**IFN-gamma (IFNγ), chemochine IFNγ-indotte e altri biomarcatori nella sindrome d’attivazione macrofagica (MAS)**

Claudia Bracaglia\* 1, Denise Pires Marafon1, Ivan Caiello1, Kathy de Graaf2, Florence Guilhot2, Walter Ferlin2, Sergio Davi'3, Grant Schulert4, Angelo Ravelli3, Alexei A. Grom4, Robert Nelson2, Cristina de Min2, Fabrizio De Benedetti1

1Unità Operativa di Reumatologia, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

2SA Novimmune, Ginevra, Svizzera

3Università di Genova, Istituto Giannina Gaslini, Genova

4Division of Pediatric Rheumatology, Cincinnati Children’s Hospital Medical Center, Ohio, Stati Uniti

**Razionale.** C’è una vasta evidenza sia in modelli animali che nei pazienti del ruolo patogenetico di IFNγ nelle forme primarie di Linfoistiocitosi Emofagocitica (HLH). Abbiamo recentemente descritto che i livelli di IFNγ e delle chemochine IFNγ-indotte, CXCL9 e CXCL10, sono elevati nei pazienti con MAS in fase attiva nell’ambito dell’Artrite Idiopatica Giovanile sistemica (AIGs) (1). Inoltre l’osservazione indiretta di modelli murini suggerisce che IFNγ è prodotto prevalentemente nei tessuti periferici e che i livelli sierici potrebbero essere relativamente bassi.

**Obiettivi.** Misurare i livelli sierici di IFNγ, delle chemochine indotte da IFNγ e di altri biomarcatori nei pazienti con MAS e valutare la correlazione con i parametri di laboratorio di gravità di malattia.

**Metodi.** Tramite un Luminex multiplexing assay abbiamo misurato i livelli di sCD25, IL-18 e neopterina, oltre ai livelli di IFNγ, CXCL9 e CXCL10 in 57 campioni ottenuti da 24 pazienti con AIGs in fase attiva e in 37 campioni di 20 pazienti con MAS attiva al momento del prelievo. Abbiamo poi valutato la correlazione tra i livelli sierici di sCD25, IL-18 e neopterina oltre a IFNγ, CXCL9 e CXCL10 con i parametri di laboratorio di gravità di malattia in pazienti con AIGs in fase attiva con o senza MAS al momento del prelievo.

**Risultati.** I livelli di IFNγ, CXCL9, CXCL10, sCD25, IL-18 e neopterina sono risultati significativamente elevati nei pazienti con MAS rispetto ai pazienti con AIGs in fase attiva senza MAS al momento del prelievo (p<0.0001, eccetto per IL-18 p=0.012). Nei pazienti con MAS i parametri di laboratorio di gravità di malattia correlano in maniera significativa con i livelli di IFNγ, CXCL9, CXCL10, sCD25 e neopterina, mentre non correlano nei pazienti con AIGs in fase attiva senza MAS al momento del prelievo (Tab.1). Non abbiamo riscontrato alcuna correlazione con i livelli di IL-18, (i livelli di questa citochina erano però disponibili solo per una parte dei campioni). E’ molto interessante come in fase attiva di AIGs senza MAS al momento del prelievo, i livelli di CXCL9 (mediana 3889,IQR 965-7142), CXCL10 (764,323-1259) e IL-18 (4405,582-7122) sono significativamente più elevati nei pazienti con storia di MAS rispetto ai pazienti che non hanno mai presentato un episodio di MAS (519,385-1168; 215,152-470; 439,312-824, rispettivamente). Infine abbiamo provato a verificare con le curve ROC se questi biomarcatori possano distinguere una MAS da una AIGs in fase attiva, e nessuno lo fa. La migliore area sotto la curva è quella della Neopterina ma i campioni sono pochi.

**Tabella 1.** Correlazione tra le citochine e i parametri di laboratorio nelle MAS in fase attiva (N=37).

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|   | **IFNγ** | **CXCL9** | **CXCL10** | **sCD25** | **IL-18** | **Neopterina** |
|   | ***p* (r)** | ***p*(r)** | ***p*(r)** | ***p* (r)** | ***p* (r)** | ***p* (r)** |
| Ferritina (ng/mL) | 0.014(0.46) | 0.034(0.43) | 0.003(0.54) | 0.002(0.63) | >0.1(0.35) | >0.1(0.39) |
| Globuli bianchi (x10^9/L) | 0.033(-0.47) | 0.013(-0.56) | >0.1(-0.32) | >0.1(-0.42) | >0.1(-0.40) | >0.1(0.04) |
| Piastrine (x10^9/L) | 0.001(-0.55) | 0.0001(-0.66) | <0.0001(-0.66) | 0.003(-0.57) | >0.1(-0.14) | >0.1(-0.35) |
| Fibrinogeno (mg/dL) | >0.1(-0.32) | 0.0014(-0.73) | 0.008(-0.60) | 0.0005(-0.74) | >0.1(-0.38) | 0.008(-0.61) |
| Trigliceridi (mg/dL) | >0.1 (0.20) | >0.1 (0.23) | >0.1(0.13) | >0.1(0.29) | >0.1 (0.02) | >0.1 (0.17) |
|  LDH (U/L) | 0.005(0.64) | <0.0001(0.90) | <0.0001(0.94) | 0.002(0.69) | >0.1 (-0.23) | 0.0001 (0.85) |
|  ALT (U/L) | 0.012 (0.52) | 0.0007 (0.68) | 0.0005 (0.67) | 0.008 (0.54) | >0.1 (0.38) | >0.1 (0.14) |
|  I valori sono espressi in p value (r di Spearman) |

**Conclusioni.** I livelli di IFNγ, CXCL9, CXCL10, sCD25 e neopterina sono più elevati durante la MAS e correlano con i parametri di laboratorio di gravità di malattia. I livelli di IL-18 non correlano con i parametri di laboratorio di MAS ma l’osservazione che i livelli di IL-18 sono più elevati nei pazienti con storia di MAS è coerente con l’ipotesi che alti livelli di IL-18 possono predisporre alla MAS nei pazienti con AIGs, come ipotizzato da Shimizu (2). Alti livelli di neopterina e CXCL9, che riflettono entrambi la produzione di IFNγ, e la loro correlazione con i parametri di laboratorio, supportano il ruolo patogenetico di IFNγ nella MAS. Poiché i livelli circolanti di CXCL9 riflettono la produzione tissutale di IFNγ, il riscontro di alti livelli di CXCL9 nei pazienti con storia di MAS, ma senza MAS al momento del prelievo, suggeriscono l’attivazione subclinica della pathway di IFNγ in questi pazienti.

**Bibliografia**

1. Bracaglia C. et al. Ann Rheum Dis 2016

2. Shimizu M. et al Clin immunol 2015