

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

Anno **36** - 2017 • Volume **35**, n. 1

**Dieta Mediterranea
e Allergia**

**Il mastocita:
il nuovo Giano bifronte
della risposta immunitaria**

**1 microRNA:
piccoli regolatori
ad ampio spettro**

**INTERVISTA
Dott. M. Beatrice Bilò**





SOMMARIO

Notiziario Allergologico, Anno 36 - 2017 - Volume 35, n. 1

EDITORIALE

Il filo conduttore: Filippo Tommaso Marinetti

2

Fabrizio Ottoboni



AGGIORNAMENTI

Dieta mediterranea e Allergia

3

Giuseppe Pingitore

Il mastocita: il nuovo Giano bifronte della risposta immunitaria

9

Francesca Mion, Carlo E.M. Pucillo, Barbara Frossi

I microRNA: piccoli regolatori ad ampio spettro

23

Veronica Santarasci



INTERVISTA

Fabrizio Ottoboni

**Dott.ssa M. Beatrice Bilò:
update sulla allergia al veleno di Imenotteri**

31



RECENSIONI

Gianni Mistrello

Allergia alla taumatina (E957)

43

Tschannen MP et al.

Vaccino anti-herpes zooster e allergia all' α -gal

44

Stone CA Jr et al.



LOFARMA NEWS

Otiti esterne e prevenzione

45

Ferruccio Di Donato

Hyporal PPA integratore alimentare

48



Il filo conduttore: Filippo Tommaso Marinetti

Fabrizio Ottoboni

L'inizio del '900 è segnato dall'avvento della società di massa con profondi cambiamenti economici, sociali, culturali. F.T. Marinetti comprende per primo che il vecchio modello di artista è morto e se vuole sopravvivere nell'epoca della modernizzazione, deve accettarne la sfida e contaminarsi con la vita quotidiana, la massificazione, l'attualità. Nel 1909 pubblica il Manifesto del Futurismo, in cui propone un rifiuto radicale del passato servendosi delle tecniche più evolute come la pubblicità ed un'infinità di provocazioni e scandali. Decenni prima di Marshall McLuhan, Marinetti intuisce che nell'era dell'industria, degli enormi agglomerati urbani, dei nuovi mezzi di comunicazione di massa la stessa psicologia umana viene profondamente mutata dalla velocità della vita moderna. Diventa necessaria una nuova cultura, non più legata al passato, ma che ne rifletta la mutazione e sia in grado di produrre nuovi linguaggi che rispecchino la grande trasformazione epocale. Grazie al Nostro, attività pratiche ed intellettuali furono scosse profondamente, con provocazioni e paradossi, e possiamo oggi affermare che il Futurismo ha anticipato molte delle tendenze attuali.

La cucina poteva essere risparmiata? No, di certo e nel 1930 esce il Manifesto della cucina futurista. Molti dei suggerimenti di Marinetti hanno trovato applicazione nella Nouvelle Cuisine all'italiana ed anche nella Cucina Molecolare di Ferran Adrià. Un libro da tenere in biblioteca è quello scritto a quattro mani con il poeta Fillia per i tipi della Sonzogno di Milano. L'italianizzazione di alcuni termini anglosassoni è spettacolare: il "bar" diventa "quisibever" o meglio ancora "ber", il "cocktail" la "polibibita", il "sandwich" il "tra i due", e così via.

In questo n° del Not Allergol i miei "futuristi" sono due: il gruppo capitanato da Carlo Pucillo, e gli "amici" di Veroni-



Carlo Carrà,
Ritratto di FT Marinetti,
1911



ca Santarasci. Le avventure del mastocita somigliano molto ad una spy story in cui essere colpevole od innocente dipende dall'ambiente, una lettura veramente affascinante. La biologia molecolare sta rivoluzionando le nostre conoscenze sulle malattie ed i microRNA sono tra i protagonisti: piccoli peptidi con straordinarie doti regolatrici, che cambieranno, con la metabolomica, molte diagnosi e terapie attuali.

Gli Autori "classici" ci fanno tornare coi piedi per terra. Giuseppe Pingitore spiega come si è arrivati a capire le basi della straordinaria dieta mediterranea, perché fa bene al nostro organismo e come acquisire la consapevolezza che è necessaria soprattutto in tempi di inquinamento chimico-alimentare. Beatrice Bilò nell'ampia intervista fa il punto sull'allergia agli Imenotteri pungitori rendendoceli odiosi ma gestibili senza paure irrazionali.

Buona lettura



Dieta Mediterranea e Allergia

Giuseppe Pingitore
Allergologo e Pediatra
Roma

Mediterranean Diet and Allergy

Not Allergol 2017; vol. 35: n.1: 3-8.

