i singoli CRD.

Nelle Tabelle 1 e 2 sono riassunte le indicazioni generali per la transizione e quelle specifiche negli IEI.

**Tabella 1. Raccomandazioni per un'adeguata transizione**

<b>Età della transizione</b>	dai 12 ai 19 anni
<b>"Transfer"</b>	dai 16 ai 19 anni. Passaggio definitivo alla struttura dell'adulto. Quando il paziente dimostra di avere una sufficiente comprensione della patologia della quale è affetto e della sua gestione, di essere capace ad organizzare e mantenere gli appuntamenti medici, di saper gestire i sintomi o le emergenze ed è clinicamente e psicologicamente stabile
<b>Procedura della transizione</b>	ambulatori in cui l'adolescente ed i suoi genitori hanno la visita in presenza del <i>team</i> dei medici dell'adulto che si occuperà poi dell'adolescente-giovane adulto
<b>Coinvolgimento del PLS e del MMG</b>	transizione a livello territoriale, a 16 anni, quando l'adolescente passa dal PLS al MMG. Quest'ultimo dovrà ricevere tutte le informazioni cliniche necessarie e condividere, per un certo periodo, il programma terapeutico con il PLS
<b>Supporto psicologico</b>	Obbligatoria la presenza di uno psicologo esperto in gestione delle patologie croniche in adolescenti e della famiglia

**Tabella 2.** Punti fondamentali per una corretta transizione negli IEL

<b>Età della transizione</b>	dai 14 ai 25 anni
<b>Sinergia tra i team pediatrici e adulti</b>	mediante incontri effettuati durante il periodo di transizione
<b>Periodo minimo di collaborazione</b>	3 anni
<b>Coinvolgimento del PLS e del MMG</b>	Auspicabile/necessario durante tutto il periodo di transizione
<b>Formazione di specialisti adulti provenienti da diverse branche mediche (gastroenterologo, ematologo, pneumologo, etc.)</b>	Elemento chiave!  Peculiarità dei pazienti con IEL.
<b>Gestione clinica</b>	Adattata alle comorbidità del paziente (anche quelle secondarie alle terapie).
<b>Formazione del "team adulto"</b>	Conoscenza approfondita dei meccanismi patogenetici alla base dei singoli IEL.
<b>Supporto psicologico</b>	Possibilmente specifico per gli IEL
<b>Adolescente con diagnosi non definitiva</b>	Ritardare il "transfer" al team adulto

## Cosa può favorire il processo di transizione?

Il primo passo consiste nell'incrementare la consapevolezza dell'adolescente su tutti gli aspetti della malattia attraverso un dialogo diretto con il medico e la consegna di relazioni cliniche dettagliate. Questa fase è finalizzata al fatto che il paziente sia gradualmente totalmente consapevole della propria condizione e della sua terapia

Bisognerà inoltre ridefinire un equilibrio familiare e aiutare i genitori a farsi da parte al momento opportuno, lasciando che pian piano il giovane si faccia carico della sua salute e del suo benessere, e affronti la patologia appoggiandosi al medico e alla famiglia quando ne senta la necessità. Sarà pertanto fondamentale individuare profili genitoriali a rischio e conseguenti relazioni genitore-bambino clinicamente disfunzionali, attraverso, per esempio, la valutazione dello stress genitoriale: il



### *Parenting Stress Index- Short Form, PSI-SF.*

Nel caso specifico degli IEI, la fase successiva è invitare il paziente a programmare da sé gli appuntamenti per il follow-up diagnostico-terapeutico fornendo al paziente delle vere e proprie checklist da seguire.

In tale ottica una terapia sostitutiva con fSClg, che prevede un'autosomministrazione domiciliare della terapia, e quindi un ulteriore passo verso l'autonomia di questi pazienti, rappresenta un po' la pietra angolare del processo di transizione. Il paziente in condizioni cliniche stabili viene sempre coinvolto nella decisione della modalità di somministrazione della terapia. Il paziente adolescente può manifestare una preferenza per la terapia somministrata a domicilio perché questa pratica riduce il vincolo dell'accesso ospedaliero mensile che limita la quotidianità. Questo aspetto è particolarmente importante per i pazienti che vivono lontani dal centro di cura.

