

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA  
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE  
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA



TESI DI LAUREA

**“Elaborazione di uno score composito per la  
valutazione dell’attività di malattia nelle  
malattie autoinfiammatorie caratterizzate da  
febbre ricorrente”**

Relatore: Chiarissimo Prof. Angelo Ravelli

Correlatrice: Dott.ssa Roberta Caorsi

Candidata: Chiara Castellano

Anno Accademico 2019/2020

INDICE	
INTRODUZIONE: Le Malattie Autoinfiammatorie Sistemiche	1
-Le Febbri Ricorrenti	2
-Febbre Familiare Mediterranea (FMF)	7
-Deficit della Mevalonato Chinasi (MKD)	14
-Sindrome Periodica Associata al Recettore 1 del Fattore di Necrosi Tumorale (TRAPS)	20
-Sindrome con Febbre Periodica, Stomatite Aftosa, Faringite, Adenopatia (PFAPA)	25
-Sindrome Sistemica Indefinita con Febbre Ricorrente (SURF)	27
SCOPO DELLO STUDIO, MATERIALI E METODI	29
-Revisione della letteratura	30
- Somministrazione alle famiglie/ai pazienti dei questionari per la valutazione Soggettiva dell'attività di malattia	31
-Il metodo Delphi	31
- Identificazione del set di pazienti di cui valutare l'attività di malattia tramite lo score composito	34
- Elaborazione dello score composito	35
- Validazione dello score composito	36
- Procedure di validazione di ogni singola variabile dello score composito	36
RISULTATI	38
DISCUSSIONE	55
CONCLUSIONE	57
BIBLIOGRAFIA	58
RINGRAZIAMENTI	65



## **LE MALATTIE AUTOINFIAMMATORIE SISTEMICHE**

Le Malattie Autoinfiammatorie Sistemiche (SAIDs) sono un gruppo piuttosto eterogeneo di condizioni associate a una regolazione abnorme dell'immunità innata dovuta, nella maggior parte dei casi, alla presenza di mutazioni a carico di geni che codificano per proteine che giocano un ruolo fondamentale nel controllo della risposta infiammatoria.

Spesso è la mutazione a carico di un singolo gene che determina la malattia tanto è vero che si parla comunemente di "Sindromi Autoinfiammatorie Monogeniche".

A differenza di quanto avviene nelle più note malattie autoimmuni sistemiche, le SAIDs non sembrano presentare alterazioni dell'immunità acquisita e non mostrano pertanto linfociti autoreattivi né tantomeno autoanticorpi specifici.

Vista la loro natura genetica, la maggior parte di queste malattie ha un esordio precoce, variabile dai primi giorni alla seconda decade di vita. Solo in un numero limitato di pazienti l'insorgenza si ha in età adulta.

Clinicamente le malattie autoinfiammatorie sono caratterizzate da episodi ricorrenti di infiammazione sistemica che si presentano, la maggior parte delle volte, come episodi febbrili associati ad un rialzo dei principali indici di flogosi (Proteina C-reattiva, VES, SAA, tra i tanti) e ad alcune manifestazioni cliniche sistemiche che coinvolgono diversi organi e apparati quali quello mucocutaneo, osteoarticolare e gastrointestinale.

Gli attacchi sono solitamente intervallati da periodi di durata variabile caratterizzati da completo benessere clinico, normale accrescimento staturale-ponderale e, nella maggior parte dei casi, anche da una normalizzazione degli indici di flogosi sierici.

Tra le sindromi autoinfiammatorie ricordiamo la FCAS, (Familial Cold Autoinflammatory Syndrome) (MIM 120100), la Sindrome di Muckle-Wells (MWS, MIM 191900) e la Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome (CINCA, MIM 607115) malattie a coinvolgimento sistemico dominate da un tipico rash orticarioide associato ad un ampio numero di altre manifestazioni cliniche. Esse rappresentano il variegato spettro di diverse mutazioni a carico di uno stesso gene chiamato Cold induced autoinflammatory syndrome 1 (*CIAS-1*, o *NLRP3*), che codifica per una proteina detta criopirina. Per tale ragione queste malattie vengono anche definite come *cryopyrin-associated periodic syndromes* (CAPS) o criopirinopatie.

Altre condizioni sono caratterizzate dalla comparsa di formazioni granulomatose (*disordini granulomatosi*).

Per esempio la sindrome di Blau (MIM 186580), conosciuta anche come “Familial juvenile systemic granulomatosis”, si presenta con un’inflammatione granulomatosa non caseosa che coinvolge le articolazioni, la cute e l’occhio (tipica è la triade composta da artrite, dermatite e uveite) ed è associata a mutazioni del dominio NACHT del gene *CARD15* (or *NOD2*). È interessante il fatto che mutazioni a carico dello stesso gene siano state associate alla malattia di Crohn, un’altra malattia granulomatosa cronica, che coinvolge prevalentemente l’apparato gastrointestinale.

Inoltre esistono altri rari disordini dominati dalla presenza di ascessi piogenici sterili coinvolgenti la cute, le articolazioni e le ossa (*disordini piogenici*), tra i quali troviamo la sindrome PAPA (Pyogenic sterile Arthritis, Pyoderma gangrenosum and Acne) (MIM 604416), associata con mutazioni a carico del gene CD2-binding protein 1 (*CD2BP1* o *PSTPIP1*), la Sindrome di Majeed (MIM 609628), dovuta alla presenza di mutazioni a carico del gene *LPIN2* e caratterizzata da un’osteomielite cronica multifocale, da anemia congenita diseritropoietica e da dermatosi neutrofilica, la DIRA (MIM 612852) (Deficiency of the Interleukin-1 Receptor Antagonist), una malattia autoinfiammatoria autosomica recessiva identificata recentemente, provocata da mutazioni del gene *IL1-RN* (interleukin-1 receptor antagonist) e caratterizzata da una severa inflammatione ad esordio molto precoce con osteomielite multifocale, periostite e pustolosi e la DITRA (deficiency of the Interleukin-36 Receptor Antagonist) causata da mutazioni a carico del gene *IL-36RN* e caratterizzata da inflammatione cutanea con psoriasi pustolosa.

Più recentemente sono state infine descritte patologie, cosiddette “interferonopatie” in cui, come suggerito dal termine stesso, l’interferone gioca un ruolo fondamentale quali la sindrome CANDLE caratterizzata da una panniculite ad esordio precoce, febbre, artralgia/artriti e, nella seconda decade di vita, comparsa di atrofia lipomuscolare e contratture articolari.

## **LE FEBBRI RICORRENTI**

Soprattutto alle malattie autoinfiammatorie afferiscono le Febbri Ricorrenti o Febbri Periodiche. Con tale termine intendiamo una condizione caratterizzata dalla presenza di tre o più episodi febbrili di origine sconosciuta che si presentano in un periodo di sei mesi e che

si verificano ad almeno una settimana di distanza l'uno dall'altro. Nello specifico parliamo delle Febbri Ricorrenti Ereditarie e quindi della Febbre Mediterranea Familiare ( FMF, MIM 249100 ), del Deficit della Mevalonato Kinase ( MKD, MIM 260920 ) e della Sindrome Periodica Associata al Recettore per il Tumor Necrosis Factor( TRAPS MIM 142680, ), definite anche come febbri periodiche monogeniche, perchè legate alla trasmissione ereditaria di un gene mutato che codifica per proteine coinvolte nel meccanismo dell'infiammazione, e altre due sindromi che entrano in diagnosi differenziale con loro: la Febbre Periodica, Stomatite aftosa, Faringite e Adenite cervicale (sindrome PFAPA), una forma di febbre molto frequente in età pediatrica e a prognosi generalmente buona e la più recente Febbre Ricorrente Sistemica Indefinita ( SURF ), entità non ancora ben definibile che condivide alcuni aspetti clinici con tali malattie.

	<b>Malattia (anno di identificazione)</b>	<b>Gene (anno di identificazione)</b>	<b>Proteina</b>	<b>Trasmissione</b>	<b>Manifestazioni cliniche principali</b>
<b>Febbri periodiche</b>	FMF (1945)	<i>MEFV</i> (1997)	Pirina	AR	Breve durata degli episodi febbrili: 24-48 ore. Rash simil-erisipela, dolore addominale e toracico. Alta incidenza di amiloidosi renale. Buona risposta alla Colchicina.
	IperIgD (1984)	<i>MVK</i> (1998)	MVK	AR	Intermedia durata degli episodi febbrili: 4-5 giorni. Esordio precoce (solitamente entro 12 mesi) Rash cutaneo, dolore addominale, vomito, diarrea e splenomegalia. Comune l'autorisoluzione durante l'adolescenza. Rara l'Amiloidosi. Buona risposta agli steroidi.
	TRAPS (1982)	<i>TNFRSF1A</i> (1999)	TNFR1	AD	Lunga durata degli episodi febbrili: 1-3 settimane. Età d'esordio maggiore. Edema periorbitale, mialgie, dolore scrotale, fascite monocitaria. Incidenza di Amiloidosi Renale 15-25%.

					Risposta al blocco di IL-1 migliore del blocco del TNF.
<b>Sindromi associate a NLRP</b>	FCAS, MWS, CINCA (1940, 1962, 1982)	<i>NLRP3</i> (2000)	Criopirina	AD	FCAS: Orticaria e febbre scatenata dall'esposizione al freddo, artrite, congiuntivite. MWS: Orticaria cronica, sordità neurosensoriale, amiloidosi. CINCA: come sopra + displasie ossee, ritardo intellettuale, meningite cronica. Tutte ottima risposta al blocco di IL-1.
	FCAS 2 (2008)	<i>NLRP12</i> (2008)	NLPR12	AD	Lieve fenotipo infiammatorio. Lesioni orticarioidi, artro-mialgie e febbre scatenati dal freddo. Possibile sordità neurosensoriale.
<b>Malattie Granulomatose</b>	Sindrome di Blau (1985)	<i>CARD15/NOD2</i> (2001)	CARD15	AD	Esordio precoce (<5 anni). Artrite poliarticolare granulomatosa, uveite, rash cutaneo. Buona risposta al blocco di TNF.
<b>Deficit del</b>	Nakajo-Nishimura (1993)	<i>PSMB8</i> (2010)	PSMB8	AD	Panniculite ad esordio precoce, episodi febbrili, artralgia/artriti. Nella



<b>proteasoma</b>	JMP (2010) Sindrome CANDLE (2010)				seconda decade: atrofia lipomuscolare e contratture articolari.
<b>Malattie piogeniche</b>	Sindrome PAPA (1997)	<i>PSTPIP</i> (2002)	PSTPI P1	AD	Artrite asettica piogenica, pioderma gangrenoso ed acne cistica. Aneddótica risposta al blocco del IL-1 e TNF.
	Sindrome di Majeed (1989)	<i>LPIN2</i> 2005	LPIN2	AR	Osteomielite multifocale, anemia congenita diseritropoietica e dermatosi neutrofilica.
	DIRA (2009)	<i>IL1RN</i> (2009)	IL1Ra	AR	Osteomielite multifocale a esordio neonatale, periostite e pustolosi. Risposta ottima all'Anakinra.
<b>Psoriasi pustolosa generalizzata</b>	DITRA (2011)	<i>IL36RN</i> (2011)	IL36Ra	AD	Ripetuti episodi di febbre elevata, rash generalizzato eritematoso e pustolare e malessere generale.

Tabella 1: FMF: Familial

*Mediterranean Fever; FCAS: Familiar Cold Autoinflammatory Syndrome; MWS: Muckle-Wells Syndrome; CINCA Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome; PAPA: Pyogenic Sterile Arthritis, Pyoderma Gangrenosum and Acne; JMP: Joint contractures, muscle atrophy, microcytic anemia and panniculitis-induced childhood-onset lipodystrophy; CANDLE: chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature; DIRA: deficiency of the IL-1 receptor antagonist*

## **Febbre Familiare Mediterranea (FMF)**

Descritta come una malattia a se stante nel 1945<sup>i</sup>, la Febbre Familiare Mediterranea (FMF) è la più comune tra le sindrome autoinfiammatorie monogeniche e anche quella più conosciuta.

E' una malattia a trasmissione autosomica recessiva la cui prevalenza è molto alta tra le popolazioni che si affacciano sul bacino del Mediterraneo, soprattutto gli Ebrei Sefarditi, gli Armeni, gli Arabi e i Turchi.

Nel 1992 il gene associato a questa sindrome, chiamato *MEFV* da *ME*diterranean *Fe*Ver, è stato mappato sul braccio corto del cromosoma 16 e nel 1997 è stato clonato<sup>ii,iii</sup>.

Il suo trascritto di 3.7 Kb codifica per una proteina di 781 amminoacidi chiamata pirina o marenostrina. Tale proteina sembra giocare un ruolo fondamentale nella regolazione del cosiddetto inflammasoma, un complesso multiproteico citoplasmatico molto importante per la produzione e la secrezione di citochine pro-infiammatorie come ad esempio l'IL-1 $\beta$ <sup>iv</sup> coinvolta nella patogenesi di molte malattie autoinfiammatorie<sup>v</sup>.

### **Patogenesi**

Molti domini della proteina sono di rilievo. Il dominio della pirina, localizzato nella regione N-terminale, è un dominio specifico composto da 90 amminoacidi che definisce una nuova classe di proteine chiamata "famiglia delle pirine"; in un secondo dominio detto B30.2 o SPRY, posizionato nella porzione C-terminale della proteina, si collocano le più frequenti mutazioni associate alla FMF.

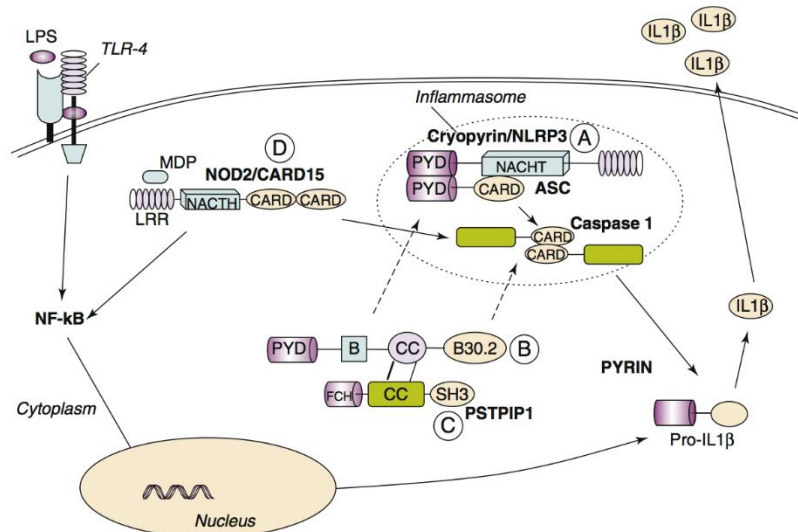
Sono stati studiati alcuni meccanismi patogenetici relativi alla funzione di questi domini.

Per prima cosa è stato dimostrato che la pirina può interagire tramite il suo dominio omotipico con ASC (Apoptotic Speck Protein) la quale comporta l'attivazione sia di NF- $\kappa$ B che della pro-caspasi 1 con conseguente maturazione e secrezione di IL-1 $\beta$  e innesco dell'apoptosi<sup>vi</sup>.

Il secondo punto deriva dalla scoperta dell'inflammasoma. I primi studi dimostrano che la pirina modula l'inflammasoma interagendo sia con il dominio B30.2 che con il dominio pirinico ( Figura 1).

Di recente è stato anche scoperto che PSTPIP1, la proteina coinvolta nella sindrome PAPA, può attivare la pirina portando all'interazione tra PYD e ASC, alla dimerizzazione di ASC e all'attivazione della caspasi-1 indipendentemente dall'attivazione del NLRP3-inflammasoma. Questa ipotesi è stata di recente confermata in modelli animali di FMF<sup>vii</sup>.

**Figura 1:** Rappresentazione schematica del ruolo funzionale dei geni coinvolti nelle



malattie autoinfiammatorie nel controllo dell'attivazione di NF-kB e nella secrezione di IL-1β.

### Manifestazioni cliniche

In circa il 70% dei pazienti, l'esordio clinico della malattia si ha prima dei cinque anni di vita e nella quasi totalità dei casi prima della seconda decade di vita<sup>viii,ix,x</sup>.

Gli attacchi durano tipicamente dalle 12 alle 72 ore e sono caratterizzati da febbre, quasi costantemente presente, sierositi (pericardite, pleurite, peritonite), monoartrite e manifestazioni cutanee.

Uno dei sintomi più caratteristici della malattia è il dolore addominale, presente nella quasi totalità dei casi, dovuto appunto al coinvolgimento dei foglietti peritoneali. Talvolta il dolore è tale da simulare un quadro di addome acuto talmente importante che i pazienti possono essere sottoposti ad intervento chirurgico nel sospetto di appendicite con esito finale di laparotomia/laparoscopia bianca.

Nel 30%-45% dei casi può essere presente pleurite mono o bilaterale con conseguente dolore toracico che rappresenta, insieme al dolore addominale prima descritto, uno dei sintomi più caratteristici e più frequenti della FMF.

Il coinvolgimento delle sierose può dare anche origine a un quadro di scrotite o pericardite, manifestazioni che però si presentano con un'incidenza molto minore essendo presenti rispettivamente nel 3% e 1% dei casi.

Altro sintomo caratteristico della FMF è rappresentato dall'interessamento articolare, con manifestazioni che variano dalla più semplice artralgia ad una franca artrite, con versamento sinoviale ricco in polimorfonucleati che può persistere fino ad una settimana. Le articolazioni maggiormente colpite sono grandi articolazioni come ginocchia, anche e caviglie.

Un rash di tipo erisipeloide, generalmente localizzato agli arti inferiori è la lesione cutanea più tipica della FMF e colpisce all'incirca un paziente su quattro.

Gli attacchi, se non trattati, hanno in genere un carattere autolimitante nel giro di qualche giorno e presentano un periodo intercritico tipicamente irregolare ed estremamente variabile da paziente a paziente ma anche, per lo stesso paziente, da un periodo della vita ad un altro. Lo scatenarsi di un attacco può essere legato alla presenza di alcuni fattori cosiddetti "trigger", come ad esempio stress, infezioni o farmaci (metaramiolo e cisplatino) e viene spesso preceduto da un corteo di sintomi prodromici quali "fastidio" nelle sedi tipicamente coinvolte degli attacchi o sintomi generali fisici, psichici e emotivi tra cui irritabilità, senso di instabilità, aumento dell'appetito o alterazione del gusto.

Ad esclusione dell'amiloidosi, che è di fatto la maggiore complicanza della malattia a lungo termine, altre manifestazioni croniche come peritonite incapsulata e artrite cronica distruttiva delle anche e del ginocchio, sono molto rare.

L'amiloidosi rappresentava la maggiore causa di morbilità e mortalità nei pazienti affetti da FMF prima della scoperta nel 1972 dell'efficacia terapeutica della colchicina.

Si tratta di amiloidosi infiammatoria, detta AA in quanto origina dalla proteina di fase acuta Siero Amiloide A (SAA), che aumenta nel siero assieme agli altri indici di flogosi durante gli attacchi.

Solitamente colpisce i pazienti che soffrono di attacchi molto severi che hanno avuto inizio in età precoce (FMF fenotipo 1), ma si può anche presentare in coloro che non manifestano clinicamente le crisi infiammatorie (FMF fenotipo 2)<sup>xi</sup>.

Un altro fattore di rischio per lo sviluppo di amiloidosi è rappresentato dalla mancata normalizzazione dei livelli ematici di SAA e degli altri indici di flogosi nei periodi intercritici<sup>xii</sup>.

E' stato inoltre dimostrato che la prevalenza di amiloidosi varia in base all'etnia, cosa che suggerisce una duplice possibile causa.

Da un lato il tipo di mutazioni o varianti genetiche che segregano in quel particolare gruppo etnico (presenza di M694V in omozigosi, polimorfismi di SAA) e dall'altro il possibile ruolo di fattori ambientali<sup>xiii,xiv</sup>.