INTRODUZIONE

La parola “dieta” viene dal greco διαίτα (diáita) e significa «modo di vivere». Tra le motivazioni con le quali il Comitato Intergovernativo dell'UNESCO, il 16 novembre 2010, ha iscritto ufficialmente la “dieta mediterranea” nell'elenco dei patrimoni culturali immateriali, si legge “La Dieta Mediterranea è un insieme di competenze, conoscenze, pratiche e tradizioni che vanno dal paesaggio alla tavola, tra cui la coltivazione, la raccolta, la pesca, la conservazione, la trasformazione, la preparazione e, in particolare, il consumo di cibo. È caratterizzata da un modello nutrizionale che è rimasto costante nel tempo e nello spazio, i cui ingredienti principali sono olio di oliva, cereali, frutta e verdura, fresche o secche, un ammontare moderato di pesce, prodotti lattiero-caseari e carne, numerosi condimenti e spezie, il tutto accompagnato da vino o infusioni, sempre nel rispetto delle convinzioni di ogni comunità”.

Molto di più, quindi, di un semplice

elenco di cibi da consumare, come è bene illustrato nelle piramidi alimentari.

Le piramidi alimentari sono un modo per rappresentare graficamente e in modo semplice le frequenze di assunzione di gruppi di alimenti. Alla base della piramide il suggerimento di svolgere un'attività fisica quotidiana, anche se limitata. Poi ci sono gli alimenti da assumere tutti i giorni. Seguono, salendo verso l'alto, quelli da consumare meno frequentemente, 1-3 volte a set-

timana, e all'apice quelli da consumare soltanto 1-2 volte al mese.

Le piramidi alimentari più rappresentative della Dieta Mediterranea sono quella americana elaborata da Walter Willett, medico della Harvard School of Public Health in collaborazione con Oldways e quella greca influenzata dalla leadership di Antonia Trichopoulou e del marito Dimitrios, rispettivamente professore ad Atene e professore di epidemiologia ad Harvard.

RIASSUNTO

Parole chiave e sigle

• Dieta mediterranea • allergie • asma • wheezing • prevenzione

La dieta mediterranea è un modello alimentare basato sugli alimenti e bevande tipiche dei Paesi che circondano il bacino del Mediterraneo. Non si tratta solo di una dieta, piuttosto di uno stile di vita, che include oltre al cibo anche l'attività fisica, consumare con amici e familiari i pasti e vino in quantità moderata. Fin dagli anni '40 è stata studiata e, sulla base di studi scientifici, viene considerata una delle più salutari del mondo. Esistono prove abbondanti e crescenti che dimostrano che la tradizionale dieta mediterranea è probabilmente il modello dietetico ideale per la prevenzione delle malattie cardiovascolari. Ma, nel corso degli ultimi 20 anni, si stanno accumulando evidenze di un effetto vantaggioso anche ai fini della prevenzione dell'asma e delle malattie allergiche.



SUMMARY

Key words and Acronyms

• Mediterranean diet • allergic diseases • asthma • wheezing, prevention

The Mediterranean Diet is a way of eating based on the traditional foods (and drinks) of the countries surrounding the Mediterranean Sea. The Mediterranean Diet is not only a diet, rather it is a lifestyle, including foods, activities, meals with friends and family, and wine in moderation with meals. From the 1940s it has been studied and, based on scientific studies, noted as one of the healthiest in the world. There is ample and growing evidence that the traditional Mediterranean diet is probably the ideal dietary model for the prevention of cardiovascular disease. But, over the past 20 years, evidence of a beneficial effect has also been accumulated for the prevention of asthma and allergic diseases.