Il paziente può essere inoltre aiutato nella gestione personale della terapia attraverso supporti attivati nei singoli centri che spaziano dall'invio di messaggi di testo come promemoria, alla musicoterapia (memorizzare gli step di somministrazione del farmaco all'interno di una melodia appresa), nonché un supporto costante via *mail* e telefonico di fronte alle difficoltà riscontrate a domicilio.

Un altro aspetto positivo della terapia sostitutiva autosomministrata è che l'adolescente diventa progressivamente più autonomo nella gestione delle proprie cure, quindi più indipendente dal centro di riferimento ed accetta con più facilità il processo di transizione.

### **Bibliografia essenziale**

- AAVV. Adolescenza e transizione dal pediatra al medico dell'adulto. Guida intersocietaria, Sintesi InfoMedica editore, 2017
- <https://www.osservatoriomalattieare.it/malattie-rare/immunodeficienze/16919-immunodeficienze-primitive-occorre-agevolare-la-transizione-dei-pazienti-dall-eta-pediatica-a-quella-adultab>
- Cirillo E, Giardino G, Ricci S, et al. Consensus of the Italian Primary Immunodeficiency Network on Transition Management from Pediatric to Adult Care in Patients Affected with Childhood Onset Inborn Errors of Immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2020;146(5):967-983.

# APPENDICE

---

## A1. LA RETE DELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE (IPINET) IN ITALIA

**Claudio Pignata, Roberta Romano**

Nel 1999, nell'ambito dell'Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica nasce il comitato strategico e di studio (CCS) Immunodeficienze e viene costituita la rete delle Immunodeficienze primitive IPINet (*Italian Primary Immunodeficiencies Network*) con lo scopo di formulare raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche per le immunodeficienze primitive (PID), oggi meglio definite come Errori Congeniti dell'Immunità (IEI), da applicare sul territorio nazionale.

L'esigenza di un gruppo nazionale che si occupasse di IEI nasceva da alcuni problemi irrisolti. *In primis*, vi era l'osservazione che soltanto pochi centri, quasi tutti concentrati nell'Italia centro-settentrionale, erano altamente specializzati nella diagnosi e nel trattamento degli IEI. Ciò a fronte del dato che la maggior parte dei ~400.0000 nati/anno in Italia nasce in Italia centro-meridionale e quindi il numero atteso di IEI è teoricamente superiore al centro-sud che nelle regioni del nord. Punto centrale era il grande disagio per le famiglie dei pazienti costrette ai periodici controlli, talvolta con cadenza trimestrale, in Regioni molto lontane dalla Regione di origine.

Vi era inoltre la forte esigenza di acquisire nuove informazioni sulla storia naturale di malattie molto rare e complesse con l'obiettivo di individuare percorsi diagnostici appropriati e terapie mirate in un'ottica di Medicina di precisione, basata sulla comprensione del meccanismo patogenetico.

IPINet è andato crescendo di anno in anno sia per quanto riguarda l'adesione dei vari centri ospedalieri sia per il numero dei pazienti che venivano registrati nella rete. Inoltre, IPINet, rispetto ad analoghe reti europee, ha un vantaggio: mentre la formulazione dei registri europei, almeno all'inizio, non prevedeva dati di follow-up, ma solo una fotografia statica della situazione anagrafica e clinico-immunologica dei pazienti all'atto della raccolta dati, il network IPINet è strutturato in modo da disporre anche di dati di follow-up. Questo consente di costruire la storia naturale della malattia e di sviluppare strategie assistenziali più efficaci.



Sulla base del lavoro svolto in questi 20 anni si è sentita viva la necessità di condividere l'esperienza IPINet con quella di altri registri europei, e in particolare con i registri della Società Europea delle Immunodeficienze (ESID).

Da una analisi dei dati emerge che, in Italia, il tasso di mortalità, considerando l'insieme delle varie forme di immunodeficienza, è decisamente inferiore a quello di altri paesi europei, con una sopravvivenza del 92.6%. Al basso tasso di mortalità ha, in parte, contribuito una diagnosi più precoce che ha consentito di iniziare tempestivamente un trattamento più adeguato. Diagnosi precoce, quindi, trattamento tempestivo e diffusione delle informazioni sul riconoscimento degli IEI hanno rappresentato gli elementi vincenti per migliorare la qualità di vita di questi pazienti. Per meglio definire la storia naturale degli IEI sono stati avviati numerosi studi, sia retrospettivi che prospettici, specifici per la maggior parte delle principali immunodeficienze, grazie ai quali i Centri della rete hanno la possibilità di condividere dati clinico-laboratoristici dei propri pazienti (Tabella1).