Si deve sospettare l'insorgenza di amiloidosi in caso di comparsa di proteinuria persistente all'esame urine. Solo con la biopsia renale si può, però, avere la conferma diagnostica o, in maniera meno invasiva, con un aspirato di grasso addominale, una biopsia rettale o con scintigrafia con <sup>123</sup>I marcato alla ricerca della componente P dell'amiloide sierica.

### **Diagnosi**

Sebbene siano disponibili test genetici specifici per la FMF la sua diagnosi, in particolar modo in quei Paesi in cui si ha un'alta prevalenza della malattia e una maggior penetranza delle mutazioni geniche causali, resta principalmente clinica.

In questi Paesi sono stati creati nel corso del tempo diversi criteri diagnostici prevalentemente su popolazioni adulte<sup>xv</sup> e più recentemente su una casistica pediatrica<sup>xvi</sup> (

#### **Nuovi criteri diagnostici Gattorno et al**

Positive genetic analysis for MEFV gene
Response to colchicine
Increase of acute-phase reactants and serum amyloid A during fever episodes
Abdominal pain
Ethnicity (Turkish, Arabs, Armenian, Kurds, Jewish)
Classic recurrent fever pattern
Duration of attacks 1-3 days
Positive family History
Serositis
Erysipeloid rash
Self-limiting episodes
Duration of attacks few hours to 3-4 days
Chest pain
Arthritis
Well-being between episodes
Amyloidosis
Increase of acute phase reactants and serum amyloid A during fever episodes and sometimes between episodes

**Figura 2).** (Negli ultimi anni sono stati validati dei criteri classificativi da Gattorno et al.)

### Criteri di Livneh per la FMF

<p><b>Criteri maggiori:</b>                  Attacchi tipici:                  1. Peritonite (generalizzata)                  2. Pleurite (unilaterale) o pericardite                  3. Monoartrite (anca, ginocchio, caviglia)                  4. Solo febbre</p>
<p><b>Criteri minori:</b>                  1-3. Attacchi incompleti che interessano uno o più dei seguenti siti:                  1. Addome                  2. Torace                  3. Articolazioni                  4. Dolore da sforzo agli arti inferiori                  5. Risposta alla colchicina</p>
<p><b>Criteri accessori:</b>                  1. Familiarità per FMF                  2. Origini etniche                  3. Età &lt; di 20 anni all'esordio della malattia                  4-7. Caratteristiche dell'attacco:                  4. grave che richiede riposo a letto                  5. periodo intercritico asintomatico                  6. remissione spontanea                  7. risposta infiammatoria con risultati di uno o più test alterati tra                  conta                  leucocitaria, VES, amiloide sierica A e/o fibrinogeno                  8. Proteinuria/ ematuria episodica                  9. Laparotomia non necessaria                  10. Consanguineità dei genitori</p>

*Attacchi tipici* sono definiti da episodi febbrili (temperatura rettale > 38°C) ricorrenti (almeno 3 episodi con le stesse caratteristiche) e di durata breve (compresa tra 12 ore e 3 giorni)

*Attacchi incompleti* sono attacchi ricorrenti e dolorosi che si differenziano dai tipici per 1 o 2 caratteristiche:  
 -temperatura normale o inferiore ai 38°C  
 -attacchi più brevi o più lunghi rispetto alla durata tipica (ma non più brevi di 6 ore o più lunghi di una settimana)  
 -non segni di peritonite durante gli attacchi addominali  
 -gli attacchi addominali sono localizzati  
 -l'artrite colpisce altre articolazioni rispetto a quelle generalmente coinvolte

≥1 criterio maggiore o  
 ≥2 criteri minori o  
 1 criterio minore più ≥5 criteri accessori o  
 1 criterio minore più ≥4 dei primi 5 criteri accessori

### Criteri di Tel Hashomer per la FMF

#### CRITERI MAGGIORI

1. Episodi ricorrenti di febbri e sierositi
2. Amiloidosi di tipo AA in assenza di patologie predisponenti
3. Risposta alla Colchicina

#### CRITERI MINORI

1. Episodi febbrili ricorrenti
2. Eritema erysipela-like
3. FMF in un parente di 1°

**Diagnosi definitiva:** 2 criteri maggiori o 1 c. maggiore e 2 c. minori

**Diagnosi probabile:** 1 c. maggiore e 1 c. minore

### Nuovi criteri pediatrici per la FMF

TABLE 3. Criteria set for the diagnosis of FMF in childhood according to multiple logistic regression analysis

Criteria	Description
Fever	Axillary temperature of >38°C, 6–72 h of duration, ≥3 attacks
Abdominal pain	6–72 h of duration, ≥3 attacks
Chest pain	6–72 h of duration, ≥3 attacks
Arthritis	6–72 h of duration, ≥3 attacks, oligoarthritis
Family history of FMF	

### Nuovi criteri diagnostici Gattorno et al

Positive genetic analysis for MEFV gene  
 Response to colchicine  
 Increase of acute-phase reactants and serum amyloid A during fever episodes  
 Abdominal pain  
 Ethnicity (Turkish, Arabs, Armenian, Kurds, Jewish)  
 Classic recurrent fever pattern  
 Duration of attacks 1-3 days  
 Positive family History  
 Serositis  
 Erysipeloid rash  
 Self-limiting episodes  
 Duration of attacks few hours to 3-4 days  
 Chest pain  
 Arthritis  
 Well-being between episodes  
 Amyloidosis  
 Increase of acute phase reactants and serum amyloid A during fever episodes and sometimes between episodes

**Figura 2:** Criteri diagnostici esistenti per la Febbre Familiare Mediterranea. a) Criteri di Livneh, b) Criteri di Tel Hashomer, c) Nuovi Criteri Pediatrici, d) Nuovi criteri diagnostici Gattorno et al

L'analisi molecolare del gene *MEFV* fornisce la conferma della diagnosi clinica, ma bisogna sottolineare come a volte il riscontro di alcuni genotipi non sia di così facile interpretazione. Infatti in un contesto clinico fortemente suggestivo di FMF, il riscontro di due mutazioni su due alleli diversi (omozigosi o eterozigosi composta) all'indagine genetica rende possibile la conferma diagnostica; tuttavia non va dimenticato che il fatto di trovare in un caso simile una sola mutazione non può escludere automaticamente la diagnosi. Vi sono infatti alcune mutazioni, cosiddette ad alta penetranza, che possono determinare un quadro clinico tipico di malattia anche se in eterozigosi.

Analogamente, lo screening genetico esteso a parenti di probandi affetti ha permesso di evidenziare soggetti clinicamente silenti o con sintomatologia molto sfumata portatori di 2 mutazioni sul gene *MEFV* e quindi in teoria affetti.

Su queste basi è sempre più evidente la presenza di una scarsa correlazione tra genotipo e fenotipo in questa malattia ponendo il dubbio che si tratti di una pura patologia a trasmissione autosomica recessiva e che possano essere coinvolti anche altri geni, al momento non noti o fattori epigenetici che influenzano il quadro clinico<sup>xvii</sup>.

Delle 251 mutazioni descritte fino ad oggi (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>) alcune (M694V, M680I, V726A, M694I, E148Q) sono in assoluto le più frequenti, essendo responsabili di più dell'85% dei casi.

### **Trattamento**

Il trattamento con colchicina ad un dosaggio di 1-2 mg/die permette di prevenire l'amiloidosi nella quasi totalità dei casi e rallenta la ricorrenza degli attacchi in circa il 60%-70% dei pazienti<sup>xviii,xix</sup>.

La persistenza degli attacchi e/o la costante elevazione dei livelli sierici dei marcatori dell'infiammazione, in particolare la SAA, potrebbero indicare che la dose giornaliera standard non è sufficiente e quindi si consiglia, dopo aver accertato una buona compliance alla terapia, di aumentarla di 0,5 mg/die ogni 3-6 mesi fino ad un massimo di 2,5 mg/die.

Il dosaggio ottimale è infatti, per definizione, quello che riduce la frequenza degli attacchi e i livelli dei principali indici infiammatori (VES, PCR e fibrinogeno) durante i periodi di benessere. Uno studio recente ha dimostrato che nei bambini questo può essere calcolato sulla base del peso e della superficie corporea<sup>xx</sup>.

Sebbene l'intossicazione da colchicina rimanga una possibile e severa complicanza del trattamento a lungo termine, l'assunzione giornaliera di questo farmaco è relativamente sicura, anche durante la gravidanza<sup>xxi</sup>.

L'effetto indesiderato più frequente è la comparsa di diarrea che, tuttavia, può essere spesso trattata o prevenuta partendo da dosaggi più bassi con incremento graduale della dose fino al raggiungimento di quella efficace o, se necessario, con l'utilizzo di farmaci sintomatici.

La quasi totalità dei pazienti che non rispondono alla colchicina sono in realtà soggetti che non aderiscono strettamente al piano terapeutico. I veri non-responders, infatti, sono rari e per loro non esiste trattamento sostitutivo di provata efficacia.

E' stata tentata la terapia con interferone alfa, con risultati precoci molto promettenti ma non confermati in seguito.

Più recentemente, sulla base delle evidenze circa il ruolo patogenetico della pirina nella secrezione di IL-1, sono stati utilizzati anche i farmaci anti IL-1 (Anakinra e Canakinumab). Studi preliminari hanno dimostrato l'efficacia terapeutica di questi farmaci nei pazienti colchicina resistenti<sup>xxii</sup> ma sono necessari ulteriori studi clinici che ne confermino l'efficacia e ne accertino la sicurezza in un trattamento a lungo termine.

Sono stati provati con successo in alcuni pazienti anche i farmaci inibitori del TNF<sup>xxiii</sup> e anche farmaci anti IL-6 come il Tocilizumab, e gli inibitori della JANUS kinase (Tofacitinib).



## Deficit di Mevalonato Chinasi (MKD)

La febbre periodica associata a deficit di mevalonato chinasi, a trasmissione autosomica recessiva, fu descritta per la prima volta nel 1984 in sei pazienti di discendenza olandese con lunga storia di attacchi ricorrenti di febbre ed elevati livelli sierici di IgD<sup>xxiv</sup>. Per tale motivo la malattia prese il nome di *Febbre Olandese* o *Sindrome da iper-IgD*.

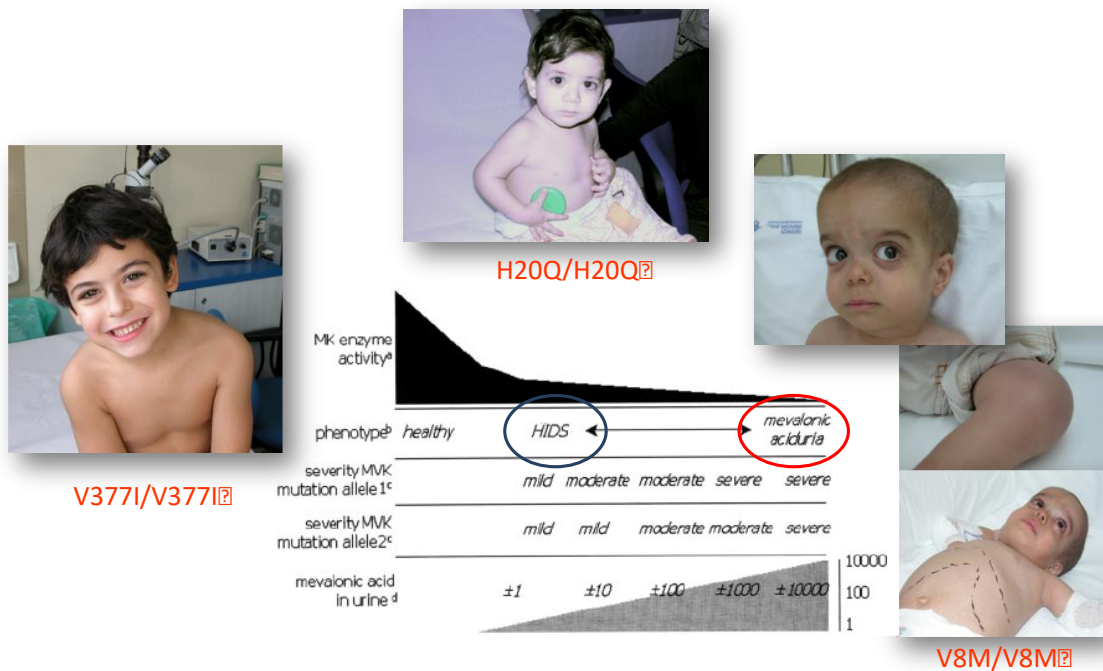
Pertanto elevati livelli di IgD nel plasma (>100 UI/ml) venivano considerati un marker diagnostico di malattia, fino a quando non è stato identificato nel 1997 il gene responsabile localizzato sul braccio lungo del cromosoma 12<sup>xxv</sup>.

Tale gene codifica per la mevalonato chinasi (MVK), enzima fondamentale nella via degli isoprenoidi. La presenza di mutazioni a carico di questo gene determina una perdita di grado variabile (1-8% di attività residua rispetto alle cellule di controllo) della sua funzione enzimatica<sup>xxvi, xxvii</sup>.

La totale assenza di funzione di questa chinasi (approssimativamente lo 0,1% dei soggetti normali)<sup>xxviii</sup>, invece, causa una sindrome distinta dalla MKD, detta Mevalonico Aciduria (MA; MIM 251170), che è clinicamente caratterizzata da manifestazioni neurologiche severe (ritardo mentale, atassia, deficit di crescita), miopatie e cataratta in aggiunta agli episodi febbrili (**Figura 3**).

La prevalenza della MKD è da sempre stata considerata maggiore nei Paesi Bassi e nel nord Europa ma, dopo l'identificazione del difetto genetico, è divenuto chiaro che la distribuzione è in realtà più ampia, interessando anche le popolazioni che vivono intorno al bacino del Mediterraneo<sup>xxix</sup> ed in Asia<sup>xxx</sup>.

Inoltre, vista la scarsa sensibilità e specificità dei livelli sierici di IgD dimostrata in diversi studi, ad oggi, il termine di Sindrome da IperIgD è stato sostituito dal termine Deficit di mevalonato Kinasi<sup>xxxix</sup>.



**Figura 3:** Lo spettro clinico del deficit di Mevalonato Kinasi

Livelli sierici di IgD sopra la norma, infatti, sebbene non così elevati come nella MKD, possono essere presenti anche in altre malattie autoinfiammatorie, nel diabete mellito, nei fumatori ed in gravidanza.

### Eziologia

La Mevalonato Kinasi è un enzima essenziale nella via di sintesi degli isoprenoidi, che produce diverse biomolecole coinvolte in svariati processi cellulari.

La sua azione enzimatica, subito seguente a quella dell'HMG-CoA reduttasi, permette la fosforilazione ATP-dipendente del mevalonato a 5-fosfomevalonato ed il suo deficit si riflette nella quota di acido mevalonico che si può riscontrare nel plasma e nelle urine dei pazienti affetti, con livelli molto alti in caso di Mevalonico Aciduria e moderato-bassi nei pazienti con MKD.

Sebbene una disregolazione di questa via sembri giocare un ruolo cardine nello sviluppo della febbre, al momento resta ancora poco chiaro il reale meccanismo che porta all'innesco dell'infiammazione sistemica.

Negli anni sono state avanzate diverse ipotesi patogenetiche e ad oggi solo due sono considerate le più probabili.

La prima sostiene che la causa degli episodi sia da imputare agli elevati livelli di acido mevalonico sierico. Tale ipotesi è stata formulata in base all'osservazione clinica della riduzione della frequenza e della gravità degli attacchi febbrili in sei pazienti adulti con MKD trattati con simvastatina, farmaco che inibisce l'HMG-CoA reduttasi e quindi diminuisce la quota di mevalonato da questa prodotta.

La seconda teoria, di più recente formulazione e basata su studi in vitro, afferma che l'infiammazione sia scatenata non tanto dall'accumulo di acido mevalonico quanto piuttosto da una carenza degli isoprenoidi a valle (in particolar modo del gruppo geranilgerani) con un aumento dell'attivazione della caspasi 1 e quindi un'ipersecrezione di IL-1 $\beta$ <sup>xxxii</sup>.

### **Manifestazioni cliniche**

La MKD è sostanzialmente una malattia pediatrica con esordio clinico molto precoce. Nella maggior parte dei casi, infatti, il primo attacco si ha durante l'infanzia (solitamente intorno ai sei mesi dalla nascita) ed è estremamente raro che si manifesti dopo la prima decade di vita.

La sintomatologia tende a persistere per diversi anni ma, in genere, diventa gradualmente meno intensa fino a scomparire in età adulta, con rare eccezioni.

Gli attacchi febbrili, spesso scatenati da infezioni o vaccini, ricorrono tipicamente ogni 3-6 settimane e durano dai 4 ai 6 giorni.

Le manifestazioni cliniche che più frequentemente accompagnano la febbre sono dolore addominale severo spesso associato a vomito e/o diarrea, linfadenomegalia laterocervicale e, nella metà dei pazienti, splenomegalia, interessamento muco-cutaneo (principalmente si evidenzia un rash eritematoso o di tipo orticarioide) ed infine un coinvolgimento articolare che va da semplici artralgie ad oligoartriti franche di solito simmetriche xxix<sup>,xxxiii,xxxiv</sup>.

Meno frequentemente, possono essere coinvolte anche altre stazioni linfonodali come quelle ascellari, inguinali e addominali profonde e possono manifestarsi differenti lesioni mucose come per esempio l'aftosi orale.

L'amiloidosi non è considerata una possibile complicanza della malattia a lungo termine ma, recentemente, è stata descritta in alcuni pazienti xxix<sup>,xxxv</sup>.

Durante gli attacchi febbrili nel plasma generalmente si rileva una leucocitosi neutrofila accompagnata da un rialzo degli indici di flogosi (VES, PCR, SAA).

Rispetto a quanto si pensava in passato, è stato recentemente riportato che il 22% dei pazienti con MKD presenta normali livelli sierici di IgD.

Tale dato suggerisce pertanto che il riscontro di elevate concentrazioni di IgD possa rappresentare un epifenomeno<sup>xxxvi,xxxvii,xxxviii</sup> della malattia e quindi non deve essere

considerato un marker diagnostico. Talvolta può essere presente anche un aumento delle IgA<sub>xxix</sub>·xxx<sup>i,xxxix</sup>.

Infine, in corso degli episodi febbrili possono aumentare i livelli di acido mevalonico dosabili nelle urine xxxvi<sup>·xl,xli,xlii</sup>.

### **Diagnosi**

La decisione di eseguire l'analisi molecolare alla ricerca di mutazioni del gene *MVK* in un bambino che presenta febbre periodica è di solito presa in base alle caratteristiche cliniche degli episodi e all'età di esordio della sintomatologia.

Sulla base del registro Olandese<sup>xliii</sup> sono state identificate Linee Guida rappresentate da un gruppo di sintomi la cui presenza deve indurre a pensare al deficit di Mevalonato Kinasi e quindi ad effettuare l'analisi molecolare (Figura 4)

Ad oggi sono state descritte più di 150 sostituzioni o delezioni a carico del gene *MVK*<sup>xliv</sup> (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>).