STORIA DELLA DIETA MEDITERRANEA

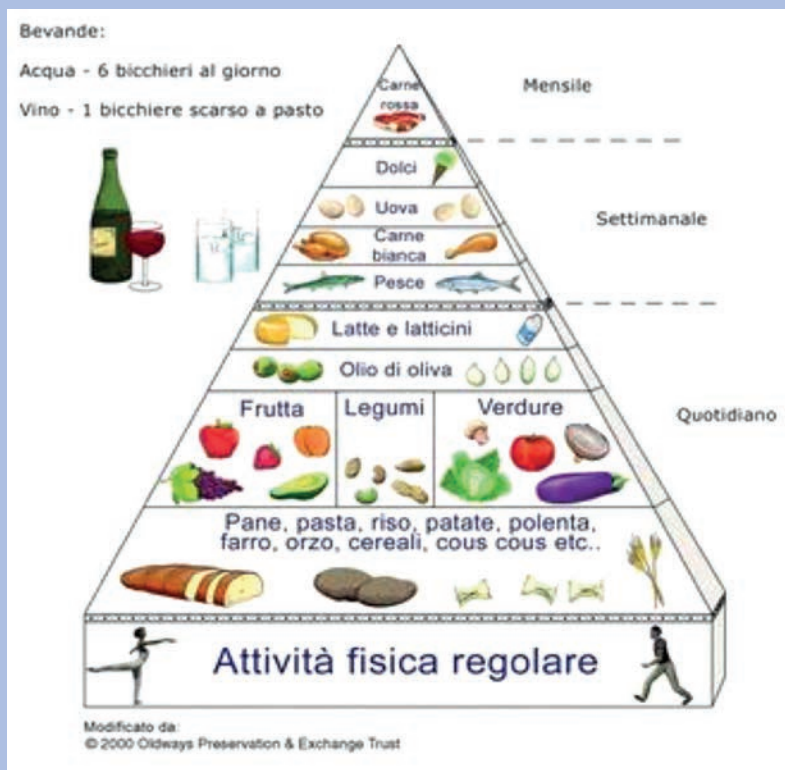
Giacomo Castelvetro (1546-1616) fu un umanista modenese, scrittore di viaggi ed insegnante. Convertitosi al protestantesimo si rifugiò in Inghilterra per sfuggire all'inquisizione. Durante la sua permanenza nel Kent notò che la dieta anglosassone era troppo ricca di carne e povera di frutta e verdure e che "gl'Italiani mangino più erbaggi e frutti che carne": e qui compose e ricompose a più riprese un Breve racconto di tutte le radici, di tutte l'erbe e di tutti i frutti, che crudi o cotti in Italia si mangiano (1614).

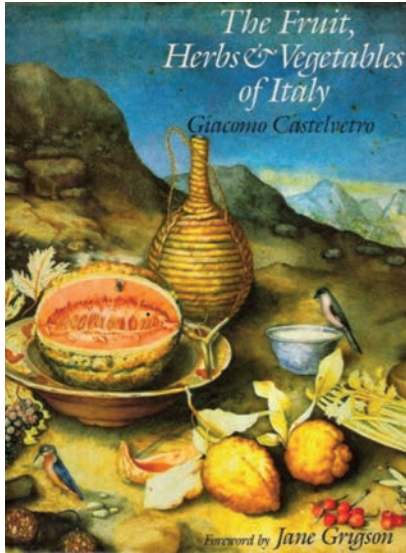
Sempre ad un italiano, il medico nutrizionista genovese Lorenzo Piroddi (1911-1999), si deve la prima elaborazione della "dieta mediterranea". Nel 1939 ipotizzò una connessione tra abitudini alimentari e malattie del ricambio e propose una dieta che limitava il consumo di grassi animali a favore di quelli vegetali (Sapore di sole – Dieta Mediterranea).

Tuttavia il vero padre della dieta mediterranea, così come oggi la conosciamo, è un biologo, epidemiologo e nutrizionista americano, Ancel Benjamin Keys (1904-2004). Verso la fine degli anni '30, presso l'Università del Minnesota, conduceva studi sull'inedia e la nutrizione e collaborava con l'esercito americano (sua è l'invenzione della razione K, che costituì la base per l'alimentazione di sussistenza dell'esercito USA e, in seguito, di eserciti di molte altre nazioni). Negli anni '40, al seguito delle truppe alleate, si trovava a Creta. Egli notò che l'incidenza delle malattie cardiovascolari in quell'isola era notevolmente inferiore a quella degli USA. Nel 1944, sbarcato a Pa-

Figura 1

La piramide alimentare nella dieta mediterranea





Heraklion (Creta), ha coordinato una ricerca multicentrica che ha coinvolto 1771 coppie madre-neonato in Spagna e 745 in Grecia, al fine di stabilire l'esistenza di un'associazione tra l'aderenza alla dieta mediterranea (DM) durante la gravidanza e il rischio di comparsa di respiro sibilante ed eczema nel primo anno di vita (2). Le informazioni sulla dieta delle gestanti venivano raccolte utilizzando dei questionari validati (FFQ=Food Frequency Questionnaire, MD=Mediterranean Diet adherence), mentre per i dati sui sintomi i ricercatori si sono serviti del questionario standardizzato ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood).

Lo studio ha evidenziato un'associazione tra aumento del rischio di wheezing ed eczema nel primo anno di vita e elevato consumo di carni rosse in gravidanza (RR=1.22). Qualche anno prima lo stesso gruppo di studiosi aveva condotto un'indagine su 507 donne in gravidanza e 460 bambini (3). L'aderenza alla dieta mediterranea fu valutata con un sistema di scoring, sia per le gestanti che per i bambini. Il follow up fu di ben 6 anni e mezzo. La valutazione dei sintomi tramite questionario evidenziò un chiaro effetto protettivo della buona aderenza ad una alimentazione di tipo mediterraneo, sia sul wheezing persistente (OR 0.22) che sul respiro sibilante di origine

estum al seguito della quinta armata, rimase colpito dalle abitudini alimentari della popolazione del Cilento. Dopo la guerra si trasferì con la famiglia a Pioppi, una piccola località in provincia di Salerno, dove visse per 40 anni, rientrando negli Stati Uniti solo pochi mesi prima della sua morte. Nel 1960 avviò un ampio studio di popolazione, Seven Country Study (1), che coinvolse 16 coorti di Paesi dell'area mediterranea e non, e col quale dimostrò, per la prima volta, un più basso tasso di mortalità nei Paesi Mediterranei, soprattutto a Creta; l'importanza di questa ricerca gli valse la copertina del Time nel gennaio del 1961.