**Tabella 1. Elenco degli studi in corso**

<b>Protocollo</b>	<b>Responsabile</b>
Agammaglobulinemia AR (AAR)	A. Plebani, V. Lougaris (BS)
Agammaglobulinemia X-Linked (XLA)	A. Plebani, V. Lougaris (BS)
Atassia-Teleangiectasia (AT)	L. Chessa, A. Polizzi (RM)
Deficit selettivo di IgA (sDIGA)	F. Conti (BO)
Immunodeficienza combinata grave (SCID)	C. Pignata, E. Cirillo (NA)
Immunodeficienza comune variabile (CVID)	I. Quinti, C. Milito (RM)
Ipgammaglobulinemia transitoria dell'infanzia (THI)	V. Moschese (RM)
Malattia granulomatosa cronica (CGD)	B. Martire (BA)
Sindrome da delezione cromosoma 22 (22q11.2DS)	C. Cancrini (RM)
Sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS)	L.D. Notarangelo (Boston)
Sindrome Iper-IgE (HIES)	R. Badolato (BS), M.C. Pietrogrande (MI)
Sindrome IPEX (IPEX)	R. Bacchetta, E. Gambineri (FI)

L'utilizzo dello strumento di raccolta dati ha consentito per ogni malattia di ottenere nuove conoscenze sulla storia naturale di ciascuna malattia, esitate in numerose pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali. Negli ultimi 3 anni infatti sono state pubblicati 9 studi retrospettivi, che hanno contribuito notevolmente all'ampiamiento della conoscenza di queste malattie rare. Grazie al lavoro collaborati-

vo tra i vari Centri, ormai distribuiti sull'intero territorio nazionale, a tutt'oggi oltre 15 esperti italiani, tra *senior* e *junior*, sono annoverati tra i 50 maggiori esperti al mondo nei vari settori delle immunodeficienze (Expertscape.com). La presenza di *junior* testimonia il grande impegno che la comunità IPINet ha negli anni recenti profuso nel favorire la formazione dei giovani in previsione del necessario *turnover*. Va anche segnalato che ben 7 Centri IPINet hanno ricevuto l'accreditamento europeo come Centri di riferimento per le Immunodeficienze nell'ambito del programma *European Reference Network* – RITA.

L'implementazione di studi di ricerca clinica ha anche come ricaduta l'ottimizzazione degli interventi relativi sia all'identificazione precoce del paziente affetto da IEI che all'organizzazione del migliore percorso assistenziale e terapeutico. Attualmente sono attivi sul territorio nazionale 62 Centri IPINet e sono stati raccolti dati di oltre 3200 casi.

Tra le ulteriori iniziative di IPINet va annoverata la pubblicazione di un documento di consenso sulle tematiche inerenti alla transizione dall'età pediatrica all'età adulta. Tale processo nel caso di alcuni IEI di particolare complessità rappresenta un'importante sfida della Pediatria.

## Il futuro

Il gruppo di lavoro IPINet è attualmente impegnato in numerosi ambiti al fine di implementare la qualità delle cure al paziente affetto da IEI. In alcuni casi la definizione della diagnosi ad opera dei Centri specializzati risulta agevole, mentre in alcune situazioni la complessità del quadro clinico è talmente elevata che la diagnosi non è facilmente effettuabile e il paziente non è inquadrabile nelle forme classiche maggiori di IEI. A tal riguardo tra le iniziative della rete IPINet vi è stata la definizione di un sistema di *Virtual Consultation* (VCS), che consenta l'acquisizione di pareri multipli di esperti su casi complessi. Tale piattaforma, oltre a permettere di ridurre sensibilmente il ritardo diagnostico, favorisce anche l'integrazione delle competenze e la condivisione degli strumenti diagnostici tra i vari Centri. Tale tipo di risorsa si configura come un'attività di consulenza a distanza che consente la trasmissione sicura di informazioni e dati di carattere medico nella forma di testi, immagini o altre forme, utili per ottenere indicazioni da uno o più colleghi, evitando inutili migrazioni di pazienti tra i Centri.