Alcune varianti, come la V310M e la A334T, sono strettamente associate ad un fenotipo severo di MA con un'importante diminuzione dell'attività della *MVK*<sup>xlv</sup>; altre, invece, come la H20P e la I268T sono state associate sia con il fenotipo tipico della MA che con quello della MKD (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>). Gattorno et al nel 2019 hanno proposto dei nuovi criteri classificativi per la MKD (figura 4a)

---

**TABLE 8.** Clinical Guideline for When to Consider Testing for HIDS

---

Consider testing for HIDS if patient has

Recurrent fever episodes lasting 3–7 days persisting more than 6 months

AND 1 or more of the following:

1. Sibling with genetically confirmed HIDS
  2. Elevated serum IgD (>100 IU/L)
  3. First attack after childhood vaccination
  4. Three or more of the following symptoms during attacks:
    - Cervical lymphadenopathy
    - Abdominal pain
    - Vomiting or diarrhea
    - Arthralgia or arthritis of large peripheral joints
    - Aphthous ulcers
    - Skin lesions
-

**Figura 4:** Linee guida proposte per la diagnosi di Iper-IgD dal gruppo Olandese

**Figura 4a:** Gattorno et al nel 2019 hanno proposto dei nuovi criteri classificativi per la MKD

#### Nuovi criteri classificativi Gattorno et al

Positive genetic test for MVK gene Increased urinary mevalonic acid during episodes Duration of attacks 3-7 days Fever Disease onset < 1 yr Increase of acute-phase reactants and serum amyloid A during fever episodes Increase IgD levels Presence of triggering factors (immunization, infection, minor trauma, surgery) Abdominal pain Lymphadenopathy (often painful) Early disease onset Cervical Lymphadenopathy Gastrointestinal manifestations Diarrhea Maculopapular rash Rash Mevalonate kinase activity Aphthosis Disease onset < 2 yrs Irregular periodicity Self-limiting episodes
--

La mutazione più comune è la variante V377I, che è associata esclusivamente ad un fenotipo lieve di MKD con un qualche residuo di attività enzimaticaxxvi e si riscontra, nella maggioranza dei pazienti, in eterozigosi compostaxxix·xlv.

E' possibile infine che alcuni pazienti presentino un fenotipo intermedio tra MA e MKD, caratterizzato dai tipici attacchi febbrili associati a manifestazioni neurologiche di gravità variabile<sup>xlvi</sup>.

Tale dato è a supporto della teoria per la quale la Mevalonico Aciduria e il Deficit di Mevalonato Kinasi rappresentino i due estremi opposti di un ampio spettro clinico di malattia.

#### **Trattamento**

Diverse terapie sono state provate nei pazienti affetti da HIDS.

Generalmente gli attacchi rispondono in modo eclatante alla somministrazione di steroide all'occorrenza (prednisone 1 mg/Kg/die in unica dose o per un breve ciclo di 3-5 giorni).

Alcuni pazienti, tuttavia, presentano episodi febbrili molto frequenti, ragione per cui possono necessitare di un trattamento steroideo quasi continuativo con conseguenti alte dosi cumulative.

In tal caso, vista la possibilità di importanti effetti collaterali legati alla terapia steroidea, soprattutto in età pediatrica, deve essere presa in considerazione la possibilità di avviare una terapia di fondo alternativa.

Purtroppo nessun farmaco si è ancora dimostrato essere definitivamente efficace nel trattamento della malattia.

Alcuni pazienti, inoltre, possono rispondere alla terapia con colchicina.

L'efficacia dell'utilizzo di farmaci biologici è aneddótico e in alcuni casi controverso.

L'utilizzo di farmaci anti-TNF (Etanercept) è risultato efficace nel ridurre la frequenza e l'intensità della febbre in alcuni pazienti<sup>xlvii</sup> ma non in altri<sup>xlviii</sup>; anche i farmaci anti IL-1 (Anakinra e Canakinumab) si sono recentemente rivelati efficaci in un paziente<sup>xlix</sup>.

E' stato dimostrato infine che la talidomide non è efficace nel trattamento di questa sindrome<sup>l</sup>.

## **Sindrome periodica associata al recettore del fattore di necrosi tumorale (TRAPS)**

La sindrome periodica associata al recettore del TNF (TRAPS) è una malattia genetica rara, a trasmissione autosomica dominante, causata da mutazioni del gene della super famiglia dei recettori 1A del TNF (*TNFRSF1A*).

E' stata descritta per la prima volta nel 1982 in una famiglia Irlandese e definita per questo motivo inizialmente "Familiar Hibernian Fever" (FHF; MIM 142680)<sup>li</sup>.

Dopo la scoperta del difetto genetico causale nel 1992 questo termine fu sostituito<sup>lii</sup> e divenne evidente che la sua diffusione fosse molto più ampia, includendo numerose popolazioni compresi gli Americani di colore, i Giapponesi e i discendenti di popolazioni mediterranee.

### **Patogenesi**

Ad oggi sono state descritte 114 mutazioni a carico del gene *TNFRSF1A*, delle quali 75 sono state identificate come causali per lo sviluppo della malattia<sup>xliv</sup> (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>).

La maggior parte delle mutazioni TRAPS-correlate sono mutazioni missenso ovvero si assiste alla sostituzione di un singolo amminoacido nei domini ricchi in cisteina CRD (CRD1, CRD2 o CRD3) situati nella porzione extracellulare del TNFR1 (detto anche p55 TNFR)<sup>xliv,liii,liv</sup>.

Tali domini, infatti, si sono rivelati molto importanti per il mantenimento di una corretta e stabile conformazione della proteina grazie alla formazione dei cosiddetti ponti disolfuro, saldi legami covalenti crociati.

Questi tipi di mutazioni mostrano un'alta penetranza e, generalmente, sono responsabili di un fenotipo clinico di malattia più aggressivo e più facilmente associato allo sviluppo di amiloidosi renale rispetto a quanto si verifici quando le mutazioni interessano domini distinti dai CRD.

Il significato di due mutazioni, P46L e R92Q, è di difficile interpretazione.

P46L sembra essere più un polimorfismo che una vera e propria mutazione causale.

R92Q, invece, si comporta come una mutazione a penetranza incompleta<sup>lv,lvi</sup> ed è la più frequentemente osservata nelle popolazioni caucasiche. Di solito è associata con una presentazione clinica meno aggressiva rispetto a quella tipica delle mutazioni strutturali, con un più alto tasso di risoluzione spontanea e una minore prevalenza di amiloidosi. Diversi

studi hanno evidenziato che la sua frequenza nella popolazione generale varia dall'1,2% al 4%.

Pertanto è necessario considerare con molta cautela il riscontro di questa variante all'analisi molecolare, specialmente nei bambini con febbre ricorrente<sup>lvii</sup>.

Per quel che riguarda i meccanismi patogenetici è stato riscontrato che in alcuni pazienti la concentrazione plasmatica della forma solubile del recettore del TNF è bassa o paradossalmente normale durante gli attacchi e può restare sotto i livelli normali anche nei periodi intercritici, suggerendo che possa esserci piuttosto un'alterazione qualitativa o quantitativa del recettore solubile.

Lo shedding del TNFR dalla membrana cellulare porta alla formazione di un pool di recettori solubili che possono competere con i recettori di membrana per il legame del TNF circolante. Tale meccanismo risulta essere un'importante strategia per la regolazione dell'effetto del TNF circolante durante un'inflammatione acuta.

E' stato quindi ipotizzato che alcune mutazioni a carico del *TNFRSF1A* vadano ad interferire con il processo di shedding<sup>lviii</sup>, comportando una mancata inibizione del TNF circolante e di conseguenza un'inflammatione incontrollata.

Tuttavia il ruolo di questo meccanismo patogenetico non è stato dimostrato in associazione a tutte le varianti genetiche, suggerendo quindi che possano esistere anche altri meccanismi coinvolti nella patogenesi della malattia.

A differenza del recettore p75, il recettore p55 è anche capace di indurre apoptosi cellulare attraverso l'attivazione della cascata delle caspasi.

Infatti, il recettore TNFR1 può determinare l'attivazione cellulare via NF- $\kappa$ B o l'apoptosi tramite l'attivazione di caspasi pro-apoptotiche.

In alcuni pazienti TRAPS è stato identificato un difetto dell'apoptosi indotta dal TNF<sup>lv</sup><sup>lvi</sup><sup>lix</sup>. Tale difetto, presente in pazienti con mutazioni strutturali a carico di *TNFRSF1A*, può definire un altro meccanismo responsabile della persistente attivazione delle cellule infiammatorie durante gli episodi febbrili.

Un ulteriore rilevante meccanismo correlato alla patogenesi della malattia è stato identificato tramite la trasfezione della forma mutata del TNFR in diversi tipi cellulari con il riscontro di un difetto nella migrazione del recettore verso la membrana cellulare ed un suo accumulo nel reticolo endoplasmatico, le cui possibili implicazioni sono ad oggi importante oggetto di studio.

E' stato infine di recente dimostrato un aumento nell'attivazione delle MAP-chinasi pro-infiammatorie a seguito di un'iperproduzione stress-indotta di ROS (Reactive Oxygen Species) da parte dei mitocondri<sup>lx</sup>.



### Manifestazioni cliniche

La malattia esordisce solitamente nella prima decade di vita, anche se può presentarsi a tutte le età.

Gli attacchi durano mediamente più di cinque giorni fino a tre settimane, solo raramente fino a sei, e ricorrono solitamente 2-4 volte l'anno specialmente nel periodo dei cambi di stagione (primavera e autunno).

La febbre, spesso molto elevata, si associa ad un coinvolgimento sistemico di diversi organi. Le manifestazioni cutanee sono presenti in più del 75% dei pazienti potendo variare da un rash simil-orticarioide fino alla presenza di chiazze o placche eritematose.

La lesione più frequente è rappresentata da placche tumefatte, calde, dolenti, di dimensione variabile e dai margini sfumati, causate da un quadro di pseudo-cellulite che interessa soprattutto gli arti, ma che può coinvolgere anche il tronco, con un andamento migratorio dalla radice alle parti più distali (Figura 5).



**Figura 5** : Sindrome TRAPS a) Rash simil orticarioide b) pseudocellulite agli AAI

c) quadro di fascite

A questa pseudo-cellulite spesso si associano mialgie molto dolorose, altra caratteristica manifestazione di malattia. Queste sono dovute all'infiltrazione della fascia muscolare ad opera di linfociti e monociti senza che vi sia in realtà un vero e proprio coinvolgimento del muscolo.

E' inoltre di comune riscontro l'interessamento delle sierose. Il dolore addominale, verosimilmente associato a sierositi asettiche, è spesso accompagnato da nausea, vomito ed alterazioni dell'alvo.

Allo stesso modo, anche se meno frequentemente, possono essere coinvolte anche la sierosa pleurica con dolore toracico e quella testicolare.

Caratteristico dell'esordio in età pediatrica è lo sviluppo di edema periorbitale perlopiù monolaterale. I sintomi oculari possono essere anche rappresentati da congiuntivite e uveite. Con l'aumentare dell'età si assiste, in genere, a una dilatazione dell'intervallo inter-episodico o addirittura alla scomparsa degli episodi acuti febbrili.

Subentra, infatti, un quadro clinico ad andamento sub-cronico ed ondulante caratterizzato da assenza di febbre ma presenza di dolore addominale, artro-mialgie e sintomi oculari, associati ad una persistente, seppur leggera, elevazione delle proteine di fase acuta, tra cui la sieroamiloide A (SAA).

Una percentuale variabile dal 10 al 25% dei pazienti può sviluppare amiloidosi renale, la principale complicanza della malattia, che può portare all'insufficienza d'organo e può interessare, anche se molto raramente, anche il fegato con conseguente insufficienza epatica. Lo sviluppo di amiloidosi è più frequente in quei pazienti con mutazioni nei domini ricchi in cisteina e con storia familiare positiva per amiloidosi.

### **Diagnosi**

La diagnosi di TRAPS è sospettata su una base clinica e viene poi confermata dal riscontro del difetto genetico a carico del gene *TNFRSF1A*. In corso di febbre gli indici di flogosi risultano persistentemente elevati e come precedentemente accennato possono rimanere elevati anche nei periodi intercritici in caso di andamento cronicizzante della malattia.

Attualmente non sono presenti criteri clinici diagnostici per questa malattia. Pertanto il sospetto e diagnosi sono affidati al giudizio degli esperti. Attualmente sono presenti criteri classificativi avanzati da Gattorno et Al. (Figura 6)

## Nuovi criteri classificativi TRAPS

Positive genetic analysis for TNFRSF1A gene
Increase of acute-phase reactants and serum amyloid A during fever episodes
Recurrent prolonged episodes of fever
Periorbital edema
Positive family history
Irregular, long-lasting fever episodes
Abdominal pain
Myalgia
Fever lasting more than 7 days
Localized intense myalgia
Rash
Migratory rash
Duration of attacks 1-3 weeks
Arthralgia
Monocytic fasciitis
Increase of acute-phase reactants and serum amyloid A during fever episodes and between episodes
Fever lasting more than 5 days
Conjunctivitis
Recurrent episodes of fever
Painful maculopapular rash

**Figura 6: criteri classificativi Gattorno et al.**

### Terapia

Nei pazienti TRAPS la terapia steroidea è stata utilizzata con successo nel controllo a breve termine degli episodi infiammatori, ma la lunga durata e la ricorrenza degli stessi comporta molto spesso la somministrazione di alte dosi cumulative. Questo fatto, associato allo sviluppo di steroide-dipendenza che occasionalmente si riscontra in questi pazienti, può comportare la necessità di avviare terapie di fondo alternative quali quelle biologiche.

L'utilizzo di farmaci immunosoppressori, al contrario, si è rivelato del tutto inefficace sia nel prevenire lo sviluppo di amiloidosi, sia nel ridurre la frequenza e/o l'intensità degli attacchi<sup>xviii</sup> e, allo stesso modo, non è risultato efficace l'utilizzo di colchicina.

Quando la causa genetica ed il meccanismo patogenico della malattia vennero in parte svelati, si iniziarono a sperimentare i farmaci biologici<sup>iii</sup>.

Il primo farmaco utilizzato fu l'Etanercept (ENBREL®), un analogo del TNFR2, uno dei recettori solubili leganti TNF.

Inizialmente alcuni studi ne evidenziarono l'efficacia sia nella prevenzione degli episodi febbrili sia nel trattamento delle complicanze ma, tale risultato, è stato parzialmente smentito da studi più recenti in particolare per quel che riguarda il controllo della malattia a lungo termine<sup>lxi,lxii,lxiii,lxiv,lxv</sup>.

Inoltre, in alcuni soggetti, l'utilizzo di anticorpi monoclonali anti-TNF, ad esempio l'Infliximab, ha portato a una reazione paradossa con esacerbazione di segni e sintomi infiammatori.

Per tale motivo, attualmente, non vi è indicazione all'utilizzo di questo farmaco in pazienti TRAPS<sup>lxvi</sup>.

Un'eccellente risposta è stata invece osservata trattando i pazienti con i farmaci bloccanti l'IL-1 $\beta$ .

Inizialmente si dimostrò che l'Anakinra (KINERET®), un antagonista ricombinante del recettore dell'IL-1, poteva essere utilizzato con efficacia e sicurezza anche nel lungo terminexix.

Più recentemente, il Canakinumab (ILARIS®), un anticorpo monoclonale umano che lega in modo selettivo l'IL-1 $\beta$  ha dimostrato di essere di pari efficacia terapeutica, con il considerevole vantaggio di consentire una posologia sottocutanea a ricorrenza mensile anziché giornaliera<sup>lxvii</sup>.

Di tale vantaggio gode anche il Tocilizumab (ROACTEMRA®), un antagonista dell'IL-6, anch'esso utilizzato con successo.

### **PFAPA (Sindrome da Febbre periodica, Stomatite aftosa, Faringite ed Adenite)**

La sindrome da febbre periodica, stomatite aftosa, faringite e adenite (PFAPA) è un'entità clinica che fu descritta per la prima volta nel 1987<sup>lxviii</sup>.

Rappresenta la causa più frequente di febbre periodica nel bambino ed è generalmente una malattia a prognosi benigna con risoluzione del corteo sintomatologico entro l'età scolare.

#### **Eziologia**

La causa è ancora sconosciuta: attualmente, infatti, non è stato individuato un gene causativo di malattia né tantomeno sono stati chiariti precisamente i meccanismi.

Tuttavia, durante gli attacchi, è stato riscontrato un aumento dell'espressione di geni correlati con IL-1, interferone, complemento e di chemochine tipiche dell'attività dei linfociti Th1<sup>lxix</sup>.

#### **Manifestazioni cliniche**

La malattia solitamente esordisce prima dei cinque anni di vita ed è caratterizzata da episodi di iperpiressia (generalmente >38°C) della durata di 4-8 giorni. Spesso questi episodi ricorrono in modo estremamente regolare nel tempo<sup>lxx,lxxi</sup> (mediamente ogni 21-28 giorni),

tanto che in alcuni i genitori e il paziente stesso sanno predire con estrema precisione il giorno esatto d'insorgenza della febbre.

Durante un attacco febbrile, i bambini si presentano spesso in buone condizioni generali, a differenza di quanto accade nelle altre febbri periodiche monogeniche. Questo può essere pertanto d'aiuto nella diagnosi differenziale con le altre forme di febbre ricorrente.

Diversi sono i sintomi che possono accompagnare l'episodio febbrile. Il coinvolgimento tonsillare è spesso il sintomo prevalente (presente nell'80-100% dei casi) con il riscontro di faringite (perlopiù essudativa) che si associa a linfadenopatia laterocervicale.

La linfadenomegalia si manifesta con linfonodi spesso molto aumentati di volume, non duri che tendono a tornare di dimensioni normali al termine dell'attacco febbrile.

Nel 60-70% si assiste anche alla comparsa di una stomatite aftosa con lesioni piccole, generalmente in numero di 2-4, che risolve spontaneamente nel giro di pochi giorni.

Talvolta può comparire anche dolore addominale con nausea o vomito, artralgie e cefalea.

Durante gli attacchi gli indici di flogosi e i parametri di laboratorio possono essere alterati, ma di solito si normalizzano con la risoluzione dell'attacco, a cui segue comunque un periodo di totale benessere generale.

### **Diagnosi**

La diagnosi si basa principalmente su criteri clinici (Criteri di Marshall) che prevedono la presenza di febbre periodica ad esordio precoce (< 5 anni) in associazione ad una o più delle tre manifestazioni cliniche caratteristiche (aftosi orale, adenite cervicale e faringite) in assenza di infezioni delle alte vie respiratorie e avendo escluso un quadro di neutropenia ciclica<sup>lxxii</sup>.

Visto il parziale overlap clinico, soprattutto nei primi anni di vita, con i pazienti con febbri periodiche monogeniche, la diagnosi differenziale tra queste condizioni non è sempre facile<sup>lxi,lv,lxxiii,lxxiv,lxxv</sup>.

Pertanto è importante monitorare longitudinalmente i pazienti con febbre periodica simil-PFAPA e, in caso di persistenza di frequenti episodi febbrili o di comparsa di sintomi evocativi per una forma monogenica o ancora in caso di mancata risposta al trattamento steroideo, ricercare eventuali mutazioni a carico dei 3 geni noti responsabili delle febbri periodiche monogeniche. Anche perché è stato recentemente dimostrato che un numero cospicuo di pazienti affetto da una febbre periodica monogenica presenta manifestazioni cliniche tali da poter soddisfare i criteri tipici della PFAPA<sup>lxxvi</sup>.

## **Terapia**

Una singola somministrazione di prednisone alla dose di 1-2 mg/Kg/dose all'insorgenza dei sintomi solitamente impedisce lo sviluppo del classico attacco febbrile<sup>lxx·lxxi·lxxv·lxxvii</sup> con la completa risoluzione della sintomatologia in poche ore. Tale risposta così eclatante è tipica dei pazienti affetti da PFAPA.

Tuttavia è stato osservato che la ripetuta somministrazione di steroide all'occorrenza può comportare un accorciamento del periodo intercritico con conseguente aumento della frequenza degli episodi e notevole impatto sulla qualità di vita dei bambini e della loro famiglia.

Per contrastare tale effetto si può riservare l'uso dello steroide esclusivamente agli episodi di maggiore intensità avvalendosi solo di terapia sintomatica di supporto nei restanti episodi. Diversi studi hanno dimostrato che la tonsillectomia (con o senza adenoidectomia) è curativa in una buona parte di pazienti<sup>lxxviii</sup> e può essere considerata un'opzione terapeutica in quei soggetti che necessitano di dosi frequenti di steroide o con una marcata diminuzione della qualità della vita.