I VANTAGGI ALLERGOLOGICI DELLA DIETA MEDITERRANEA IN GRAVIDANZA

La dottoressa Leda Chatzi, epidemiologa e nutrizionista dell'Università di

SAPORE DI SOLE

Dieta Mediterranea: principi base, ingredienti e ricette per una corretta alimentazione,

"Le insalate... a farle buone conviene, postovi l'olio, rivolgerle, e poi porvi l'aceto, e da capo rivolgerla tutta, e chi così farà e non la troverà buona, dolgasi di me; e che sia vero che molto sale e olio vi si richiede e poco aceto, ecco il testo della legge insalatesca, che dice: insalata ben salata, poco aceto e ben oliata; e chi contro così giusto comandamento pecca è degno di non mangiare mai buona insalata".

(<http://www.taccuinistorici.it/ita/news/moderna/letteratura/print/Brieve-racconto-di-tutte-le-radici-Giacomo-Castelvetro.html>)

Mursia, Milano 2008

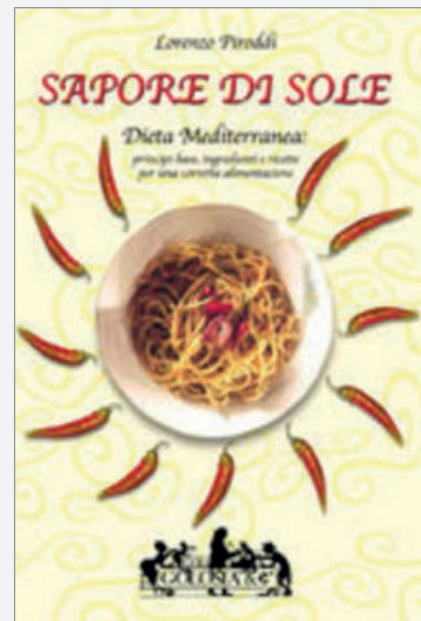




Figura 2

La razione K



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8d/KRation_Dinner.JPG

allergica (OR 0.30).

Uno studio di popolazione su 1200 coppie madre/bambino, con metodologia simile, è stato condotto a Los Angeles. La ricerca mirava a valutare soprattutto gli effetti postnatali della dieta stile "fast food" sul rischio di asma. I risultati, di grande interesse, hanno evidenziato un aumento del rischio relativo, che aumentava in maniera direttamente proporzionale da 1,2 fino a oltre 7 volte, in base al numero di pasti fast food settimanali consumati dalle gestanti, per tutti gli outcome considerati (4).

Passando all'analisi di singoli componenti della dieta mediterranea, circa dieci anni

fa dimostrarono, con uno studio retrospettivo (5) che aveva arruolato 295 figli di madri allergiche e 693 figli di madri non allergiche e mediante la raccolta di informazioni sulle diete materne durante la gravidanza, che il consumo frequente di pesce (2-3 volte/settimana o più), riduceva il rischio di sensibilizzazione allergica di oltre 3 volte (aOR=0.23)

Uno dei capisaldi della dieta mediterranea è l'olio d'oliva. Allo scopo di verificare se i figli delle gestanti che consumavano olio d'oliva per cucinare e condire le insalate avrebbero avuto meno respiro sibilante nel corso del primo anno di vita, Castro Rodriguez ha arruolato 1409 bambini

sani di età compresa tra 16 e 62 mesi e ha raccolto informazioni sulle diete seguite dalle madri durante le gravidanze (6). Ad un'analisi multivariata dei fattori associati al wheezing del primo anno di vita, il consumo di olio d'oliva correlava con una riduzione del rischio di circa la metà (OR 0.57).

Non meno importante è l'assunzione di frutta e verdura. Dati a supporto di ciò provengono da una coorte finlandese: Finnish Type 1 Diabetes Prediction and Prevention (DIPP) Nutrition Study. Vennero arruolati alla nascita 2441 bambini e seguiti fino all'età di 5 anni. Tramite questionario vennero raccolte le informazioni sulla dieta delle gestanti. Lo studio dimostrò che lo scarso consumo di vegetali a foglia larga (OR 1.55), di frutta melacea (OR 1.45) e di cioccolata (OR 1.33) era positivamente associato al rischio di respiro sibilante nella prole (7).