Altro impegno che IPINet ha assunto, con la programmazione di un documento di consenso, è rivolto a fornire linee guida sulle tecnologie più appropriate di genetica molecolare per il completamento della diagnosi e sulla interpretazione



delle informazioni ottenute. Tale aspetto riveste un'importanza centrale nel limitare l'eccesso di "diagnosi genetiche" non pienamente supportate dalle evidenze funzionali e poco congruenti con il quadro clinico.

La rete IPINET ci ha insegnato, attraverso i periodici incontri di aggiornamento, a lavorare insieme, a condividere e confrontare esperienze assistenziali differenti e a modificarle, se è il caso, nell'ottica di una migliore assistenza ai pazienti e ai loro familiari.

### **Bibliografia essenziale**

- Lougaris V, Pession A, Baronio M, et al. The Italian Registry for Primary Immunodeficiencies (Italian Primary Immunodeficiency Network; IPINet): Twenty Years of Experience (1999-2019). *J Clin Immunol.* 2020 Oct;40(7):1026-1037.
- Cirillo E, Giardino G, Ricci S, et al. Consensus of the Italian Primary Immunodeficiency Network on transition management from pediatric to adult care in patients affected with childhood-onset inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol.* 2020 Nov;146(5):967-983.

## A2. LA CONSULENZA GENETICA ALLA FAMIGLIA

**Giuliola Di Matteo, Simona Ferrari, Silvia Giliani, Alberto Tommasini, Caterina Cancrini**

La consulenza genetica deve fornire al paziente e/o ai familiari, informazioni riguardanti la modalità di trasmissione e il rischio di sviluppare e trasmettere la malattia. L'obiettivo è di discutere l'indicazione a eseguire analisi genetiche (consulenza pre-test) o il significato di un risultato genetico (consulenza post-test) con il paziente e /o con i suoi familiari (Figura 1).

**CONSULENZA GENETICA**

La consulenza genetica deve fornire informazioni chiare e comprensibili al paziente o ai familiari a rischio, relative a:

- \* quadro patologico che può essere ereditato;
- \* modello di trasmissione e rischio di sviluppare e trasmettere la malattia;
- \* modalità di prevenzione della malattia ed eventuali scelte terapeutiche considerando le diverse opzioni correlate al rischio di sviluppare la malattia.



**Consulenziazione medico-genetista pre-post test**



**RISULTATI DA APPROFONDIRE**

A. VUS in un gene noto associato al fenotipo  
B. VUS in gene noto non associato al fenotipo  
C. VUS in gene nuovo mai riportato nelle IEIS



**DIAGNOSI DEFINITIVA**

gene noto e variante causativa associata chiaramente al fenotipo clinico

**Figura 1.** La consulenza genetica pre- e post- test. Il genetista deve lavorare in sinergia con l'équipe multidisciplinare che si prenderà cura del paziente, sia a livello medico che biologico. Studi funzionali saranno eseguiti in laboratorio se il risultato genetico non è chiaro.

La consulenza pre-test ha lo scopo di fornire al paziente informazioni adeguate a comprendere le motivazioni per cui è stata proposta l'analisi, per il paziente (diagnosi, prognosi, scelta terapeutica) o per i familiari (analisi del rischio di ricorrenza) ed è necessario provvedere alla sottoscrizione di un consenso informato specifico da parte del probando.

I progressi nelle tecnologie NGS di sequenziamento del DNA hanno complicato il ruolo del genetista che dovrà essere in grado, insieme al clinico di riferimento, di spiegare le ragioni, vantaggi e rischi, di un'indagine estesa ad un certo numero di geni, se non tutti, e i possibili risultati che ne conseguono, inclusa la difficoltà d'interpretazione dei dati o l'identificazione incidentale di





varianti associate a condizioni diverse da quelle oggetto dell'analisi.

È sempre raccomandabile che il genetista lavori in sinergia con l'équipe multidisciplinare che si prenderà cura del paziente, sia a livello medico (previsione dei rischi e benefici delle terapie), sia a livello biologico (indicazione a eseguire approfondimenti biologico-funzionali post-test, laddove possibile, in casi con risultati genetici di non univoca interpretazione).