## **SURF**

Nella pratica clinica quotidiana esiste una rilevante percentuale di pazienti con manifestazioni cliniche ascrivibili alle SAIDs, a cui l'analisi molecolare è incapace di associare una diagnosi e che quindi viene classificata come affetta da SURF (Systemic Undefined Recurrent Fever). Ad oggi, infatti, non è stato ancora identificato un gene causativo della malattia e né è possibile definire con certezza che tali pazienti siano in realtà affetti dalla sindrome PFAPA.

Essi manifestano episodi febbrili della durata media di 6 giorni con una mediana di un periodo di 3 settimane libero da sintomi, simile alla sindrome PFAPA, dolore addominale (di solito non accompagnato da nausea, vomito o diarrea) e lombalgia come sintomi più frequenti. La triade tipica di PFAPA (faringotonsillite, aftosi orale e linfadenite cervicale) è riportata meno frequentemente rispetto, per esempio, a rash cutaneo e artrite. Un altro sintomo atipico per la PFAPA, ma che si presenta in questi pazienti è l'epatosplenomegalia, mentre raro è il coinvolgimento a livello oculare con edema periorbitale e cardiaco con pericardite.

L'uso di corticosteroidi al bisogno sembra avere un razionale nella buona risposta al farmaco di molti pazienti; altri invece mostrano una completa o almeno parziale risposta alla colchicina, in percentuale maggiore rispetto ai pazienti con PFAPA. Nei pazienti colchicina-resistenti si può provare l'Anakinra, ma non sempre con successo: questo suggerirebbe un substrato di infiammazione indipendente dal pattern dell'IL-1beta.

In altri casi si può pensare al Micofenolato mofetile (MMF) o ad altri DMARDs come il Metotrexato o l'Azatioprina.

La tonsillectomia, invece, sembra essere inefficace, a differenza di quanto accade nella PFAPA.

La buona risposta alla colchicina permetterebbe, in accordo con gli storici criteri diagnostici di Tel Hashomer, indipendentemente dalla presenza della mutazione del gene MEFV, la classificazione clinica di questi pazienti come affetti da FMF, nonostante la durata della febbre e l'alta prevalenza di rash cutaneo non ne siano così tipici.

È possibile, però, che una parte di questi pazienti sia portatore di mutazioni tipiche di nuovi difetti genetici, ma è anche plausibile che la maggior parte presenti una condizione infiammatoria multifattoriale, che coinvolga possibilmente la via di attivazione RhoA-dependent dell'inflammasoma pirina, indipendentemente dalla presenza della mutazione del gene MEFV.

Con il fine di caratterizzare questo distinto sottogruppo di pazienti dalla più comune sindrome PFAPA Papa et al suggeriscono il termine di Febbre Ricorrente Sistemica Indefinita (SURF) e propongono una flowchart per l'identificazione e il trattamento di questi pazienti. (Figura 7) <sup>lxxix</sup>

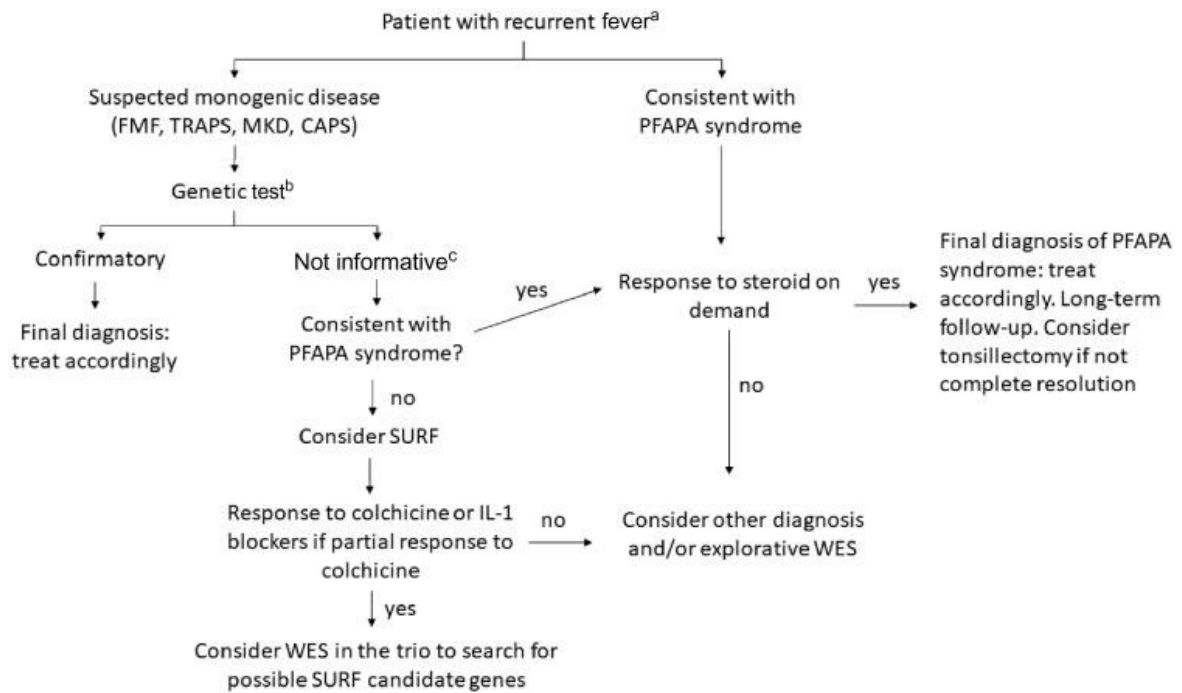


Figura 7: <sup>a</sup>After careful exclusion of other possible causes (infections, neoplasms, etc.). <sup>b</sup>With target Sanger sequencing or NGS diagnostic panels. <sup>c</sup>Consider carefully variants of unknown origin and low-penetrance variants, consider the possibility of somatic mosaicisms. CAPS: cryopyrin associated periodic syndrome; MKD: mevalonate kinase deficiency; NGS: next-generation sequencing; PFAPA: periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis; TRAPS: TNF receptor associated periodic syndrome.

### Scopo dello studio

Attualmente sono disponibili diversi tipi di trattamento terapeutico per le febbri ricorrenti (Dinarello et al. 1974; Cailliez et al. 2006; Gattorno et al. 2008; De Benedetti et al. 2018).<sup>lxxx</sup> Ognuno di essi ha come obiettivo quello di controllare il processo infiammatorio al fine di evitare l'insorgenza di complicazioni a lungo termine (Zemer et al. 1986).<sup>lxxxi</sup> Alla luce di questo, è importante monitorare nel tempo l'attività di malattia e la risposta al trattamento in atto (Singh et al. 2006).

Per la Febbre Familiare Mediterranea (FMF) esistono diversi score che valutano la severità di malattia (Mor et al. 2005; E et al. 1998; SOHAR and E. 1997), alcuni dei quali utilizzabili anche in età pediatrica (Demirkaya et al. 2016; S. Ozen et al. 2009). Questi strumenti



prendono in considerazione anche parametri che non variano nel tempo, come l'età di insorgenza dei sintomi, o che sono indicativi di sequele croniche, come amiloidosi o danno d'organo. Tali variabili, pertanto, non permettono il monitoraggio longitudinale dell'attività di malattia.

Per i pazienti FMF esiste inoltre uno score che permette la valutazione della risposta alla terapia in atto (Seza Ozen et al. 2014) <sup>lxxxii</sup>

Ad oggi è stato validato un unico score per la valutazione dell'attività di malattia delle principali febbri periodiche monogeniche (FMF, TRAPS, MKD e Criopirinopatie) (Piram et al. 2011; 2014). Tale score tuttavia non tiene conto di quei parametri, in primis i parametri di laboratorio, che caratterizzano la malattia in fase attiva. <sup>lxxxiii</sup>

Il nostro obiettivo è quello di creare uno score composito comprensivo di tutti i parametri necessari per valutare in modo specifico l'attività di malattia nei pazienti affetti da febbre ricorrente (FMF, TRAPS, MKD e PFAPA e SURF).

In tale modo si vuole fornire un pratico strumento per il monitoraggio dell'andamento di malattia nel tempo e per la valutazione dalla necessità di apportare modifiche al trattamento in atto qualora questo non ne permettesse un controllo ottimale. L'utilizzo di questo score potrebbe, inoltre, essere utile per futuri trials clinici e meta-analisi.

### **Materiali e metodi**

Il progetto è stato coordinato dalla Paediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO at [www.printo.it](http://www.printo.it)), ed è stato strutturato in due fasi sequenziali.

La prima fase permetterà la creazione dello score. Per fare questo saranno uniti e rielaborati i risultati ottenuti da una sistematica revisione della letteratura nel campo di interesse, quelli ottenuti dalla somministrazione alle famiglie/ai pazienti di questionari a risposta libera relativi alla loro impressione in merito all'attività di malattia e, infine, quelli ottenuti da una serie di surveys internazionali condotte utilizzando tecniche standardizzate (metodo Delphi, tecnica di gruppo nominale).

La seconda fase prevedrà la validazione prospettica dello score su pazienti affetti da febbre ricorrente, pediatrici ed adulti.

### **Revisione della letteratura**

L'obiettivo della sistematica revisione della letteratura è stato quello di ricercare tutti i parametri che sono stati nel tempo considerati come indicativi di attività di malattia per le sindromi infiammatorie con febbre ricorrente di interesse (FMF, TRAPS, MVK, PFAPA, SURF).

Si sono analizzate le pubblicazioni disponibili in PubMed al 31 dicembre 2019. Per la ricerca sono state utilizzate le seguenti parole chiave: (autoinflammatory) or (hereditary periodic fever) or (recurrent fever) or (familial mediterranean fever) or (MKD) or (Hyper-IgD) or (TNFRSF1A) or (PFAPA) and (activity).

Sono state considerate solo le pubblicazioni in lingua inglese, mentre non sono state considerati review, meta-analisi, systematic review e case reports.

### **Somministrazione alle famiglie/ai pazienti dei questionari per la valutazione soggettiva dell'attività di malattia**

Come successo per la creazione di altri score compositi (JADAS)<sup>lxxxiv</sup> si è ritenuto importante, al fine di ottenere il miglior core-set di variabili, l'inserimento del giudizio delle famiglie (o dei pazienti stessi qualora maggiorenni) in merito all'attività di malattia. Per fare questo, è stato somministrato un questionario a risposta libera, dove veniva chiesto di elencare tutte le condizioni, i sintomi, le situazioni che erano considerate come indicative di attività di malattia. Veniva specificata la completa libertà di compilazione, utilizzando una o più parole o anche frasi (figura 8)

I questionari sono stati somministrati telefonicamente a famiglie/pazienti affetti da FMF, TRAPS, MKD, PFAPA, SURF.

### **Il metodo Delphi**

Il metodo Delphi, che prende il suo nome dalla mitologia greca nella figura dell'oracolo dell'omonima città, è una tecnica che viene utilizzata per raggiungere un consenso unico e condiviso in un determinato campo di interesse. Questa tecnica si esplica in una sequenza di questionari anonimi, definiti "round", compilati da esperti in quel determinato campo. Ogni questionario si fonda sul risultato del precedente. Per ogni round si ottiene un grado maggiore di consenso, fino ad arrivare al raggiungimento del consenso finale condiviso. (Pill 1971)

Nel nostro studio il metodo Delphi è stato utilizzato per l'identificazione del core-set di variabili dello score composito.

I questionari sono stati inviati tramite e-mail grazie al supporto tecnico della rete PRINTO. Sono stati coinvolti tutti gli esperti che quotidianamente si occupano di trattamento e cura dei pazienti, bambini ed adulti, affetti da febbre ricorrente.

Il primo questionario è stato inviato via e-mail ai Centri/agli esperti appartenenti al network di Eurofever ed ai membri della società ISSAID e/o del gruppo di lavoro PRES per le malattie autoinfiammatorie.

Nel primo questionario, a testo libero, è stato chiesto agli esperti di indicare quali fossero in base alla loro esperienza le più importanti variabili per la valutazione dell'attività di malattia e della risposta alla terapia nei pazienti affetti da FMF, TRAPS, MKD, PFAPA e SURF. Potevano essere incluse variabili di ogni tipo. Si è provveduto a mandare almeno due avvisi a coloro dai quali non si otteneva risposta.

FIRST QUESTIONNAIRE SURVEY FOR THE CREATION OF A COMPOSITE SCORE TO ASSESS THE DISEASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH RECURRENT FEVER SYNDROMES (FMF, MKD, TRAPS, PFAPA, SURF)

Please list the variables (as many as you like) that you are currently using in your everyday clinical practice to evaluate the level of disease activity of your patients with RECURRENT FEVER SYNDROMES (Familial Mediterranean Fever, Mevalonate kinase deficiency, TNF receptor-associated periodic fever syndrome, PFAPA syndrome and Undefined Recurrent Fever), in order to understand if the patient has responded to a given treatment and/or has achieved a complete control of the disease.

You can include variables of any type: signs, symptoms, laboratory tests, questionnaires, indices of disease activity etc.

Number of HPFS patients seen in 1 year at your centre:.....

PLEASE LIST THE VARIABLES USED IN YOUR CLINICAL PRACTICE

1. ....
2. ....
3. ....
4. ....
- .....

**Figura 8: Primo round della Delphi**

Alla lista di variabili ottenute dal primo questionario si sono combinate quelle ottenute dalla revisione della letteratura e dall'analisi delle risposte ottenute dalle famiglie/dai pazienti

tramite la somministrazione dei questionari di attività di malattia, eliminando le ripetizioni. Tali variabili sono state elencate in ordine alfabetico.

Il secondo questionario sarà inviato a tutti gli esperti che avevano compilato il primo, a parte coloro che hanno rifiutato di essere ulteriormente coinvolti nel progetto. Verrà chiesto di scegliere, tra le variabili selezionate nel primo round, le 10 considerate più importanti. Secondariamente, verrà chiesto di assegnare un punteggio da 1 a 10 ad ogni variabile selezionata, dove con 1 si dovrà intendere la meno importante e con 10 la più importante. Ogni punteggio potrà essere usato solo una volta, anche se due variabili verranno considerate di uguale importanza. **(Figura 9)**

SECOND SURVEY FOR THE CREATION OF A COMPOSITE SCORE TO ASSESS THE DISEASE ACTIVITY IN PATIENTS WITH RECURRENT FEVER SYNDROMES (FMF, MKD, TRAPS, PFAPA, SURF)

The following variables are candidates measures for inclusion in the core set of the score for the evaluation of disease activity in patients with Recurrent Fever Syndromes. Variables in this list represents the measures indicated in the first survey or reported in the medical literature.

BECAUSE OF YOUR EXPERTISE AND INTEREST IN AUTOINFLAMMATORY DISEASES WE NOW ASK YOU TO COMPLETE THIS SECOND SURVEY:

1. Please select the TOP 10 VARIABLES by checking the appropriate box;
2. You should select the TOP 10 VARIABLES that can be measured in a meaningful way (quantitative or qualitative) in current clinical practice;
3. Please rank this TOP 10 VARIABLES in order of importance by assigning the number 10 to the most important measure, and the number 1 to the least important according to your personal opinion about its relative importance. Use each RANK ONLY ONCE even though you may feel some measures are equally important (no ties allowed, that is do not rank 2 variables with the same rank).

For this exercise we ask that you work EXACTLY WITH 10 VARIABLES (no more than 10 no

less than 10) even if in the final core set the number of variables might be lower/higher.

4. Please indicate the number of variables you think should be included in the score:

Minimum ..... Maximum .....

### **Figura 9: secondo round della Delphi**

Al termine del secondo round sarà quindi possibile stilare una nuova lista di variabili, includendo tutte quelle considerate almeno una volta dai partecipanti.

Per ognuna di queste variabili sarà considerata la somma tra i punteggi assegnati e la frequenza con cui ogni punteggio verrà assegnato, calcolando lo score mediano con il primo e il terzo quartile.

Verranno quindi selezionate le variabili con lo score più alto.

### **Identificazione del set di pazienti di cui valutare l'attività di malattia tramite lo score composito**

Al fine di identificare i pazienti di cui si valuterà lo stato di malattia tramite lo score composito, sarà possibile percorrere due strade alternative, in base all'esito dei passaggi sopra descritti.

Il primo scenario prevede l'utilizzo di dataset contenenti informazioni circa la storia di malattia di pazienti affetti da febbre ricorrente (FMF, TRAPS, MVK, PFAPA, SURF), come ad esempio il Registro Eurofever. Questa strada, tuttavia, sarà percorribile solo qualora tutte le variabili dello score siano presenti per ogni paziente in almeno due punti temporali distinti. Nel caso in cui nessun dataset soddisfacesse questi requisiti, si renderebbe necessario l'avvio di una raccolta dati in maniera prospettica. Si dovranno reclutare almeno 100 pazienti, pediatrici ed adulti, affetti da una delle febbri ricorrenti di interesse, seguiti da Centri di riferimento per malattie autoinfiammatorie. Tale raccolta avverrà sulla falsariga di un trial clinico, dove i pazienti arruolati saranno per definizione in fase attiva di malattia, intendendo con tale termine i pazienti al momento della diagnosi o i pazienti con una riacutizzazione in atto o ancora i pazienti che necessitano di introdurre una nuova terapia o di incrementare il dosaggio/la frequenza di somministrazione della terapia in corso. Qualora si dovesse avviare questa raccolta dati, verrebbe richiesta l'approvazione del comitato etico del Centro Coordinatore (Istituto Giannina Gaslini) per l'uso di dati clinici con il fine di ricerca. I pazienti arruolati saranno valutati dagli esperti dei diversi Centri.

## **Elaborazione dello score composito**

Per la selezione del miglior score composito verrà impiegata una combinazione tra criteri statistici e tecniche standardizzate per il raggiungimento di un consensus. In particolare, per raggiungere il consenso sul core-set di variabili che andranno a comporre lo score, verrà utilizzata la tecnica del gruppo nominale.

La tecnica di gruppo nominale è un tipo di intervista di gruppo ideata da Delbecq e Van de Ven negli anni '70<sup>lxxxv</sup> e prevede la compresenza fisica di un certo numero di esperti che si riuniscono intorno ad un tavolo, al fine di valutare la validità di una serie di indicatori precedentemente selezionati.

Usando la tecnica del gruppo nominale verrà deciso se ciascun paziente tra quelli identificati nei dataset o tramite arruolamento prospettico, si trova in fase inattiva o attiva di malattia, quest'ultima definita come lieve, moderata o severa. Solo i pazienti per cui si raggiungerà il consenso finale dell'80% saranno tenuti in considerazione nelle successive analisi. E' atteso il consenso per almeno l'80% dei pazienti.

A questo punto si valuterà la capacità di ogni variabile ottenuta tramite il metodo Delphi, di classificare l'attività di malattia di ciascun paziente per il quale è stato ottenuto il consenso. Si determinerà quindi la concordanza tra la performance della variabile ed il consenso degli esperti.

Per ogni variabile sarà calcolato il test del chi-quadro (1 grado di libertà) ed il corrispondente valore P, la sensibilità (la capacità di identificare come attivo quel paziente che è stato classificato attivo dagli esperti), la specificità (la capacità di identificare come non attivo quel paziente che è stato classificato inattivo dagli esperti), il tasso di falsi positivi (percentuale falsamente identificata come attiva dai criteri rispetto a tutti i pazienti identificati come attivi), il tasso di falsi negativi (percentuale di falsamente identificata come inattiva dai criteri rispetto a tutti i pazienti identificati come non migliorati) e l'area sotto la curva (ROC).

Si userà la costante K per misurare la forza della concordanza tra la variabile e il consenso degli esperti. Saranno selezionate solo le variabili con una costante  $K > 0.7$  (sostanziale concordanza), con sensibilità e specificità  $> 80\%$  e con un tasso di falsi positivi e falsi negativi  $< 20\%$ .

Nel caso in cui venisse raccolto un numero eccessivo di variabili o qualora ci fossero delle ridondanze, sarà necessario procedere con un'ulteriore selezione, sempre tramite l'utilizzo della tecnica di gruppo nominale. Verrà chiesto agli esperti quali variabili sono più

attendibili (hanno cioè una più alta validità di contenuto) e più facili da utilizzare, classificandole dalla migliore (punteggio più alto) alla peggiore (punteggio più basso).