I VANTAGGI DELLA DIETA MEDITERRANEA IN ETÀ PEDIATRICA

Lo studio PANACEA (Physical Activity, Nutrition and Allergies in Children Examined in Athens, 2005-2006) ha arruolato 700 studenti greci di età compresa tra 10 e 12 anni e, tramite una serie di questionari, ha raccolto informazioni su abitudini alimentari, in particolare la frequenza di assunzione di oltre 60 tra cibi e bevande, attività fisica, sintomi e aderenza alla dieta mediterranea (KidMed index, punteggio 0-3, 4-7 e 8-12, rispettivamente per cattiva, moderata e buona aderenza). Lo scopo era quello di capire quanto il tipo di dieta potesse influire sui



sintomi asmatici. Gli autori hanno evidenziato una forte relazione inversa tra il livello di aderenza alla dieta mediterranea e la prevalenza dei sintomi dell'asma (8). Una revisione sistematica di 46 studi retrospettivi ha confrontato l'influenza di differenti regimi dietetici sui biomarkers infiammatori (PCR). L'elevato consumo di carne o un regime dietetico "western style" risultavano positivamente associati agli indici infiammatori, il contrario av-

veniva per regimi dietetici basati su frutta e vegetali (9).

Uno studio osservazionale, realizzato a Creta, ha coinvolto 690 bambini (7-18 anni). Mediante questionari sono stati raccolti i dati sul tipo di dieta (Food Frequency e Mediterranean diet score) e sui sintomi di rinite e asma: l'elevato consumo di uva, arance, mele e pomodori si è dimostrato protettivo sulla prevalenza sia dei sintomi della rinite che dell'asma. Il rischio di presentare wheezing era ridotto (OR 0.46) se la dieta era ricca di frutta a guscio, molto aumentato (OR 2.19) per le diete ricche di margarina (10).

Per valutare l'influenza della dieta mediterranea sull'asma in età pediatrica è stata realizzata recentemente (11) una revisione sistematica con meta-analisi. Sebbene siano stati inclusi solo 8 studi il numero dei pazienti è risultato davvero molto alto (40 mila) a causa dell'elevata numerosità di 2 degli studi. L'analisi per sottogruppi ha mostrato un dato di particolare interesse: l'effetto protettivo della dieta risulta significativo per i Paesi dell'area mediterranea, mentre perde di significatività per i Paesi non mediterranei. Gli autori non danno una spiegazione di questo risultato

ma affermano che potrebbe dipendere da una diversa formulazione della diagnosi di asma. Sempre nello stesso anno viene pubblicata in Iran un'altra meta-analisi. Gli autori effettuano una ricerca degli studi pubblicati tra il 1990 e il 2013 e includono 42 lavori (12 studi di coorte, 4 studi di popolazione caso-controllo e 26 studi osservazionali). Sia per quanto riguarda il rischio di wheezing (OR 0.76) che per quello di asma (OR 0.54) la meta-analisi mostra un chiaro effetto protettivo dell'elevata assunzione di frutta e vegetali (12).

L'effetto protettivo di frutta e vegetali è dovuto all'alto contenuto in antiossidanti (13). In particolare:

- **Flavonoidi** (quercetina, rutina, antociani, apigenina): agrumi, mirtilli, fagioli, olive
- **Carotenoidi** (licopene, beta-carotene, luteina): carota, patata, pomodoro
- **Isotiocianati**: broccolo, cavolo, cavolfiore
- **Resveratrolo**: uva, vino, arachidi, mirtilli
- **Tannini**: uva, vino, lenticchie, cachi, noce, nocciola
- **Vitamine C, A, E**





Sebbene la maggior parte di questo tipo di studi sia stata realizzata nei Paesi dell'area mediterranea, esistono anche dati provenienti da oltre oceano. Qualche anno fa in Messico è stato analizzato un campione di 1476 bambini di 6-7 anni (14), con una metodologia analoga agli altri studi citati in precedenza: questionari sulla dieta degli ultimi 12 mesi e durante la gravidanza, questionario ISAAC per i sintomi di asma e rinite. Anche in questa popolazione messicana l'aderenza a schemi dietetici di tipo mediterraneo si associa in maniera inversa alla presenza di sintomi asmatici (OR 0.60) e rinitici (OR 0.41).