Sempre più spesso il genetista, prima che col paziente, si confronterà con il medico specialista che richiede l'analisi genetica. La diagnosi clinica e immunologica dovrà infatti suggerire al genetista come orientarsi fra le migliaia di varianti geniche trovate (circa 100.000 in un WES) e successivamente, quando l'analisi genetica sarà conclusa con un referto in cui saranno presenti le spiegazioni che hanno portato all'identificazione/non identificazione di varianti, il clinico trasferirà la comunicazione al paziente. Il doppio confronto clinico/laboratoristico ridurrà la possibilità di errori nella comunicazione dei dati al paziente. Nella consulenza post-test, infatti, le informazioni concordate d'interpretazione dei risultati relativamente alle caratteristiche cliniche e familiari della malattia saranno comunicate con un linguaggio comprensibile al paziente che potrà recepire consapevolmente le relazioni tra il genotipo e il fenotipo clinico sottoposto all'indagine.

Di più facile interpretazione sono le *varianti causative* cui è stato già attribuito un valore patogenetico certo, oppure varianti nuove che seppur non descritte risultano in una chiara perdita di funzione (duplicazioni, delezioni, inserzioni), associandosi a malattia. Tuttavia, le nuove tecnologie di analisi hanno messo in luce forme nuove di difetti immunitari e numerose varianti mai descritte in precedenza, cui è difficile dare un significato univoco. In questi casi, la consulenza genetica assume contorni incerti e sfumati, che possono essere affrontati soltanto in centri dove esistano le necessarie competenze multidisciplinari. Di aiuto sono l'analisi bioinformatica, che potrà fornire elementi utili a predire se la variante genetica identificata possa interferire con la funzione proteica, e lo studio di segregazione della malattia in altri componenti familiari (l'analisi nel trio paziente e genitori si esegue di regola nelle indagini NGS) che fornirà informazioni preziose in tal senso. A volte, però, tutto questo potrebbe non essere sufficiente a predire la rilevanza di una determinata variante genetica e la prognosi della malattia, o a guidare nel modo più sicuro la scelta terapeutica, soprattutto di fronte a scelte radicali come il trapianto di cellule staminali emopoietiche o l'interruzione volontaria di gravidanza. In questi casi, è impor-

tante condividere con il paziente e i familiari il grado di dubbi e certezze, coinvolgendo l'intera équipe diagnostico-terapeutica per valutare la possibilità di eseguire ulteriori approfondimenti o tentativi terapeutici.

Premesso questo, nell'ambito degli IEI, la possibilità di effettuare una corretta consulenza deriva dalla conoscenza approfondita di queste malattie. Con l'eccezione della IgAD che rappresenta la malattia più comune, con una prevalenza da 1:300 a 1:500 individui, gli IEI sono disordini rari e la loro incidenza è molto variabile (tra 1/10.000-20.000 nell'Immunodeficienza Comune Variabile [CVID] a 1:1.000.000). La maggior parte degli IEI sono diagnosticati nell'infanzia mentre circa il 40% non vengono diagnosticati fino all'adolescenza o all'inizio dell'età adulta.

Le modalità di trasmissione che ritroviamo in queste malattie sono generalmente quelle di seguito elencate.

】 **Autosomica recessiva, AR:** un allele mutato deve essere presente in entrambi i cromosomi per determinare un fenotipo clinico malato. Le malattie AR sono descritte più frequentemente probabilmente perché spesso associate a fenotipi più gravi e quindi più facilmente identificabili. Originano dall'unione tra eterozigoti asintomatici (a volte consanguinei) e si manifestano in media in  $\frac{1}{4}$  (25%) dei figli indipendentemente dal loro sesso. Se i due genitori sono portatori di mutazioni diverse, il figlio affetto si definisce eterozigote composto, mentre sarà omozigote nel caso erediti la stessa mutazione da entrambi. L'albero genealogico delle malattie AR presenta una trasmissione orizzontale poiché colpisce fratelli e sorelle, mentre gli altri collaterali sono sani. Se la malattia è sufficientemente rara e i genitori non sono consanguinei, il rischio di ricorrenza tra i figli dei fratelli portatori e non affetti è trascurabile. Le mutazioni recessive sono di solito *Loss Of Function* (LOF), cioè a perdita di funzione. Di solito la penetranza è completa ma l'espressività può essere variabile ne sono un esempio i geni RAG1/2 le cui mutazioni, inficiando più o meno l'attività di ricombinasi della proteina, determinano fenotipi che vanno da una grave forma di SCID, alla sindrome di Omenn e persino a forme più "mild" come una CVID.