Al fine di ottenere il miglior core-set di variabili per lo score composito, al termine di queste selezioni, per ogni variabile si sommeranno i punteggi di validità assegnati ed il risultato sarà moltiplicato per il valore corrispondente di costante K. In questo modo si otterrà lo score finale (AIDAS-ReFe). Tale score, quindi, sarà il risultato della combinazione tra il giudizio degli esperti e le opportune valutazioni statistiche.

### **Validazione dello score composito**

Lo score finale AIDAS-ReFe dovrà quindi essere validato prospetticamente in pazienti adulti e pediatrici affetti da febbre periodica. Si dovrà considerare un gruppo di almeno 100 pazienti, comprensivo di tutte le patologie incluse nello score. Per ogni paziente saranno necessarie almeno due valutazioni consecutive.

La validazione dello score si baserà sulla valutazione della sua validità di costrutto, della sua validità di discriminazione e della sua responsività, cioè la sua capacità di individuare qualsiasi cambiamento.

### **Procedure di validazione di ogni singola variabile dello score composito**

Per validare ognuna delle variabili che compongono il core-set dello score finale, verranno utilizzati i filtri OMERACT (Outcome Measures in Rheumatology).<sup>lxxxvi</sup>

La praticità delle variabili sarà determinata analizzandone la brevità, la semplicità, la facilità di scoring e la percentuale di valori mancanti. La forma e la validità di contenuto si baseranno sui risultati delle tecniche di consenso precedentemente espletate.

La responsività dello score sarà valutata determinando l'abilità di ogni variabile di identificare cambiamenti clinici significativi tra il baseline ed un follow-up a 6 mesi di distanza. Tale abilità verrà definita calcolando la risposta media standardizzata (SRM), cioè il rapporto tra il cambiamento medio assoluto dello score e la deviazione standard (SD) di quello stesso score, fornendo un intervallo di confidenza del 95% (95% CI). Un valore di SRM <0.5 sarà da considerarsi indicativo di una scarsa responsività, un valore compreso tra 0.5 e 0.8 di una responsività moderata mentre un valore  $\geq 0.8$  rappresenterà una responsività importante.

L'abilità discriminante dello score sarà stabilita valutando la sua capacità di distinguere i pazienti che hanno mostrato un cambiamento nello stato di attività di malattia da quelli per i quali invece lo stato di malattia è rimasto invariato, attività di malattia che verrà definita sulla base del giudizio espresso dai clinici e dei genitori (o dal paziente stesso in caso di maggiore età). Ai clinici ed ai genitori/al paziente infatti sarà richiesto al momento del follow-up di valutare lo stato di malattia comparandolo con il baseline e definendolo come migliorato, stabile o peggiorato. Al fine di rendere la valutazione dell'attività di malattia da parte del clinico indipendente rispetto allo score composito, la stessa sarà condotta da due operatori distinti, ognuno dei quali non sarà a conoscenza del giudizio dell'altro. I pazienti che verranno considerati come migliorati saranno comparati con quelli che invece verranno definiti come non migliorati (malattia stabile o peggiorata) utilizzando il t-test o lo U-test di Mann-Whitney. Inoltre si determinerà il livello di concordanza tra il giudizio del clinico e quello dei genitori/del pz tramite la costante K, utilizzando il valore soglia proposto da Landis & Koch.

Sarà inoltre analizzata la validità del costrutto convergente, cioè una forma di validazione che va ad esaminare se il costrutto in questione è correlato con altre variabili in maniera consistente con una previsione a priori. Come variabile surrogata è stato scelto il PhGA (physician's global assessment of the patient's overall disease activity) attraverso il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman (dove un valore  $>0.7$  è stato considerato elevato, un valore da 0.4 a 0.7 moderato e un valore  $< 0.4$  basso). È stato previsto che la correlazione tra il sottostante costrutto di attività di malattia ed il gold standard della misura surrogata si troverà nel range moderato e quindi fornirà una diversa prospettiva per evitare le ridondanze. Il problema della co-linearità (o ridondanza) delle variabili sarà esaminato tramite le medie del coefficiente di correlazione di Spearman; un coefficiente  $\geq 0.7$  rappresenterà l'evidenza di co-linearità.

La coerenza interna delle varie scale sarà determinata dal coefficiente alpha di Cronbach sui valori al baseline, con i seguenti cut off:  $<0.6$  = scarso,  $0.6-0.64$ = minimo,  $0.65-0.69$ = discreto,  $0.7-0.79$ = moderato,  $0.8-0.89$ = sostanziale,  $>0.9$  quasi perfetto. Un coefficiente alpha di Cronbach minimo-discreto sarà sufficiente per indicare la coerenza interna dello score, dimostrando la capacità delle variabili del core-set di "essere unite" nel rilevare il costrutto sottostante di attività di malattia.



Infine, si valuterà l'associazione tra le variabili dello score e l'attività di malattia definita dal giudizio del clinico. Per fare questo verrà utilizzata una regressione logistica multivariata dopo aver dicotomizzato le variabili del core-set secondo i migliori cut-off ottenuti dall'analisi delle curve ROC.

La determinazione dei migliori cutoff per ogni variabile dello score aiuterà il clinico a decidere se il paziente presenta una modifica dell'attività di malattia sulla base del cambiamento assoluto di quella determinata variabile.

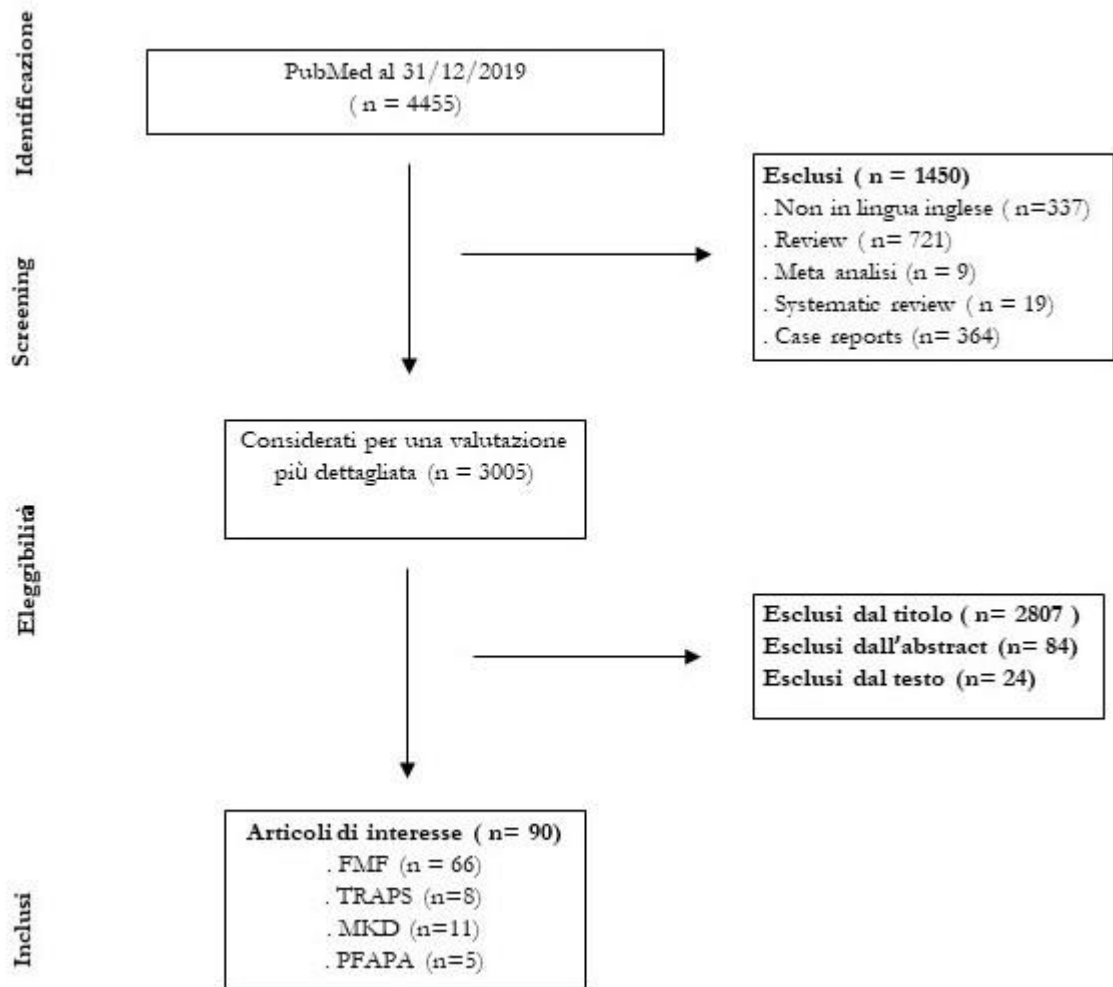
## **Risultati**

### **Revisione della letteratura**

Tramite la stringa di ricerca ((autoinflammatory) or (hereditary periodic fever) or (recurrent fever) or (familial mediterranean fever) or (MKD) or (Hyper-IgD) or (TNFRSF1A) or (PFAPA) and (activity))

sono stati individuati 4455 articoli. Di questi, 337 sono stati esclusi perché non in lingua inglese, 721 perché review, 9 perché meta-analisi, 19 perché systematic review e 364 perché case reports. Sono state quindi visionate le 3005 pubblicazioni restanti, ricercando la presenza di parametri utilizzati al fine di giudicare l'attività di malattia.

Come descritto in figura 10, per il fine sopra descritto, 2807 pubblicazioni sono state scartate dal titolo ed 84 dopo averne visionato l'abstract. Pertanto sono stati analizzati 114 articoli, dei quali 24 sono stati scartati in quanto non contenevano parametri di valutazione dell'attività di malattia; dai restanti 90 articoli sono stati estrapolati i parametri di valutazione dell'attività di malattia utilizzati dagli autori.



**Figura 10: revisione della letteratura**

Sono state considerate tutte le variabili citate almeno una volta, eliminando le ripetizioni e le ridondanze. Abbiamo proceduto malattia per malattia (tabelle 1,2,3,4), unendo quindi tutte le variabili in un'unica lista ed eliminando nuovamente le ripetizioni (tabella 5). Per comodità esecutiva le variabili sono state suddivise in base ai seguenti gruppi di appartenenza: segni e sintomi, variabili di laboratorio, scores/strumenti, altro.

Segni/sintomi clinici	Parametri di laboratorio	Score/Altri strumenti	Altro
febbre	indici di flogosi (SAA, PCR, VES)	International Severity Scoring for FMF (ISSF)	alterazione dell'attività fisica
sintomi articolari	microalbuminuria	Score di severità secondo Mor (FSS-1; FSS-2)	numero degli attacchi
manifestazioni cutanee	fetuin-A	Tel Hashomer disease SS ( severity score )	durata degli attacchi
sintomi toracici	leucocitosi	Pras severity score	frequenza degli attacchi
dolore addominale	fibrinogeno	VAS for the assesment of global patient well-being	giorni di scuola persi
dolore toracico	IL-1beta clivata	PGA (physician global assesment of damage and disease activity)	attacchi per mese
artralgia	IL-1beta	FMF-50	
mialgia	grelina	AIDAI	
dolore agli arti inferiori	adiponectina		
artrite	serum miR-204-3p		
sierositi: pleurite, pericardite, peritonite	vitamina D e B12		
cronicità (ascite/artrite cronica)	IL-2,IL-6,IL-12,IL-17,IL-18,IL-12p40,IL-10, S-IL2R		
sintomi costituzionali	conta dei globuli bianchi		
sintomi correlati alla FMF	S100A12		
eritema erisipela-like	CXCL10,IFNgamma,FsCD54		
splenomegalia	MPV		
astenia	conta delle piastrine		
palpitazioni	emocromo		
	esame delle urine e proteinuria		
	emoglobina e anemia		
	CTO		
	RvD1		
	creatinina sierica		
	espressione genica di RAC-1		
	biomarkers di infiammazione acuta		
	VEGF		
	Endothelial microparticles (EMPs CD144+ CD146+)		
	rapporto neutrofililinfociti		
	conta dei linfociti		

**(Tabella 1: FMF)**

Segni/sintomi clinici	Parametri di laboratorio	Score/Altri strumenti	Altro
febbre	SAA	PGA (physician global assesment)	numero di attacchi
rash	PCR	AIDAI	durata degli attacchi
dolore muscoloscheletrico agli arti inferiori	VES		uso di corticosteroidi e dosaggio
dolore addominale	conta dei neutrofililinfociti		profilo di espressione genica
manifestazioni oculari			
sintomi correlati alla TRAPS			

**(Tabella 2: TRAPS)**

Segni/sintomi clinici	Parametri di laboratorio	Score/Altri strumenti	Altro
febbre	SAA	AIDAI	numero di attacchi
rash	PCR	PGA (physician global assesment)	durata degli attacchi
linfadenopatia	VES	VAS	intensità degli attacchi
afte	acido mevalonico su urine		numero dei giorni febbrili
faringite	incremento dei livelli di IgA		
artralgia	emoglobina		
artrite	incremento dei livelli di IgD		
mialgia	conta dei globuli bianchi		
diarrea	conta dei neutrofili		
cefalea			

**(Tabella 3: MKD)**

Segni/Sintomi clinici	Parametri di laboratorio
febbre	SAA
stomatite aftosa	PCR
linfadenite cervicale	leucocitosi
faringite	conta dei neutrofili
	conta dei monociti
	CD64
	S100A8, S100A9, S100A12
	CXCL10, CCL4
	IL-6
	Interferongamma

**(Tabella 4: PFAPA)**

Segni/sintomi clinici	Parametri di laboratorio	Score/altri strumenti	Altro
Febbre	Indici di flogosi acuta: PCR, VES, SAA	ISSF (International Severity Score for FMF)	Numero di attacchi
Rash	Leucocitosi	Tel Hashomer severity score for FMF	Frequenza degli attacchi
Linfoadenopatia/linfoadenite cervicale	Conta dei neutrofili	Score di severità secondo Pras	Attacchi/mese
Afte/stomatite aftosa	Conta dei monociti	Score di severità secondo Mor (F-SS-1; F-SS-2)	Durata degli attacchi
Faringite/faringodinia	Rapporto neutrofili/linociti	FMF-50	Numero di giorni febbrili
Sintomatologia oculare, articolare, cutanea, toracica	Fibrinogeno	PGA (physician global assesment of damage and disease activity)	Intensità degli attacchi
Dolore addominale	Fetuin-A	VAS for the assessment of global patient well-being	Persistenza di episodi febbrili ricorrenti
Nausea/vomito	Conta delle piastrine	AIDAI	Giorni di assenza da scuola
Diarrea	Emoglobina		Alterazione dell'attività fisica
Dolore toracico	MPV		Profilo di espressione genica
Dolore degli arti inferiori/dolore muscolo-scheletrico delle estremità	Acido mevalonico su urine		Uso di corticosteroidi e dosaggio
Artrite	Incremento dei livelli di IgA; incremento livello di IgD		
Artalgia, mialgia	Vitamina D; Vitamina B12		
Sierositi: peritonite, pericardite, pleurite	IL-1beta; forma clivata di IL-1beta		
Rash erisipela-like	Creatinina sierica		
Palpitazioni	Esame urine		
Splenomegalia	Proteinuria		
Sintomi FMF-correlati	Microalbuminuria		
Cefalea	IL-2, IL6, IL-12, IL-12p40, IL-17, IL-18, IL-10		
Nefropatia secondaria ad amiloidosi	SA100A12; SA100A8; SA100A9		
Astenia	Interferone gamma		
Cronicità (ascite/artrite cronica)	G-CFS		
Sintomi TRAPS-correlati	VEGF		
Sintomi FMF-correlati	Serum-miR-204-3p		
	f sCD54		
	Chitotriosidasi (CTO)		
	RvD1		
	CD64		
	Fetuin-A		

**(Tabella 5: FMF, TRAPS, MKD, PFAPA)**

### Somministrazione dei questionari alle famiglie

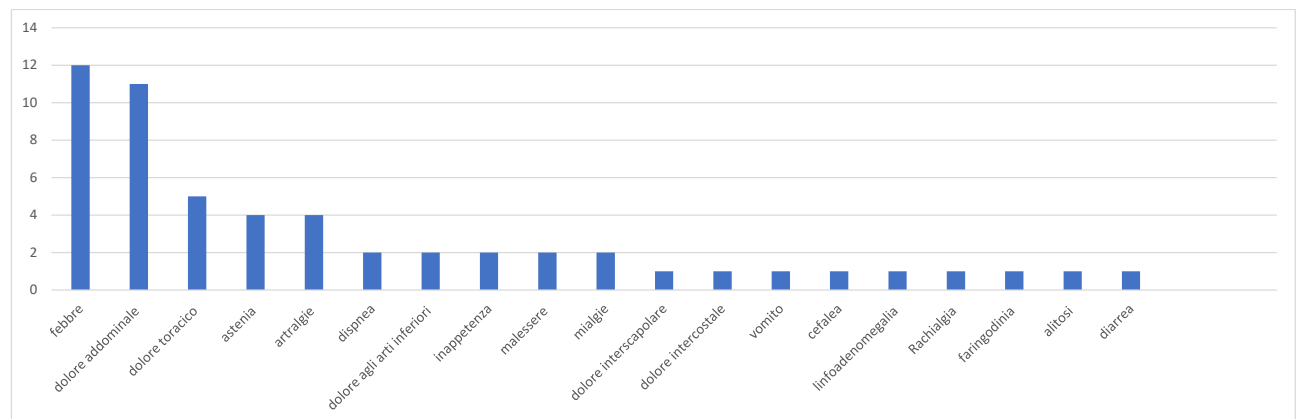
Per la somministrazione del questionario alle famiglie abbiamo selezionato i pazienti con diagnosi certa tra quelli seguiti regolarmente presso il nostro Centro. I pazienti affetti da febbre ricorrente monogenica (FMF, TRAPS, MKD) disponevano della conferma genetica.

I pazienti affetti da PFAPA soddisfacevano i criteri Eurofever/PRINTO per la classificazione ([http:// dx. doi. org/ 10. 1136/ annrheumdis- 2019- 215048](http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-215048)). I pazienti SURF sono stati identificati restando in linea con la definizione propria di questa condizione DOI: [10.1093/rheumatology/kez376](https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez376) <sup>lxxxvii</sup>

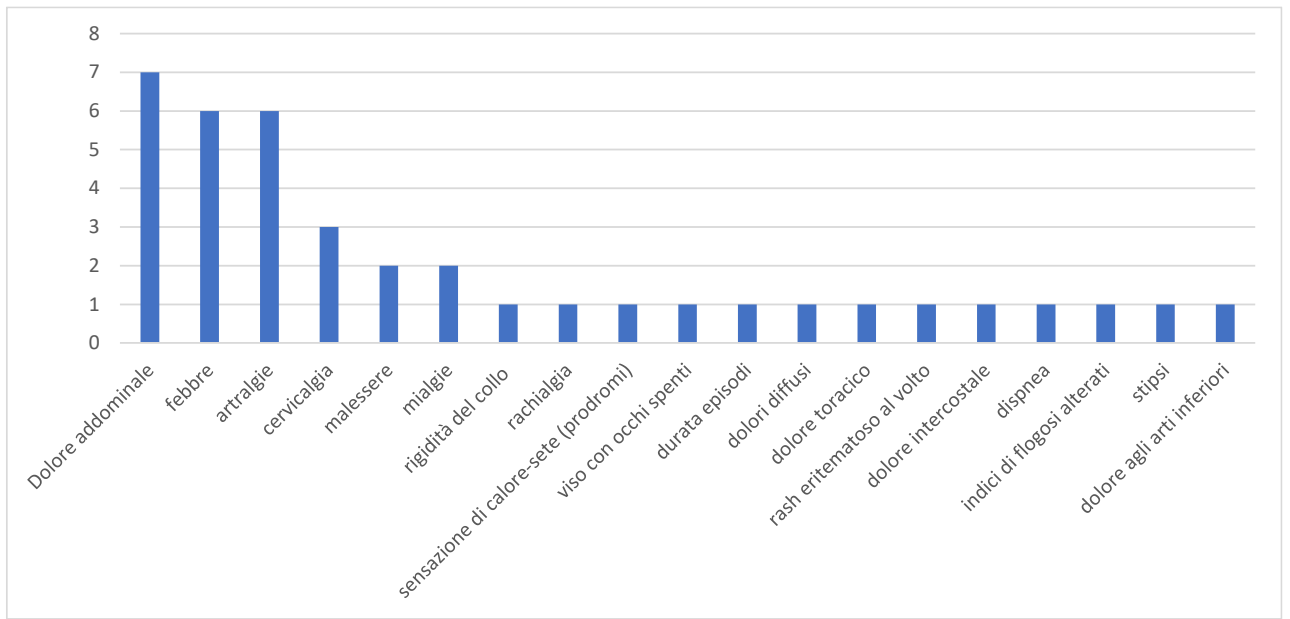
Tra i pazienti con uSAID seguiti presso il nostro Centro (analisi genetica negativa per mutazioni sicuramente patogeniche), abbiamo infatti selezionato coloro che presentavano febbre ricorrente associata a sintomatologia sistemica, quale in particolare dolore addominale, dolore agli arti e manifestazioni cutanee. Alcuni di essi, inoltre, mostravano una risposta al trattamento con colchicina.