CONCLUSIONI

Per chiudere l'analisi delle evidenze esistenti su questo argomento è opportuno citare le conclusioni della task force "Lifestyle and asthma" della EAACI che nel 2016 ha pubblicato un lavoro di supervisione delle revisioni sistematiche (15): l'aderenza alla dieta mediterranea è correlata ad un minore rischio di respiro sibilante. I meccanismi non sono del tutto noti ma alcuni studiosi ipotizzano un duplice e differente effetto: la dieta materna di tipo mediterraneo, che comporta una maggiore assunzione di vitamina D, vitamina E, acidi grassi po-

liinsaturi, probiotici e sostanze antiossidanti, attraverso un'azione enzimatica di modifica epigenetica, potrebbe avere un effetto soppressivo sulle reazioni immunologiche T helper di tipo 2 (Th2). Al contrario, la dieta del bambino, incluso l'allattamento al seno per almeno 4 mesi, l'introduzione precoce tra il 4 e il 6 mese di alimenti complementari, l'assunzione dei componenti della dieta mediterranea, antiossidanti, prebiotici e vitamine, stimolerebbe la risposta T helper di tipo 1 (Th1), attraverso l'intervento di citochine "regolatorie" (Tr1), con aumento della IL-10 e del transforming growth factor beta (TGFβ) (16).



Bibliografia

1. www.sevencountrystudy.com
2. Chatzi L et al. - Mediterranean diet adherence during pregnancy and risk of wheeze and eczema in the first year of life: INMA (Spain) and RHEA (Greece) mother-child cohort studies. *Br J Nutr.* 2013;110(11):2058-68.
3. Chatzi L et al. - Mediterranean diet in pregnancy is protective for wheeze and atopy in childhood. *Thorax* 2008;63:507-513.
4. von Ehrenstein OS et al. - Fast food consumption in pregnancy and subsequent asthma symptoms in young children *Pediatr Allergy Immunol* 2015;26:571-577.
5. Calvani M, Pingitore G et al. - Consumption of fish, butter and margarine during pregnancy and development of allergic sensitizations in the offspring: role of maternal atopy. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:94-102.
6. Castro-Rodriguez JA et al. - Olive Oil During Pregnancy Is Associated With Reduced Wheezing During the First Year of Life of the Offspring. *Pediatric Pulmonology* 2010;45:395-402.
7. Erkkola M et al. - Risk of asthma and allergic outcomes in the offspring in relation to maternal food consumption during pregnancy: A Finnish birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:186-194.
8. Arvaniti F et al. - Adherence to the Mediterranean type of diet is associated with lower prevalence of asthma symptoms, among 10-12 years old children: the PANACEA study. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22: 283-289.
9. Barbaresko J - Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: a systematic literature review. *Nutrition Reviews* 2013;71(8):511-527.
10. Chatzi L et al. - Protective effect of fruits, vegetables and the Mediterranean diet on asthma and allergies among children in Crete. *Thorax* 2007;62:677-683.
11. Garcia-Marcos L et al. - Influence of Mediterranean diet on asthma in children: A systematic review and meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 2013;24:330-338.
12. Seyedrezazadeh E et al. - Fruit and vegetable intake and risk of wheezing and asthma: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev.* 2014;72(7):411-28.
13. Proteggente AR et al. - The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic Res.* 2002;36:217-233.
14. De Batlle J et al. - Mediterranean diet is associated with reduced asthma and rhinitis in Mexican children. *Allergy* 2008;63:1310-1316.
15. Garcia-Larsen V et al. - Asthma and dietary intake: an overview of systematic reviews. *Allergy* 2016; DOI: 10.1111/all.12800
16. Yong SB et al. - Influence and Mechanisms of Maternal and Infant Diets on the Development of Childhood Asthma. *Pediatrics and Neonatology* 2013;54(1):5-11.



Il mastocita: il nuovo Giano bifronte della risposta immunitaria

Francesca Mion,
Carlo E.M. Pucillo
Barbara Frossi
*Dipartimento di Area Medica,
Università di Udine.*

The mast cell: the double-faced Janus player in the immune response

Not Allergol 2017; vol. 35: n.1: 9-22.

INTRODUZIONE

I mastociti sono stati osservati per la prima volta nel 1863 da von Recklinghausen nel mesentero di una rana, ed identificati genericamente come cellule dall'aspetto granulare. Ci sono voluti più di dieci anni, esattamente nel 1878, perché venissero ufficialmente battezzati da Paul Ehrlich con il nome di "mastzellen", ossia cellule ben nutrite, a seguito dell'estensiva quantità di granuli metacromatici che apparivano nel citoplasma dopo colorazione con anilina. Le successive scoperte del 1954 e del 1971 che i mastociti contengono istamina (1) e che il rilascio di questa ammina vasoattiva avviene in seguito ad incubazione delle cellule con le immunoglobuline E (IgE) (2), hanno contribuito a definire un ruolo chiave dei mastociti nei processi infiammatori di tipo allergico. Ed infatti il mastocita è per antonomasia la cellula regina della flogosi allergica, l'unica ad essere presente in praticamente tutti i tessuti vascolarizzati, e capace di legare le IgE circolanti grazie alla presenza costitutiva sulla sua superficie del recettore

Parole chiave e sigle

• Mastociti • IgE • allergia • infiammazione • citochine • interazione cellulare • tumore