】 **Recessiva legata all'X:** la maggior parte delle mutazioni localizzate sul cromosoma X segrega in maniera recessiva e si manifesta nei maschi con l'allele mutato che sono definiti emizigoti. La malattia è trasmessa da madri eterozigoti, clinicamente non affette, alla metà dei figli maschi (affetti) e alla metà delle figlie femmine (eterozigoti portatrici). Maschi non affetti



all'interno della famiglia non trasmettono mai la mutazione. Un maschio affetto trasmetterà l'allele mutato a tutte le figlie femmine (eterozigoti) e a nessun figlio maschio. Anche in questo caso la mutazione può insorgere *de novo*. Esempi di X-IEI sono la malattia di Bruton (*agammaglobulinemia X-linked*), la X-CGD (*Chronic Granulomatous Disease X-linked*). Una malattia recessiva legata al cromosoma X può manifestarsi occasionalmente anche in una femmina eterozigote se l'inattivazione della X ha perso le caratteristiche di casualità riducendo l'espressione dell'allele sano (WT-Wild Type) come descritto nella X-CGD. I tratti recessivi legati all'X derivano da varianti LOF sul cromosoma X. Rari tratti dominanti legati all'X, non descritti negli IEI, possono derivare anche da varianti *Gain Of Function* (GOF).

► **Autosomica dominante, AD:** un allele mutato determina la malattia anche se presente in un solo cromosoma e si trasmette nelle generazioni successive. Nelle malattie autosomiche dominanti (AD), le più complesse da classificare e valutare, anche per la ricorrenza di fenomeni di penetranza incompleta, si associano a mutazioni a perdita di funzione (LOF) o a guadagno di funzione (GOF).

I meccanismi d'insorgenza descritti negli IEI dominanti dovuti a mutazioni LOF sono l'aploinsufficienza in cui la riduzione della funzione proteica è dovuta all'espressione ridotta del gene stesso a causa di una mutazione LOF (come ad esempio: *NFKB1*, *NFKB2*, *CTLA4*) oppure la dominanza negativa in cui prevale il difetto della forma mutata perché presente in un dominio specifico della proteina che ne altera le capacità funzionali (come ad esempio: *STAT1*, *FAS*, *CARD11*).

Nel caso di GOF l'insorgenza dell'IEI è dovuta alla presenza di un guadagno di funzione della proteina mutata che prevale sulla forma WT (come ad esempio: *CARD11*, *PIK3CD*). Essendoci in questo caso l'acquisizione di un vantaggio funzionale, queste forme sono generalmente a penetranza completa ma l'espressività può essere variabile.