Sono stati contattate 60 famiglie e da 54 di queste abbiamo ottenuto risposta (16 FMF, 10 PFAPA, 10 SURF, 9 MKD, 9 TRAPS).

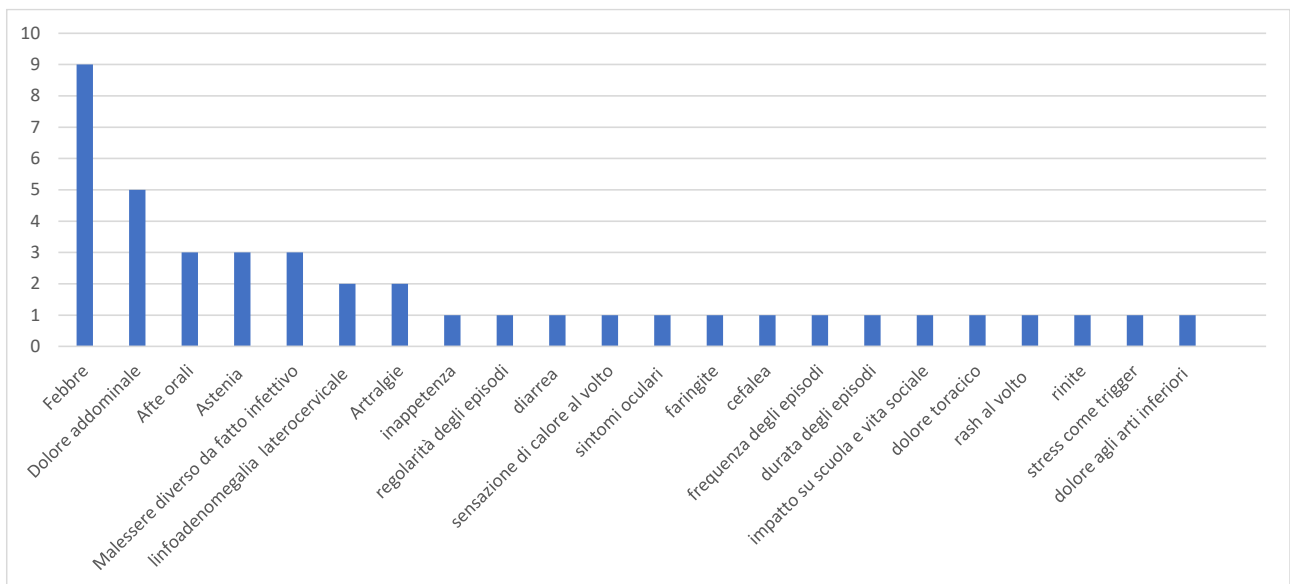
Abbiamo quindi redatto una lista di parametri per ognuna delle patologie (figure 11,12,13,14,15), procedendo alla creazione di un unico elenco riportando i sintomi in ordine alfabetico (tabella 6). Le (figure 11-15) evidenziano inoltre la frequenza di citazione dei diversi sintomi da parte delle famiglie.



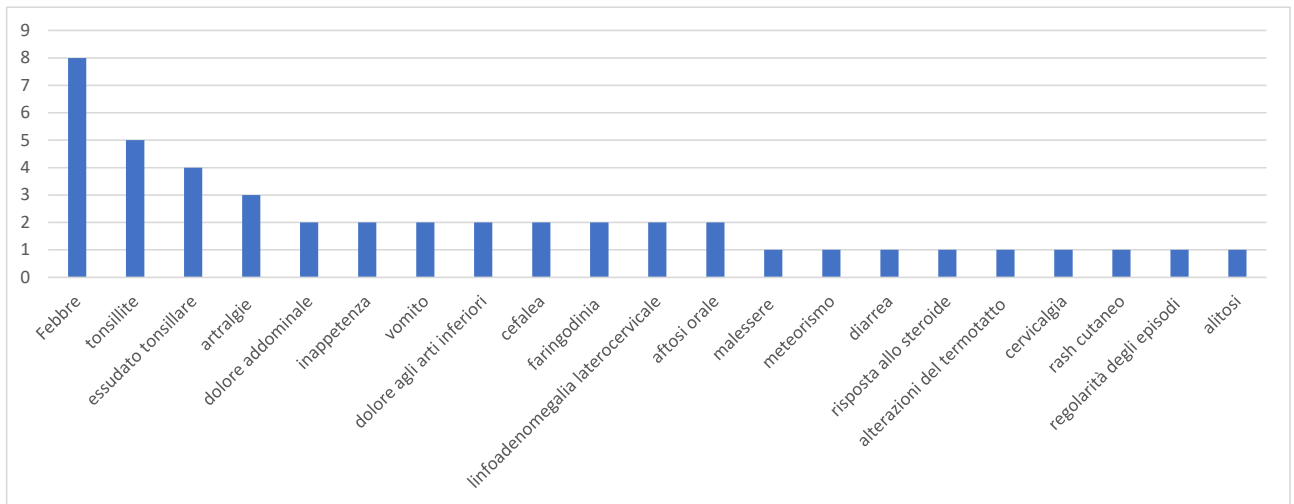
**(Figura 11 FMF)**



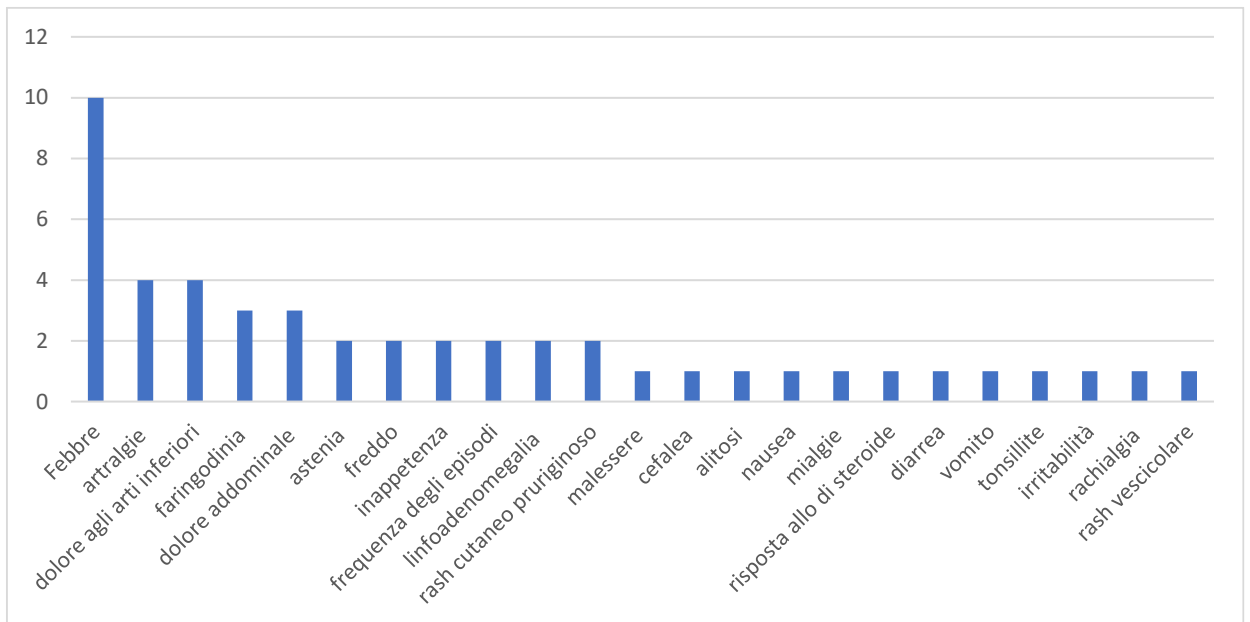
**(Figura 12 TRAPS)**



**(Figura 13 MKD)**



**(Figura 14 PFAPA)**



**(Figura 15 SURF)**



Sintomi FMF	Sintomi TRAPS	Sintomi MKD	Sintomi PFAPA	Sintomi SURF
alitosi	artralgie	afte orali	afte orali	afte orali
artralgie	cervicalgia	artralgie	alitosi	alitosi
astenia	dispnea	astenia	alterazioni del termotatto	artralgie
cefalea	dolore addominale	cefalea	artralgie	astenia
diarrea	dolore toracico	diarrea	cefalea	cefalea
dispnea	dolori diffusi	dolore addominale	cervicalgia	dolore addominale
dolore addominale	durata degli episodi	dolore agli arti inferiori	diarrea	dolore agli arti inferiori
dolore agli arti inferiori	febbre	dolore toracico	dolore addominale	essudato tonsillare
dolore al fianco	indici di flogosi alterati	durata degli episodi	dolore agli arti inferiori	faringodinia
dolore intercostale	malessere	faringite	essudato tonsillare	febbre
dolore interscapolare	mialgie	febbre	faringodinia	freddo
dolore toracico	rachialgia	frequenza degli episodi	febbre	frequenza degli episodi
faringodinia	rash eritematoso al volto	impatto su scuola e vita sociale	inappetenza	inappetenza
febbre	rigidità del collo	inappetenza	linfadenomegalia laterocervicale	irritabilità
inappetenza	sensazione di calore-sete (prodromi)	linfadenomegalia laterocervicale	malessere	linfadenomegalia sottomandibolare
linfadenomegalia	stipsi	malessere	meteorismo	malessere
malessere	viso con occhi spenti	malessere diverso da fatto infettivo	rash cutaneo	mialgie
mialgie		rash al volto	regolarità degli episodi	nausea
rachialgia		regolarità degli episodi	risposta allo steroide	rash cutaneo pruriginoso
vomito		rinite	tonsillite	rash vescicolare
		sensazione di calore al volto	vomito	risposta allo steroide
		sintomi oculari		tonsillite
		stress come trigger		vomito
		torcicollo		

(Tabella 6: questionari alle famiglie FMF, TRAPS, MKD, PFAPA, SURF)

### **Primo round di Delphi survey**

Il primo questionario è stato inviato a 108 esperti nel campo delle Febbri Ricorrenti, appartenenti alla rete di EUROFEVER, i membri della ISSAID society e/o PRES Autoinflammatory disease working party. Veniva richiesto di elencare, senza alcun limite di numero, tutte le variabili che secondo la loro esperienza definissero al meglio l'attività di malattia nei pazienti affetti dalle Febbri Ricorrenti in questione (FMF, MKD, TRAPS, PFAPA e SURF) (tabella 7)

101 esperti si sono dichiarati interessati. Coloro che si sono mostrati interessati al progetto hanno ricevuto due reminder di compilazione a distanza di due settimane l'uno dall'altro. Abbiamo ottenuto risposta da 87 tra gli interessati, raggiungendo l'80% delle adesioni.

Segni/sintomi clinici	Parametri di laboratorio	Score/Imaging	Altro
abdominal pain	24h albuminuria	ISSF	ADL/QoL
accompanying features	24h proteinuria	abdominal sonography	age at disease onset
AID related symptoms	ACE	AIDAI	age of onset less than 2 years
alopecia	active for of IL-1beta	bone xray	anamnesis
amenorrhea or any sexual dysfunction		chest xray	between consultation:phone contact if last visit more than months
amigdalitis	anemia	eurofever score	cardiologic examination including echocardiography
any visceral involment	blood biochemistry	FMF-50	change in anti IL-1 dosage
aphtous ulcers	blood ceII count	joint imaging	change in colchicine requirement
arthralgia	CAHQ	pain score	change in steroid requirement
arthritis	calprotectina	patient VAS for overall wellbeing	Cochicine resistance (in fully compliant patients - more than 3 typical attacks over a 4-6-month period in max colchicine dose/ In cases of incomplete attacks - at least 2 of 3 acute phase reactants (CRP, ESR, SAA) between attacks.)
astenia	CD64	patient/parent VAS for overall disease activity	Colchicine toxicity/ intolerance
back pain	chitotriosidase (CTO)	patient/parent VAS for pain	comorbidity
bad mouth smell	CK	patient's fever diary	compliance to treatment
blood pressure	complement	PGA (parent global assesment)	concomitant symptomatic therapy
bone pain	creatinine	PhGA (physician global assesment of damage and disease activity)	cumulative steroide dose required
bowel function abnormalities	CRP	Physical examination	dose and response to tocilizumab
cervical lymphnode enlargement	CRP and SAA between attacks	physician VAS for overall disease activity	duration of attacks
chest pain	CXCL9	PRIME-MD screening questions to detect depressive symptoms	ethnicity
chest symptoms	dna analysis	questionnaires	family history
chillblains	elevated acute phase reactants		fits
chills	Er	symptoms score	frequency of attacks
conjuntivitis	ESR	symptoms questionnaires	genetic profile
constipation	ferritine	VAS for chronic joint and muscolar pain	glucocorticoid toxicity
cutaneous lesions	fetuin-A	VAS for fatigue	good quality of sleep
cutaneous nodules	fibrinogen		History of Acute peritonitis or Appendectomy
cutaneous ulcers	fs CD54		history of infections
diarrhea	GCSF		History of tonsillectomy
dispnea	hyperpaquetosis		impact on daily life and activities
erysipela	IFN gamma		intensity of episodes
eye symptoms	IFN signature		Intestinal adhesive obstruction (in anamnesis or on admission)
fascitis	IgA levels increase		joint count
fatigue	IgD levels increase		lost days of school/work
fever/recurrent fever	IL-10		need of glucocorticoids
FMF-related symptoms	IL-12		need to change therapy
growth impairment (height and weight)	IL-12p40		negative culture pharyngeal swab during febrile episodes
hands temperature alteration	IL-17		no response to antibiotics
headache	IL-18		number of attacks
hepatosplenomegaly	IL-18		number of episodes of fever without infections during the last 6 months
irritability	IL-1beta		number of tables to control attacks
itchy skin rash	IL-1beta MRNA		number of visit to phisycians linked to the condition (emergency department, pediatrician, GP)
			periodic assesment bone mineral density

lack of appetite	IL-2		periodicity of attacks
leg pain	IL-6		Positive family history of kidney amyloidosis
limb pain	images		presence of clinical manifestations associated to elevation of acute phase reactants (even without a clear fever episodes)
lethargy	immunoglobulins		puberty delay (according to Tanner pubertal development scales)
lymphnode enlargement	laboratory tests		Repeated isolated febrile attacks
malabsorption	LDH		response to treatment already used
malaise	liver enzymes		severity of attacks
meteorism	low serum albumin		socioeconomical factors
migratory myofascitis	MEVF mutations and genotype		total remission after tonsillectomy
MKD-related symptoms	mevalonic acid in urine		triggering
monoarticular ankle pain	microalbumin/creatinine ratio		
morphology	microalbuminuria		
mucosal manifestations	MPV		
mucosal ulcers	platelets count		
multiorgan damage	procalcitonin test		
musculoskeletal symptoms	protein electrophoresis		
myalgia	protein/creatinine ratio		
Myalgia post-physical exercise	renal function		
nausea	S100A8/A9		
nephropathy due to amyloidosis	SAA		
Odynophagia	serum urea		
oral apthae	SF36		
orchitis	thyroid function		
overall symptoms	Urine analysis		
Overall well-being	VBB		
pain	white cell count		
painful lymphonodes			
periorbital oedema			
peritonitis			
pharingotonsillitis			
pharyngitis			
pleuritic pain			
pleuritis			
recurrent pericarditis			
Scrotal pain			
serosal pain			
serositis			
skin pustolosis			
skin rash			
sore throat			
stiff neck			
stuffy nose			
thrombosis			
tissue amyloidosis			
tonsillar hypertrophy			
tonsillar exudate			
TRAPS-related symptoms			
urticarial-like rash			
uveitis			
vaginal ulcers			
vasculitis			
vesicular rash			
vomiting			

**( Tabella 7: risultati Prima Delphi)**

## Creazione della lista definitiva di variabili

Al termine di queste tre ricerche condotte parallelamente, si è provveduto a stilare un'unica lista (tabella 8) che ne comprendesse i risultati, eliminando le ridondanze e le ripetizioni. Le variabili sono quindi state disposte in ordine alfabetico.

Infine agli esperti verrà richiesto di scegliere le 10 variabili per loro più efficaci per valutare l'attività di malattia, e di attribuire loro un punteggio da 1 a 10, dove uno rappresenta la meno efficace e 10 la più efficace. Si otterrà così un primo core-set di variabili che dovrà essere validato nelle fasi successive del progetto.