I mastociti sono cellule del sistema immunitario dall'aspetto granulare, presenti in tutti i tessuti connettivi, in prossimità di vasi e strutture nervose, posizionati all'interfaccia tra superfici mucose e ambiente esterno. Sono classicamente noti per il loro ruolo nelle reazioni di ipersensibilità di tipo I e, conseguentemente, temute da tutti i soggetti allergici. Tuttavia, grazie alla loro ampia distribuzione tissutale, alla moltitudine di mediatori che possono rilasciare in seguito a stimolazione di diversa natura, e alla diversità di molecole di superficie che ne permettono l'interazione con il microambiente, i mastociti possiedono delle caratteristiche uniche all'interno del sistema immunitario. Infatti, come il Dio Giano, sono cellule dalla doppia faccia che, ad un ruolo più infiammatorio, possono contrapporre funzioni di immuno-regolazione e immuno-soppressione. Questa pluralità di funzioni riscatta il ruolo del mastocita nella regolazione della risposta immunitaria e spinge a considerare questa cellula come elemento chiave anche in contesti diversi da quelli allergici.

ad alta affinità per le IgE (FcεRI), che una volta aggregato in seguito al legame dell'antigene specifico per quelle IgE rilascia in tempi rapidissimi una quantità enorme di mediatori infiammatori. Questa specifica e immediata reattività del mastocita è responsabile, a seconda del tipo di antigene e della sede tissutale considerata, di quelle sgradevoli reazioni che affliggono i soggetti allergici,

ovvero vasodilatazione, contrazione della muscolatura liscia con conseguente spasmi, edema della mucosa, secrezione ghiandolare, e che hanno reso famoso il mastocita per il suo ruolo nei disordini allergici, nell'asma e nella anafilassi sistemica.

Proprio a causa del loro prominente ruolo nelle reazioni allergiche, i mastociti sono stati a lungo considerati come



SUMMARY

Key words and Acronyms

• Mast cells • IgE • allergy • inflammation • cytokines • cell to cell interaction • tumour

Similarly to all other granulocytes, mast cells are cells of the immune system characterized by the presence of granules in their cytoplasm. They are present in all connective tissues, near vases and nerve structures, positioned at the interface between mucosal surfaces and the external environment. They are classically known for their role in type I hypersensitivity reactions and, consequently, feared by people suffering from allergy. However, due to their wide tissue distribution, to the multitude of mediators that they can release and to the diversity of receptors expressed on their surface, mast cells have unique characteristics among the immune system. In fact, similarly to the roman God Janus, they are double-faced cells that, on one side, are responsible of the generation of an inflammatory setting, while on the other they can exert immune-regulating and immuno-suppressive functions. Hence their involvement in pathologies such as autoimmune diseases and cancer. An important feature that contributes to the duality of mast cell's response is the ability to crosstalk with virtually all the components of both the innate and adaptive immune system, as well as with other cell types such as fibroblasts, neurons and epithelial cells. The heterogeneity of functions that are nowadays ascribed to mast cells redeems their role in regulating the immune response and leads to consider this cell as a key element even in contexts other than allergy.

cellule ostili. Tuttavia, gli studi condotti negli ultimi 30 anni, hanno contribuito a delineare un quadro meno restrittivo e distruttivo del mastocita, riabilitandone la sua funzione all'interno della gerarchia delle cellule del sistema immunitario (3). Infatti, grazie alla capacità di rispondere a molteplici stimoli attivatori, alla capacità di interagire con cellule dei tessuti e componenti della matrice extracellulare, al continuo dialogo con le altre cellule del sistema immunitario e, soprattutto, alla capacità di generare una risposta diversificata a seconda del microambiente in cui si trova, il mastocita è implicato in molteplici processi fisiologici e patologici che vanno ben oltre le reazioni di ipersensibilità di tipo I, essendo promotori di reazioni sia pro- che anti-infiammatorie (4).

Questa molteplicità di funzioni rimane al mito romano del Giano bifronte. Come il Dio Giano che viene raffigurato con una testa e due volti, simili ed entrambi barbuti, che secondo la leggenda consentono al Dio di vedere il futuro e il passato, così il mastocita può assumere una faccia diversa a seconda del contesto fisiopatologico considerato, dando luogo a risposte a volte in opposizione tra loro e a volte semplicemente diversificate. Grazie all'enorme pletora di molecole di superficie che esprime, il mastocita interpreta i cambiamenti del microambiente e vi risponde in modo selettivo, con risposte a vantaggio o a svantaggio dell'ospite. In questo articolo verranno descritte luci e ombre del mastocita in diversi contesti ma il messaggio finale che si

vuole lasciare è che, data la molteplicità di funzioni che questa cellula può svolgere, “è meglio con che senza mastociti”. Il mastocita non è una cellula che deve essere contrastata, al contrario dev'essere riscoperta e studiata nel dettaglio per poterne controllare e modulare selettivamente la reattività a seconda dello specifico contesto e delle necessità dell'organismo.