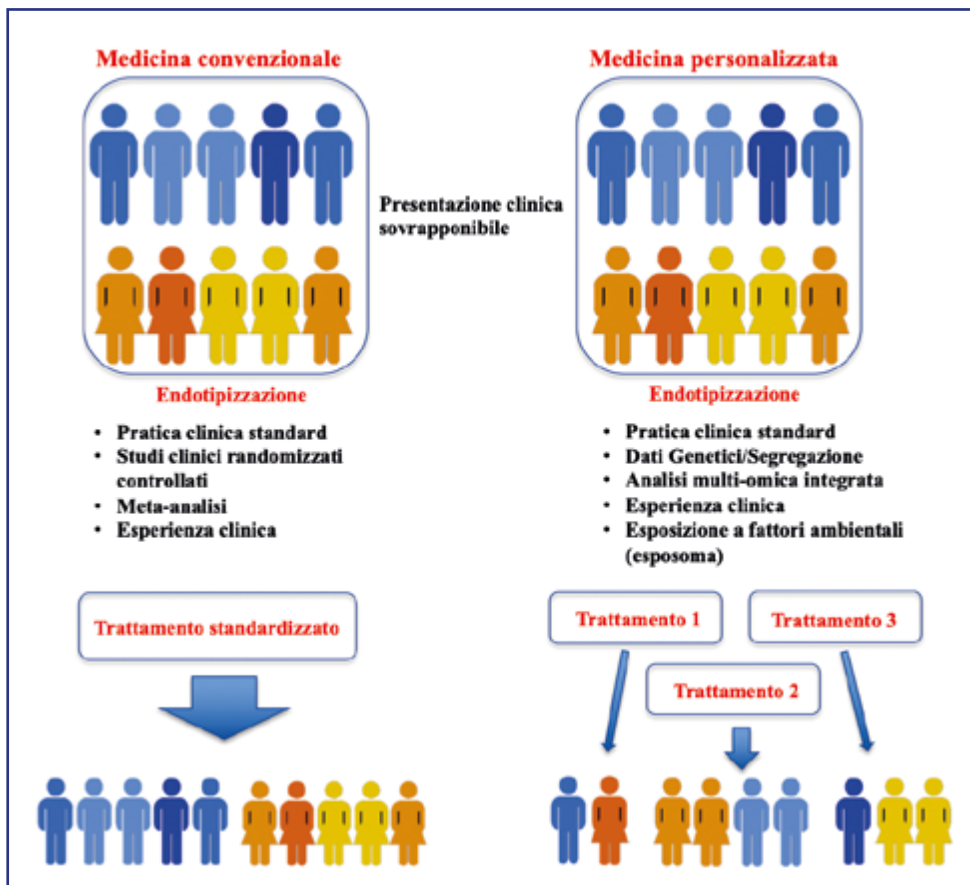
Gli alberi genealogici delle malattie autosomiche dominanti presentano proporzioni simili fra maschi e femmine. Il carattere segrega in maniera verticale senza salto di generazione dal momento in cui compare nella famiglia, anche se fenomeni di penetranza incompleta complicano l'interpretazione. In alcuni casi la mutazione non è trasmessa dai genitori ma insorge *de novo*. La probabilità teorica di ogni figlio di ricevere l'allele mutato è  $\frac{1}{2}$ .

Non è sempre facile prevedere le conseguenze di una certa variante genetica e questo complica l'efficacia della consulenza genetica che teoricamente dovrebbe riferire alla famiglia del probando il rischio "oggettivo" d'insorgenza di una certa malattia. Tra i meccanismi che determinano la comparsa o meno di un fenotipo ci sono l'incontro con un *trigger* ambientale (esposoma) come un patogeno che altera i meccanismi di difesa congeniti o altri fattori genetici come la presenza di varianti in geni modificatori (*background genetico*) oppure fattori epigenetici come la metilazione casuale e/o preferenziale dell'allele WT o mutato.

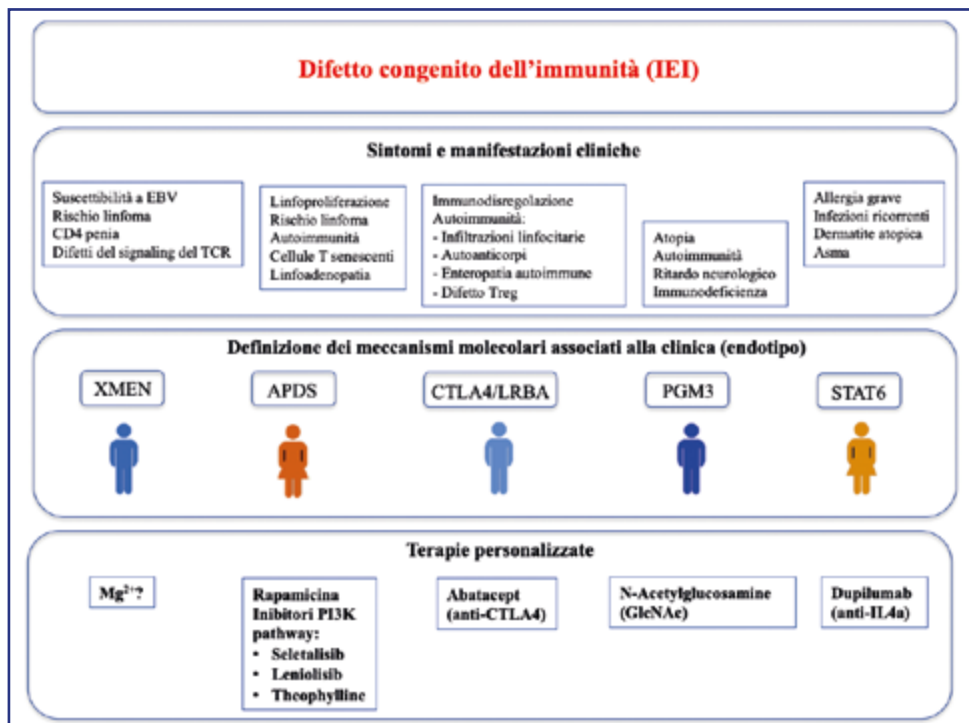
In molti casi di IEI la diagnosi deve essere tempestiva, per prevenire infezioni gravi e/o danni irreversibili d'organo che potrebbero influenzare gli esiti di un trattamento specifico e definitivo come il trapianto di cellule staminali o la terapia genica. È importante sottolineare che le decisioni cliniche e terapeutiche possono essere intraprese prima di conoscere la diagnosi molecolare soprattutto nei quadri clinico/immunologici chiari d'immunodeficienza. D'altra parte, l'identificazione del gene mutato responsabile, anche se ottenuta successivamente, ci permetterà di comprendere al meglio le relazioni tra genotipo e fenotipo di malattia, e soprattutto di effettuare una consulenza genetica familiare riguardo al rischio di ricorrenza della malattia.