RISULTATI GLOBALI
ISSF (International Severity Score for FMF)
24h albuminuria
24h proteinuria
abdominal pain
abdominal sonography
accompanyng features
ACE
active form of IL-1beta
ADL, QoL
age at disease onset
age of onset less than 2 years
AID related syptoms
AIDAI
alopecia
amenorrea or any sexual disfunction
amigdalitis
anamnesis
anemia
any visceral involment
aphtous ulcers
arthralgia
arthritis
astenia
back pain
bad mouth smell
between consultations: phone contact if last visit more than months
Blood biochemistry
blood cell count
blood pressure
bone pain
bone xray
bowel function abnormalities
BSE
CAHQ
calprotectina
cardilologic examination including ecocardiography
CD64
cervical lymph node enlargement
change in anti IL-1 dosage
change in colchicine requirement
change in steroid requirement
chest pain
chest symptoms
chest xray
chillblains
chills

Chitotriosidasi (CTO)
CK
Cochicine resistance (in fully compliant patients - more than 3 typical attacks over a 4-6-month period in max colchicine dose/ In cases of incomplete attacks - at least 2 of 3 acute phase reactants (CRP, ESR, SAA) between attacks.)
Colchicine toxicity/ intolerance
comorbidity
complement
compliance to treatment
concomitant symptomatic therapy
conjunctivitis
constipation
creatinine
cronicity (ascites/cronic arthritis)
CRP
CRP and SAA inbetween attacks
cumulative steroid dose required
cutaneous lesions
cutaneous nodules
cutaneous ulcers
CXCL9
diarrhea
dispnea
dna analysis
dose and response to tocilizumab
duration of attacks
elevated acute phase reactants
Er? --> eritrociti?
Erysipelas
ESR
Ethnicity
eurofever score
eye symptoms
family history
fascitis
fatigue
ferritin
Fetuin-A
fever/recurrent fever
fibrinogen
fits
FMF-50
FMF-related symptoms
frequency of attacks
f <sub>s</sub> CD54
GCSF
getetic profile

glucocorticoid toxicity
good quality of sleep
growth impairment (height and weight)
hands temperature alteration
headache
hepatosplenomegaly
History of Acute peritonitis or Appendectomy
history of infections
History of tonsillectomy
hyperpaquetosis (?)
IFN gamma
IFN signature
IgA levels increase
IgD levels increase
IL-10
IL-12
IL-12p40
IL-17
IL-18
IL-18
IL-1beta
IL-1beta MRNA
IL-2
IL-6
images
immunoglobulins
impact on daily life and activities
intensity of episodes
Intestinal adhesive obstruction (in anamnesis or on admission)
irritability
itchy skin rash
joint count
joint imaging
laboratory tests
lack of appetite
LDH
leg pain
lethargy
limb pain
liver enzymes
lost days of school/work
low serum albumin
lymph node enlargement
malabsorption
malaise
MEFV gene mutations and genotype
meteorism

glucocorticoid toxicity
good quality of sleep
growth impairment (height and weight)
hands temperature alteration
headache
hepatosplenomegaly
History of Acute peritonitis or Appendectomy
history of infections
History of tonsillectomy
hyperpaquetosis (?)
IFN gamma
IFN signature
IgA levels increase
IgD levels increase
IL-10
IL-12
IL-12p40
IL-17
IL-18
IL-18
IL-1beta
IL-1beta MRNA
IL-2
IL-6
images
immunoglobulins
impact on daily life and activities
intensity of episodes
Intestinal adhesive obstruction (in anamnesis or on admission)
irritability
itchy skin rash
joint count
joint imaging
laboratory tests
lack of appetite
LDH
leg pain
lethargy
limb pain
liver enzymes
lost days of school/work
low serum albumin
lymph node enlargement
malabsorption
malaise
MEFV gene mutations and genotype
meteorism



physician VAS for overall disease activity
platelet count
pleuritic pain
pleuritis
Positive family history of kidney amyloidosis
presence of clinical manifestations associated to elevation of acute phase reactants (even without a clear fever episodes)
PRIME-MD screening questions to detect depressive symptoms
procalcitonin test
protein electrophoresis
protein/creatinine ratio
puberty delay (according to Tanner pubertal development scales)
questionnaires
recurrent pericarditis
renal function
Repeated isolated febrile attacks
response to treatment already used
S100A8/A9
SAA
Scrotal pain
serosal pain
serositis
serum urea
severity of attacks
SF36
skin pustulosis
skin rash
socioeconomic factors
sore throat
stiff neck
stuffy nose
symptom scores
symptoms questionnaires
thrombosis
tissue amyloidosis
tonsillar hypertrophy
tonsillar exudate
total remission after tonsillectomy
TRAPS-related symptoms
triggering
thyroid function
Urine analysis
urticarial-like rash
uveitis
vaginal ulcers
VAS for chronic joint and muscular pain
VAS for fatigue

Vasculitis
VBB
vesicular rash
vomiting
white cell count

**(Tabella 8: risultati globali)**

## Discussione

Il nostro lavoro pone le basi per la creazione dello score composito finale.

Abbiamo deciso di includere nello score forme geneticamente determinate (FMF, TRAPS, MVK) e non (SURF, PFAPA). Abbiamo volutamente scelto di non prendere in considerazione le criopirinopatie (Cryopyrin Associated Periodic Syndromes, CAPS), una classe di malattie autoinfiammatorie monogeniche che rappresenta a nostro avviso una realtà a sé stante e ben distinta dalle altre forme, per cui l'inclusione all'interno di uno score composito comune avrebbe richiesto il verosimile inserimento di parametri non attinenti le condizioni caratterizzate da febbre ricorrente.

Abbiamo raccolto in maniera parallela tre liste di variabili. Tramite la sistematica revisione della letteratura abbiamo visionato più di 4000 pubblicazioni. Ci siamo concentrati sull'analisi di trial, studi clinici e case series. La nostra ricerca ha permesso di evidenziare come non ci sia un criterio unico e standardizzato per definire l'attività di malattia nelle febbri ricorrenti. La lista di parametri ottenuta, infatti, contiene numerose e diverse variabili. Riteniamo significativo il fatto che solo alcuni lavori prendessero in considerazione gli score al momento esistenti, comunque integrandoli con altri parametri tra cui quelli laboratoristici e scale di giudizio del paziente/del genitore. Veniva quindi effettuata, di fatto, l'integrazione che sta alla base del nostro progetto.

Per indagare l'opinione delle famiglie è stata somministrata un'intervista a risposta libera in cui veniva richiesto di elencare quali fossero i parametri ritenuti importanti per definire l'attività di malattia. Inizialmente era prevista la somministrazione delle interviste al momento di un controllo clinico presso il nostro Centro, con indicazione a spedire le risposte via e-mail al fine di evitare una compilazione affrettata. Tuttavia, per il sopraggiungere dell'emergenza correlata alla pandemia da Sars-Cov-2 e la conseguente sospensione di tutte le attività cliniche differibili, si è deciso di procedere con la somministrazione telefonica dell'intervista, fornendo l'opzione di inviare le risposte tramite e-mail in un secondo momento. Per quello che riguarda il campione selezionato, si tratta di un gruppo abbastanza uniforme, formato da un numero paragonabile di pazienti per ognuna delle cinque patologie di interesse.

Per il primo round di Delphi survey sono stati coinvolti più di 100 esperti nel campo delle sindromi autoinfiammatorie. Anche in questo caso, il momento storico in cui tale indagine è stata condotta ha portato ad un modesto ritardo nel suo completamento. Alcuni esperti, infatti, impegnati nell'emergenza Covid-19, non hanno dato disponibilità immediata alla

risposta. Per tale motivo è stato necessario procrastinare di circa un mese la prima deadline stabilita per arrivare ad ottenere almeno l'80% delle risposte.

La lista finale di variabili è stata ottenuta dalla fusione delle tre ricerche, eliminando le ripetizioni e le ridondanze. Quello che si è ottenuto è un lungo elenco, comprensivo di numerose e diverse misure che nella loro totalità prendono in considerazione l'attività di malattia sotto ogni punto di vista ed in maniera completa. Si tratta ovviamente di un insieme ancora grezzo e che sarà soggetto a modifiche nel corso degli step successivi del lavoro. Tuttavia riteniamo che sia già possibile ravvedere in esso diversi punti di forza, che rappresentano delle basi solide sulle quali costruire i passaggi successivi del progetto.

Come era facile aspettarsi, numerosi parametri evidenziati singolarmente con le tre suddette ricerche andavano a sovrapporsi.

Riteniamo sia di rilievo il fatto che parametri di laboratorio, quali i principali indici di flogosi ematici, siano stati ritrovati in quasi tutti i lavori in letteratura ed allo stesso tempo siano stati indicati da molteplici esperti come importanti per la definizione di attività di malattia. La sierioamiloidoide A è stata citata in assoluto il maggior numero di volte dagli esperti. Come noto, l'amiloidosi è una delle complicanze a lungo termine tipiche delle febbri ricorrenti, in particolare della Febbre Mediterranea Familiare e della TRAPS<sup>lxxxviii</sup>. Il monitoraggio della sierioamiloidoide A risulta pertanto importante per il controllo dello stato infiammatorio cronico, soprattutto quello subclinico. Questo a conferma del nostro iniziale presupposto secondo cui l'unico score al momento presente per la valutazione dell'attività di malattia nelle febbri ricorrenti<sup>lxxxix</sup>, che si basa esclusivamente sulla clinica, sia di fatto incompleto. D'altro canto, nessuna delle ricerche ha dato particolare rilevanza a parametri fissi e non modificabili, quali ad esempio la determinazione genetica e la presenza di sequele croniche, parametri sono tra quelli utilizzati dagli scores esistenti per la valutazione della severità di malattia. Ciò conferma come il dato dell'attività di malattia non sia del tutto sovrapponibile a quello della severità, la quale è sicuramente influenzata da parametri immodificabili, quali le mutazioni genetiche. Si conferma quindi come questi gli score di severità di malattia non possano essere considerati adeguati nella determinazione di attività di malattia ed in particolar modo del suo andamento nel tempo.

Il nostro lavoro non è scevro da limitazioni.

Si tratta del primo step dell'intero progetto, i cui risultati, sebbene in linea con le basi intrinseche del progetto stesso, potranno essere modificati radicalmente nel corso dei successivi passaggi. E' improbabile ma possibile, per esempio, che le variabili che abbiamo

considerato al momento rilevanti in quanto maggiormente citate, non rientrano a far parte del core set finale dello score perché eliminate nelle lavorazioni successive.

Abbiamo ritenuto importante inserire il parere delle famiglie, come per altro già fatto per la creazione di altri score composti presenti in letteratura per malattie reumatologiche pediatriche<sup>xc</sup>. Il campione da noi utilizzato, per quanto omogeneamente distribuito nelle varie patologie, è comunque di piccole dimensioni ed affetto da possibili bias di raccolta. L'elenco di variabili ottenute è quasi esclusivamente formato da parametri clinici; questo riscontro è tuttavia da ritenersi atteso in quanto le risposte non sono state fornite da personale sanitario.

### **Conclusioni**

Il nostro lavoro pone le basi per la costruzione di uno score composto per la valutazione dell'attività di malattia in pazienti affetti da sindromi autoinfiammatorie con febbre ricorrente, score non ancora presente nell'ambito di tali patologie. L'obiettivo finale sarà quello di creare uno strumento semplice e di facile utilizzo attraverso il quale valutare lo stato di attività di malattia nei pazienti affetti. Riteniamo che poter disporre di un simile score sia molto importante, sia nella la pratica clinica al fine di controllare lo stato infiammatorio cronico evitando sequele a lungo termine, sia per eventuali trial e studi sperimentali.

## Bibliografia

- 
- <sup>i</sup> 1945, Siegal S. Benign paroxysmal peritonitis. *Ann Intern Med.* e 23:1–21.
- <sup>ii</sup> 1997, The French FMF Consortium. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet.* e 17(1):25–31.
- <sup>iii</sup> 1997, The International FMF Consortium. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell.* e 90(4):797–807.
- <sup>iv</sup> Chae JJ, Komarow HD, Cheng J, Wood G, Raben N, Liu PP, et al. Targeted disruption of pyrin, the FMF protein, causes heightened sensitivity to endotoxin and a defect in macrophage apoptosis. *Mol Cell.*
- <sup>v</sup> 2007, Dinarello CA. A signal for the caspase-1 inflammasome free of TLR. *Immunity.* e 26(4):383–5.
- <sup>vi</sup> Chae JJ, Wood G, Richard K, Jaffe H, Colburn NT, Masters SL, et al. The familial Mediterranean fever protein, pyrin, is cleaved by caspase-1 and activates NF-kappa B through its N-terminal fragment. *Blood.*
- <sup>vii</sup> Chae JJ, Cho YH, Lee GS, Cheng J, Liu PP, Feigenbaum L, et al. Gain-of-function pyrin mutations induce NLRP3 protein-independent interleukin-1beta activation and severe autoinflammation in mice. *Immunity.* 2011 e 34(5):755–68.
- <sup>viii</sup> La Regina M, Nucera G, Diaco M, Procopio A, Gasbarrini G, Notarnicola C, et al. Familial Mediterranean fever is no longer a rare disease in Italy (vol 11, pg 550, 2003). *Eur J Hum Genet.* 2003 e 11(7):550.
- <sup>ix</sup> Tunca M, Akar S, Onen F, Ozdogan H, Kasapcopur O, Yalcinkaya F, et al. Familial Mediterranean fever (FMF) in Turkey: results of a nationwide multicenter study. *Medicine. (Baltimore)* 2005 e 84(1):1–11.
- <sup>x</sup> Gedalia A, Adar A, Gorodischer R. Familial Mediterranean fever in children. *J Rheumatol Suppl.* 1992 e 35:1–9.
- <sup>xi</sup> Ben-Zvi I, Brandt B, Berkun Y, Lidar M, Livneh A. The relative contribution of environmental and genetic factors to phenotypic variation in familial Mediterranean fever (FMF). *Gene.* 2012 e 491(2):260–3.
- <sup>xii</sup> Lachmann HJ, Goodman HJ, Gilbertson JA, Gallimore JR, Sabin CA, Gillmore JD, et al. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med.* 2007 e 356(23):2361–71.
- <sup>xiii</sup> Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, Livneh A, Cattan D, et al. Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 2007 e 56(5):1706–12.
- <sup>xiv</sup> Bakkaloglu A, Duzova A, Ozen S, Balci B, Besbas N, Topaloglu R, et al. Influence of Serum Amyloid A (SAA1) and SAA2 gene polymorphisms on renal amyloidosis in patients with familial mediterranean fever in the Turkish population. *J Rheumatol.* 2004 e 31(6):11.
- <sup>xv</sup> Livneh A, Langevitz P, Zemer D, Zaks N, Kees S, Lidar T, et al. Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum.* 1997 e 40(10):1879–85.
- <sup>xvi</sup> Yalcinkaya F, Ozen S, Ozcakar ZB, Aktay N, Cakar N, Duzova A, et al. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology. (Oxford)* 2009 e 48(4):395–8.

- 
- <sup>xvii</sup> Federici S, Calcagno G, Finetti M, Gallizzi R, Meini A, Vitale A, Caroli F, Cattalini M, Caorsi R, Zulian F, Tommasini A, Insalaco A, Sormani MP, Baldi M, Ceccherini I, Martini A, Gattorno M. Clinical impact of MEFV mutations in children with periodic fever in a prevalent western European Caucasian population. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1961–1965
- <sup>xviii</sup> 1972, Goldfinger SE. Colchicine for familial Mediterranean fever. *N Engl J Med.* e 287(25):1302.
- <sup>xix</sup> 2003, Bakkaloglu A. Familial Mediterranean fever. *Pediatr Nephrol.* e 18(9):853–9.
- <sup>xx</sup> Ozkaya N, Yalcinkaya F. Colchicine treatment in children with familial Mediterranean fever. *Clin Rheumatol.* 2003 e 22(4–5):314–7.
- <sup>xxi</sup> Diav-Citrin O, Shechtman S, Schwartz V, Avgil-Tsadok M, Finkel-Pekarsky V, Wajnberg R, Arnon J, Berkovitch M, Ornoy A. Pregnancy outcome after in utero exposure to colchicine. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 Aug;203(2):144.e1-6.
- <sup>xxii</sup> Ozen S, Bilginer Y, Aktay Ayaz N, Calguneri M. Anti-interleukin 1 treatment for patients with familial Mediterranean fever resistant to colchicine. *J Rheumatol.* 2011 Mar;38(3):516-8.
- <sup>xxiii</sup> Erten S, Erten SF, Altunoglu A. Successful treatment with anti-tumor necrosis factor (anti-TNF)-alpha of proteinuria in a patient with familial mediterranean fever (FMF) resistant to colchicine: anti-TNF drugs and FMF. *Rheumatol Int.* 2012 Apr;32(4):1095-7. doi: 10.1007/s00296-011-1855-5. Epub 2011 Mar 23.  
Update on the management of colchicine resistant Familial Mediterranean Fever (FMF). *Orphanet J Rare disease* 2019 Oct 15;14(1):224. doi: 10.1186/s13023-019-1201-7
- <sup>xxiv</sup> Van der Meer JW, Vossen JM, Radl J, van Nieuwkoop JA, Meyer CJ, Lobatto S, et al. Hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever: a new syndrome. *Lancet.* 1984 e 1(8386):1087–90.
- <sup>xxv</sup> Gibson KM, Hoffmann GF, Tanaka RD, Bishop RW, Chambliss KL. Mevalonate kinase map position 12q24. *Chromosome Res.* 1997 e 5(2):150.
- <sup>xxvi</sup> Houten SM, Kuis W, Duran M, De Koning TJ et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nat Genet.* 1999 e 22(2):175–7.
- <sup>xxvii</sup> Cuisset L, Drenth JP, Simon A, Vincent MF et al. Molecular analysis of MVK mutations and enzymatic activity in hyper-IgD and periodic fever syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2001 e 9(4):260–6.
- <sup>xxviii</sup> Hoffmann GF, Charpentier C, Mayatepek E, Mancini J, Leichsenring M, Gibson KM, et al. Clinical and biochemical phenotype in 11 patients with mevalonic aciduria. *Pediatrics.* 1993 e 91(5):915–21.
- <sup>xxix</sup> D’Ossualdo A, Picco P, Caroli F, Gattorno M, Giacchino R, Fortini P, et al. MVK mutations and associated clinical features in Italian patients affected with autoinflammatory disorders and recurrent fever. *Eur J Hum Genet.* 2005 e 13(3):314–20.
- <sup>xxx</sup> Lawrence A, Hol F, Aggarwal A, Drenth JP. Hyperimmunoglobulinaemia D syndrome in India: report of two siblings with a novel mutation. *Ann Rheum Dis.* 2006 e 65(12):1674–6.
- <sup>xxxi</sup> Ammouri W, Cuisset L, Rouaghe S, Rolland MO, Delpech M, Grateau G, et al. Diagnostic value of serum immunoglobulinaemia D level in patients with a clinical suspicion of hyper IgD syndrome. *Rheumatology.* (Oxford) 2007 e 46(10):1597–600.
- <sup>xxxii</sup> Mandey SH, Kuijk LM, Frenkel J, Waterham HR. A role for geranylgeranylation in interleukin-1beta secretion. *Arthritis Rheum.* 2006 e 54(11):3690–5.
- <sup>xxxiii</sup> Drenth JP, Haagsma CJ, van der Meer JW. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. The clinical spectrum in a series of 50 patients. *International Hyper-IgD Study Group. Medicine.* (Baltimore) 1994 e 73(3):133–44.

- 
- <sup>xxxiv</sup> Frenkel J, Houten SM, Waterham HR, Wanders RJ, Rijkers GT, Duran M, et al. Clinical and molecular variability in childhood periodic fever with hyperimmunoglobulinaemia D. *Rheumatology*. (Oxford) 2001 e 40(5):579–84.
- <sup>xxxv</sup> Obici L, Manno C, Muda AO, Picco P, D' Osualdo A, Palladini G, et al. First report of systemic reactive (AA) amyloidosis in a patient with the hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome. *Arthritis Rheum*. 2004 e 50(9):2966–9.
- <sup>xxxvi</sup> S.M. Houten, W. Kuis, M. Duran, et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nat. Genet*. 22 (1999) 175–177.
- <sup>xxxvii</sup> Frenkel J., Houten S.M., Waterham H.R., et al. Mevalonate kinase deficiency and Dutch type periodic fever. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2000 e 18:525-532.
- <sup>xxxviii</sup> Saulsbury F.T. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome (HIDS) in a child with normal serum IgD, but increased serum IgA concentration. *J. Pediatr*. 2003 e 143:127-129.
- <sup>xxxix</sup> Klasen I.S., Goertz J.H., van de Wiel G.A., et al. Hyper-immunoglobulin A in the hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Clin. Diagn. Lab. Immunol*. 2001 e 8:58-61.
- <sup>xl</sup> Drenth J.P., Cuisset L., Grateau G., et al. Mutations in the gene encoding mevalonate kinase cause hyper-IgD and periodic fever syndrome. International Hyper-IgD Study Group. *Nat. Genet*. 1999 e 22:178-181.
- <sup>xli</sup> Frenkel J., Houten S.M., Waterham H.R., et al. Clinical and molecular variability in childhood periodic fever with hyperimmunoglobulinaemia D. *Rheumatology (Oxford)* 2001 e 40:579-584.
- <sup>xlii</sup> Kelley R.I., Takada I. Hereditary periodic fever. *N. Engl. J. Med*. 2002 e reply-6, 346:1415-1416.
- <sup>xliii</sup> Jeroen C. H. van der Hilst, Evelien J. Bodar, Karyl S. Barron, Joost Frenkel, Joost P. H. Drenth, Jos W. M. van der Meer, Anna Simon, and the International HIDS Study Group. Long-Term Follow-Up, Clinical Features, and Quality of Life in a Series of 103 Patients With Hyperimmunoglobulinemia D Syndrome. *Medicine: Volume 87, Number 6, November 2008*
- <sup>xliv</sup> Touitou I, Lesage S, McDermott M, Cuisset L, Hoffman H, Dode C, et al. Infervers: An evolving mutation database for auto-inflammatory syndromes. *Hum Mutat*. 2004 e 24(3):194–8.
- <sup>xlv</sup> Mandey SH, Schneiders MS, Koster J, Waterham HR. Mutational spectrum and genotype-phenotype correlations in mevalonate kinase deficiency. *Hum Mutat*. 2006 e 27(8):796–802.
- <sup>xlvi</sup> Simon A, Kremer HP, Wevers RA, Scheffer H, De Jong JG, van der Meer JW, et al. Mevalonate kinase deficiency: Evidence for a phenotypic continuum. *Neurology*. 2004 e 62(6):994–7.
- <sup>xlvii</sup> Takada K, Aksentijevich I, Mahadevan V, Dean JA, Kelley RI, Kastner DL. Favorable preliminary experience with etanercept in two patients with the hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Arthritis Rheum*. 2003 e 48(9):2645–51.
- <sup>xlviii</sup> Marchetti F, Barbi E, Tommasini A, Oretti C, Ventura A. Inefficacy of etanercept in a child with hyper-IgD syndrome and periodic fever. *Clin Exp Rheumatol*. 2004 e 22(6):791–2.
- <sup>xlix</sup> Cailliez M, Garaix F, Rousset-Rouviere C, Bruno D, Kone-Paut I, Sarles J, et al. Anakinra is safe and effective in controlling hyperimmunoglobulinaemia D syndrome-associated febrile crisis. *J Inherit Metab Dis*. 2006 e 29(6):763. Judith Sánchez-Manubens, Estibaliz Iglesias, Jordi Anton. Canakinumab for the Treatment of Hyperimmunoglobulin D Syndrome. *Expert review of Clinical Immunology* 2019 Mar; 15 (3):215-220. doi: 10.1080/1744666X.2019.1571410. Epub 2019 Jan 26.
- <sup>1</sup> Drenth JP, Vonk AG, Simon A, Powell R, van der Meer JW. Limited efficacy of thalidomide in the treatment of febrile attacks of the hyper- IgD and periodic fever syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pharmacol*. 2001 e 298(3):1221–6.
- <sup>11</sup> Williamson LM, Hull D, Mehta R, Reeves WG, Robinson BH, Toghill PJ. Familial Hibernian fever. *Q J Med*. 1982 e 51(204):469–80.

- 
- <sup>lii</sup> McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999 e 133-44., 97(1).
- <sup>liii</sup> Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E et al. The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome: new mutations in TNFRSF1A, genotype-phenotype studies, evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet*. 2001.
- <sup>liv</sup> Aganna E, Hammond L, Hawkins PN, Aldea A, McKee SA, van Amstel HK, et al. Heterogeneity among patients with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome phenotypes. *Arthritis Rheum*. 2003 e 48(9):2632-44.
- <sup>lv</sup> D’Osualdo A, Ferlito F, Prigione I, Obici L, Meini A, Zulian F et al. Neutrophils from patients with TNFRSF1A mutations display resistance to tumor necrosis factor-induced apoptosis—Pathogenetic and clinical implications. *Arthritis Rheum*. 2006 e 54(3):998–1008.
- <sup>lvi</sup> Ravet N, Rouaghe S, Dode C, Bienvenu J, Stirnemann J, Levy P, et al. Clinical significance of P46L and R92Q substitutions in the tumour necrosis factor superfamily 1A gene. *Ann Rheum Dis*. 2006 e 65(9):1158–62.
- <sup>lvii</sup> Pelagatti MA, Meini A, Caorsi R, Cattalini M, Federici S, Zulian F, et al. Long-term clinical profile of children with the low-penetrance R92Q mutation of the TNFRSF1A gene. *Arthritis Rheum*. 2011 e 63(4):1141–50.
- <sup>lviii</sup> McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade B et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell*. 1999 e 97(1):133–44.
- <sup>lix</sup> Siebert S, Amos N, Fielding CA, Wang EC, Aksentijevich I, Williams BD et al. Reduced tumor necrosis factor signaling in primary human fibroblasts containing a tumor necrosis factor receptor superfamily 1A mutant. *Arthritis Rheum*. 2005 e 52(4):1287–92.
- <sup>lx</sup> Bulua AC, Simon A, Maddipati R, Pelletier M, Park H, Kim KY, et al. Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J Exp Med*. 2011 e 208(3):519–33.
- <sup>lxi</sup> Weyhreter H, Schwartz M, Kristensen TD, Valerius NH, Paerregaard A. A new mutation causing autosomal dominant periodic fever syndrome in a Danish family. *J Pediatr*. 2003 e 142(2):191–3.
- <sup>lxii</sup> Simon A, Bodar EJ, van der Hilst JC, van der Meer JW, Fiselier TJ, Cuppen MP, et al. Beneficial response to interleukin 1 receptor antagonist in traps. *Am J Med*. 2004 e 117(3):208–10.
- <sup>lxiii</sup> Arostegui JI, Solis P, Aldea A, Cantero T, Rius J, et al. Etanercept plus colchicine treatment in a child with TRAPS abolishes auto-inflammatory episodes without normalising the subclinical acute phase response. *Eur J Pediatr*. 2005 e 164(1):13–6.
- <sup>lxiv</sup> Jacobelli S, Andre M, Alexandra JF, Dode C, Papo T. Failure of anti-TNF therapy in TNF Receptor 1-Associated Periodic Syndrome (TRAPS). *Rheumatology*. (Oxford) 2007.
- <sup>lxv</sup> Bulua AC, Mogul DB, Aksentijevich I, Singh H, He D, Muenz L, et al. Efficacy of etanercept in the tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS). *Arthritis Rheum*. 2011.
- <sup>lxvi</sup> Nedjai B, Hitman GA, Quillinan N, Coughlan RJ, Church L, McDermott MF, et al. Proinflammatory action of the antiinflammatory drug infliximab in tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. *Arthritis Rheum*. 2009 e 60(2):619–25.
- <sup>lxvii</sup> Maria Giuseppina Brizi, MD; Mauro Galeazzi, MD; Orso Maria Lucherini, PhD; Luca Cantarini, MD, PhD; and Rolando Cimaz, MD. Successful Treatment of Tumor Necrosis Factor Receptor–Associated Periodic Syndrome With Canakinumab. *Ann Intern Med*. 19 June 2012;156(12):907-908
- <sup>lxviii</sup> Marshall GS, Edwards KM, Butler J, Lawton AR. Syndrome of periodic fever, pharyngitis, and aphthous stomatitis. *J Pediatr*. 1987, 110(1):43–46.



- 
- <sup>lxi</sup> Stojanov S, Lapidus S, Chitkara P, et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis (PFAPA) is a disorder of innate immunity and Th1 activation responsive to IL-1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011 e 7148-53., 108:.
- <sup>lxx</sup> Thomas KT, Feder HM, Lawton AR, Edwards KM. Periodic fever syndrome in children. *J Pediatr*. 1999 e 135(1):15–21.
- <sup>lxxi</sup> Padeh S, Brezniak N, Zemer D, et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome: clinical characteristics and outcome. *J Pediatr*. 1999 e –101., 135(1):98.
- <sup>lxxii</sup> Marshall GS, Edwards KM, Lawton AR. PFAPA syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 1989 e 8(9):658–659.
- <sup>lxxiii</sup> 2007, Lierl M. Periodic fever syndromes: a diagnostic challenge for the allergist. *Allergy*. e –1358., 62(12):1349.
- <sup>lxxiv</sup> Ozen S, Aktay N, Lainka E, Duzova A, Bakkaloglu A, Kallinich T. Disease severity in children and adolescents with familial Mediterranean fever: a comparative study to explore environmental effects on a monogenic disease. *Ann Rheum Dis*. 2009 e –248, 68(2):246.
- <sup>lxxv</sup> Gattorno M, Caorsi R, Meini A, et al. Differentiating PFAPA syndrome from monogenic periodic fevers. *Pediatrics* 2009;124:e721–8.
- <sup>lxxvi</sup> Gattorno M, Sormani MP, D’Osualdo A, et al. A diagnostic score for molecular analysis of hereditary autoinflammatory syndromes with periodic fever in children. *Arthritis Rheum*. 2008 e 58(6):1823–1832.
- <sup>lxxvii</sup> Tasher D, Somekh E, Dalal I. PFAPA syndrome: new clinical aspects revealed. *Arch Dis Child* 2006 e 91:981-4.
- <sup>lxxviii</sup> Garavello W, Pignataro L, Gaini L, et al. Tonsillectomy in children with periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis syndrome. *J Pediatr* 2011 e 138-42., 159 (1):.
- <sup>lxxix</sup> Papa R, Rusmini M, Volpi S, Caorsi R. Next Generation Sequencing Panel in Undifferentiated Autoinflammatory Diseases identifies patients with Colchicine-responders Recurrent Fevers. *Rheumatology (Oxford)* 2020 Feb 1;59(2):344-360.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM198604173141601>.
- <sup>lxxx</sup> Benedetti, Fabrizio De, Marco Gattorno, Jordi Antón, Eldad Ben-Chetrit, Joost Frenkel, Hal Hoffman, Isabelle Paut, et al. 2018. “Canakinumab for the Treatment of Autoinflammatory Recurrent Fever Syndromes.” *The New England Journal of Medicine* 378 (May): 1908–19. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal706314>.
- <sup>lxxxi</sup> Cailliez, M., F. Garaix, C. Rousset-Rouvière, D. Bruno, I. Kone-Paut, J. Sarles, B. Chabrol, and M. Tsimaratos. 2006. “Anakinra Is Safe and Effective in Controlling Hyperimmunoglobulinaemia D Syndrome-Associated Febrile Crisis.” *Journal of Inherited Metabolic Disease* 29 (6): 763.  
<https://doi.org/10.1007/s10545-006-0408-7>.
- Demirkaya, Erkan, Cengizhan Acikel, Philip Hashkes, Marco Gattorno, Ahmet Gul, Huri Ozdogan, Turker Turker, et al. 2016. “Development and Initial Validation of International Severity Scoring System for Familial Mediterranean Fever (ISSF).” *Annals of the Rheumatic Diseases* 75 (6): 1051–56.  
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2015-208671>.
- Dinarello, Charles A., Sheldon M. Wolfe, Stephen E. Goldfinger, David C. Dale, and David W. Alling. 1974. “Colchicine Therapy for Familial Mediterranean Fever: A Double-Blind Trial.” *New England Journal of Medicine* 291 (18): 934–37. <https://doi.org/10.1056/NEJM197410312911804>.
- E, Pras, Livneh A, Balow JE, Pras E, Kastner DL, Pras M, and Langevitz P. 1998. “Clinical Differences Between North African and Iraqi Jews With Familial Mediterranean Fever.” *American Journal of Medical Genetics* 75 (2). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19980113\)75:2<216::AID-](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19980113)75:2<216::AID-62)

- Gattorno, M., M. A. Pelagatti, A. Meini, L. Obici, R. Barcellona, S. Federici, A. Buoncompagni, A. Plebani, G. Merlini, and A. Martini. 2008. "Persistent Efficacy of Anakinra in Patients with Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Periodic Syndrome." *Arthritis and Rheumatism* 58 (5): 1516–20. <https://doi.org/10.1002/art.23475>.
- Mor, Adam, Yael Shinar, Nurit Zaks, Pnina Langevitz, Angela Chetrit, Shmuel Shtrasburg, Einat Rabinovitz, and Avi Livneh. 2005. "Evaluation of Disease Severity in Familial Mediterranean Fever." *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 35 (1): 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2005.02.002>.
- <sup>lxxxii</sup> Ozen, S., N. Aktay, E. Lainka, A. Duzova, A. Bakaloglu, and T. Kallinich. 2009. "Disease Severity in Children and Adolescents with Familial Mediterranean Fever: A Comparative Study to Explore Environmental Effects on a Monogenic Disease." *Annals of the Rheumatic Diseases* 68 (2): 246–48. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.092031>.
- Ozen, Seza, Erkan Demirkaya, Ali Duzova, Ozlem Erdogan, Eren Erken, Ahmet Gul, Ozgur Kasapcopur, et al. 2014. "FMF50: A Score for Assessing Outcome in Familial Mediterranean Fever." *Annals of the Rheumatic Diseases* 73 (5): 897–901. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204719>.
- Pill, Juri. 1971. "The Delphi Method: Substance, Context, a Critique and an Annotated Bibliography." *Socio-Economic Planning Sciences* 5 (1): 57–71. [https://doi.org/10.1016/0038-0121\(71\)90041-3](https://doi.org/10.1016/0038-0121(71)90041-3).
- <sup>lxxxiii</sup> Piram, Maryam, Joost Frenkel, Marco Gattorno, Seza Ozen, Helen J. Lachmann, Raphaela Goldbach-Mansky, Véronique Hentgen, et al. 2011. "A Preliminary Score for the Assessment of Disease Activity in Hereditary Recurrent Fevers: Results from the AIDAI (Auto-Inflammatory Diseases Activity Index) Consensus Conference." *Annals of the Rheumatic Diseases* 70 (2): 309–14. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.132613>.
- Piram, Maryam, Isabelle Koné-Paut, Helen J. Lachmann, Joost Frenkel, Seza Ozen, Jasmin Kuemmerle-Deschner, Silvia Stojanov, et al. 2014. "Validation of the Auto-Inflammatory Diseases Activity Index (AIDAI) for Hereditary Recurrent Fever Syndromes." *Annals of the Rheumatic Diseases* 73 (12): 2168–73. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203666>.
- Singh, Jasvinder A., Daniel H. Solomon, Maxime Dougados, David Felson, Gillian Hawker, Patricia Katz, Hal Paulus, and Carol Wallace. 2006. "Development of Classification and Response Criteria for Rheumatic Diseases." *Arthritis Care and Research*. Arthritis Rheum. <https://doi.org/10.1002/art.22003>.
- SOHAR, and E. 1997. "Tel Hashomer Key to Severity Score for FMF." *Proceedings of the First International Conference of FMF*. <http://ci.nii.ac.jp/naid/10021947525/en/>.
- Zemer, Deborah, Mordechai Pras, Ezra Sohar, Michaela Modan, Shaltiel Cabili, and Joseph Gafni. 1986. "Colchicine in the Prevention and Treatment of the Amyloidosis of Familial Mediterranean Fever." *New England Journal of Medicine* 314 (16): 1001–5. <https://doi.org/10.1056/NEJM198604173141601>.
- <sup>lxxxiv</sup> Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, Malattia C, Viola S, Martini A, Ravelli A. 2009. "Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis". *Pediatric Rheumatology- Arthritis care*: <https://doi.org/10.1002/art.24516>
- <sup>lxxxv</sup> André L. Delbecq, Andrew H, Van de Ven. 1971. "A Group Process Model for Problem Identification and Program Planning". *The Journal of Applied Behavioral Science*. <https://doi.org/10.1177/002188637100700404>

---

<sup>lxxxvi</sup> Maarten Boers, Dorcas E. Beaton, Beverley J. Shea, Lara J Maxwell et al. 2019. “OMERACT Filter 2.1: Elaboration of the Conceptual Framework for Outcome Measurement in Health Intervention Studies”. *The Journal of Rheumatology* 46 (8) 1021-1027; DOI: <http://doi.org/10.3899/jrheum.181096>

<sup>lxxxvii</sup> Papa R, Rusmini M, Volpi S, Caorsi R. Next Generation Sequencing Panel in Undifferentiated Autoinflammatory Diseases identifies patients with Colchicine-responders Recurrent Fevers. *Rheumatology (Oxford)* 2020 Feb 1;59(2):344-360. <https://doi.org/10.1056/NEJM198604173141601>.

<sup>lxxxviii</sup> Prof Eldad Ben-Chetrit MD, Prof Micha Levy, MD. 1998. “Familial Mediterranean fever”. *Lancet*. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)09408-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)09408-7)

<sup>lxxxix</sup> Píram M., Konè-Paut I., Lachmann Helen J, Frenkei Joost et al. 2014 Dec;73(12):2168-73. “Validation of the Auto-Inflammatory Diseases Activity Index (AIDAI) for hereditary recurrent fever syndromes”. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203666. Epub 2013 Sep 11.

<sup>xc</sup> Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, Malattia C, Viola S, Martini A, Ravelli A. 2009. “Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis”. *Pediatric Rheumatology- Arthritis care*: <https://doi.org/10.1002/art.24516>

---

## **Ringraziamenti**

Arrivata alla fine del mio lavoro ci sono i ringraziamenti, forse la parte più importante di questo lunghissimo e bellissimo percorso.

Intanto vorrei ringraziare il Professor Ravelli e la Dottoressa Caorsi, Robi, per avermi dato la possibilità di partecipare a questo progetto. Per me è stata la prima occasione per mettermi in gioco sotto tanti punti di vista: stare dietro a questo lavoro è stato impegnativo e altrettanto stimolante, ma soprattutto posso dire di aver quasi imparato ad usare il computer!

Il mio GRAZIE più grande va ad Ilaria, che a me piace chiamare la MIA specializzanda quando parlo di lei. Abbiamo lavorato insieme in questi ultimi mesi e davvero non potevo trovare spalla e tutor migliore.

Ringrazio la mia famiglia che più di tutti ha sopportato i miei scleri e le mie lamentele lunghe come questi sei anni. Ringrazio mia sorella Camilla che fa la psicologa di professione ma veste questi panni anche in casa nostra, da sempre è la mia più fidata ascoltatrice e negli ultimi tempi è stata affiancata anche da Augu. Du psicologi is megl che one!

Ringrazio le mie cugine strette: Beatize e Calola. Cugine, amiche e vicine di casa. Senza di voi non saprei come fare e forse anche il mio PowerPoint non lo avrebbe saputo.

Ringrazio le mie amiche, le migliori in assoluto, tanto che si meritano di essere ringraziate una per una. Ringrazio te Eli, per la tua spensieratezza e solarità che sono per me una boccata d'aria fresca, sempre. Ringrazio te Floc, per tutti i discorsi sul futuro che fa davvero più paura del presente e per avermi fatto sentire dottoressa fin dal primo giorno. Ringrazio te Chia, la parte più razionale di noi, un porto sicuro a cui chiedere sempre consiglio. Ringrazio te Bianca, perché nonostante tutto siamo ancora qui. Ringrazio te Marti, per i tuoi tik tok e le tue trashate che mi hanno sempre strappato un sorriso. Ringrazio te Cate, per la tua dolcezza e per accompagnarmi ovunque quando voglio provare qualcosa di nuovo. Ringrazio Erica e Caro, che anche se ci vediamo poco so che ci siete. Ringrazio anche Fefi, per i suoi messaggi vocali lunghissimi e per essere sempre stata con me nonostante la lontananza. Ringrazio il gruppo Mykonos perché con le loro pazzie trovano il modo di rallegrarmi le giornate e i miei compagni del liceo, che almeno a Natale ci vediamo! Ringrazio anche il mio amico Piru, compagno di momenti divertenti ma anche di momenti profondissimi.

Ci tengo a ringraziare anche le persone che ho incontrato lungo questo faticosissimo cammino. Prima di tutte Ge, da quando mi hai chiesto di studiare insieme la mia vita

---

universitaria è cambiata. Ci siamo motivate a vicenda e tra un piantino, un abbraccio contato e il mio costante ritardo siamo arrivate fino a qui.

Ringrazio Benni, conosciuta in Erasmus, e davvero non potevo chiedere di meglio. A questo proposito ringrazio tutte le persone conosciute a Coimbra, che hanno contribuito a rendere fantastico il semestre trascorso in terra portoghese.

Ringrazio Benni e Marta per la loro allegria contagiosa e per le loro dirette, anche se dicono che non sono affatto sportiva!

Ringrazio Carol, perché parlare con lei è sempre stato illuminante sulla vita.

Ringrazio anche te, perché nonostante tutto per me questi 6 anni sono stati bellissimi anche per averti incontrato. Sei stata la persona che più mi ha lasciato il segno e devo a te tante cose che ho fatto fin ora. Nonostante adesso sia tutto diverso, non potevo non ringraziarti.

Ringrazio davvero chiunque abbia contribuito a rendere unico questo percorso e chi mi ha capita e mi è stato vicino anche solo per un momento.

PER ASPERA AD ASTRA,

Chiara