Una diagnostica genetica quanto più tempestiva negli IEI è necessaria soprattutto perché alcune malattie possono essere oggi trattate con terapie "di precisione", cioè basate su farmaci in grado di agire specificamente sulle molecole o sulle funzioni difettose (Figure 2,3) e per alcune di queste malattie monogeniche del sistema immunitario è disponibile un approccio di terapia genica come dimostrato prima in modelli sperimentali e in seguito nel trattamento dei pazienti affetti da difetti nel gene IL2RG, ADA o WAS.

Un obiettivo importante è quello di definire un particolare fenotipo clinico/cellulare come un "*marker*" di malattia che integrato dai dati molecolari possa velocizzare la diagnosi e migliorare la gestione della malattia. Saranno quindi necessari, nel futuro, ulteriori sforzi per integrare i dati molecolari con quelli biologici e clinici di diverse malattie, al fine di individualizzare al meglio i diversi trattamenti (Figura 3).



**Figura 2.** Dalla medicina convenzionale alla medicina di precisione (Tratta da Steven P. Proper, Nurit P. Azouz and Tesfaye B. Mersha 2021)



**Figura 3.** Dal fenotipo all'endotipo. Esempi di medicina personalizzata

### Bibliografia essenziale

- Dallapiccola B, Novelli G. Genetica medica. Edizioni Scientifiche Falco, 2022
- Ferlini A, Gennarelli M, Genuardi M, et al. Con il contributo di Vincenzo Nigro e Marco Tartaglia. Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico a cura della commissione SIGU-NGS, 2016.
- Branch A, Modi B, Bahrani B, et al. Diverse clinical features and diagnostic delay in monogenic inborn errors of immunity: a call for access to genetic testing. *Pediatr Allergy Immunol.* 2021 Nov;32(8):1796-1803.
- Freeman AF. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Primary Immunodeficiencies Beyond Severe Combined Immunodeficiency *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018 Dec;7(Suppl 2):S79-S82.
- Cicalese MP, Aiuti A. Clinical applications of gene therapy for primary immunodeficiencies. *Hum Gene Ther.* 2015 Apr;26(4):210-9
- Kohn LA, Kohn DB. Gene Therapies for Primary Immune Deficiencies. *Front Immunol.* 2021;12:648951.
- Lenardo M, Lo B, Lucas CL. Genomics of Immune Diseases and New Therapies. *Annu Rev Immunol.* 2016 May 20;34:121-49.
- Proper SP, Azouz NP, Mersha TB. Achieving Precision Medicine in Allergic Disease: Progress and Challenges. *Front Immunol.* 2021;12:720746.
- Giacotta C, Colantoni N, Pacillo L, et al. Tailored treatments in inborn errors of immunity associated with atopy (IEIs-A) with skin involvement. *Front Pediatr.* 2023 Mar 22;11:1129249.
- Ballou M, Leiding JW. Precision Medicine in the Treatment of Primary Immune Deficiency Patients With Disorders of Immune Dysregulation. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 2021;63:1-8