BIOLOGIA DEL MASTOCITA: DISTRIBUZIONE TISSUTALE E MEDIATORI FUNZIONALI

I mastociti sono presenti in tutti i tessuti vascolarizzati, in prossimità dei vasi sanguigni e dei vasi linfatici, in particolare a livello della cute e delle superfici mucosali all'interfaccia con l'ambiente esterno. Nell'uomo i mastociti originano nel midollo osseo da progenitori ematopoietici totipotenti identificati come cellule CD34+CD117+CD13+; circolano in forma immatura nel sistema vascolare e nel sistema linfatico e completano la loro maturazione e differenziazione localmente, nei tessuti, dove acquisiscono l'espressione del recettore ad alta affinità per le IgE. I segnali che guidano la migrazione e la localizzazione dei precursori mastocitari nei vari tessuti non sono ancora stati del tutto identificati. Il mastocita esprime c-kit, il recettore per lo stem cell factor (SCF), a livello costitutivo ed in tutti i suoi stadi maturativi (è l'unica cellula del sistema immunitario che continua ad esprimerlo anche a maturazione completata) e ciò è indicativo del fatto che un ruolo chiave nella migrazione e nella localizzazione



dei precursori mastocitari è sicuramente dato dallo SCF, che serve sia alla chemotrazione sia alla differenziazione tissutale dei precursori ematici (4). Tuttavia, la localizzazione tessuto-specifica richiede segnali precisi. Ad esempio, a livello intestinale si trovano molti precursori mastocitari la cui migrazione nel tessuto è mediata dall'interazione tra l'integrina $\alpha_4\beta_7$ del mastocita e le molecole di adesione MAdCAM-1 o VCAM-1 dell'endotelio, ed è regolata dalla chemochina CXCR2 (3, 5). A livello polmonare invece i precursori sono pressoché assenti e il loro reclutamento in corso di infiammazione è mediato dal legame delle integrine $\alpha_4\beta_1$ e $\alpha_4\beta_7$ del mastocita con VCAM-1. Una volta migrati nei tessuti i precursori possono sopravvivere come un pool di riserva o completare la loro maturazione sotto l'influenza del microambiente tissutale. Diversamente da altre cellule del sistema immunitario che esistono in circolo in forma immatura e che una volta migrate e differenziate nei tessuti mantengono alcune delle caratteristiche che li accomunano alla forma circolante da cui derivano, il vero mastocita è solo ed esclusivamente quello tissutale. Non esiste un vero mastocita circolante, esiste solamente il mastocita nella sua accezione tissutale. Questa caratteristica del mastocita di differenziarsi solo a livello tissutale, sotto l'azione del microambiente locale, non deve essere considerata come un fattore limitante in quanto permette ai mastociti di assumere aspetti morfologici e fenotipici estremamente eterogenei tra i diversi tessuti (4). Da un punto di vista sistematico, i mastociti vengono classificati sulla base del-

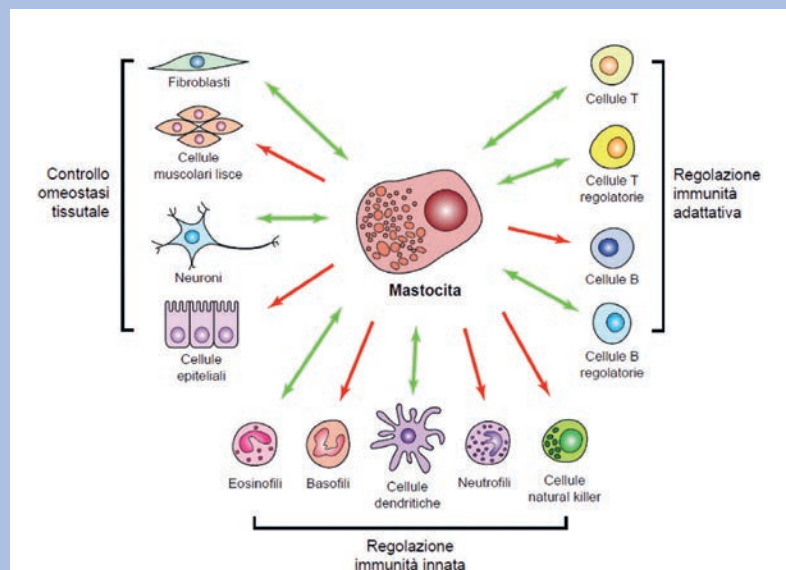
la distribuzione tissutale e del contenuto dei granuli citoplasmatici (6). Nel topo i mastociti sono divisi in mastociti mucosali MMC, riscontrabili principalmente a livello della mucosa polmonare e intestinale, e mastociti connettivali CTMC, presenti principalmente nei tessuti connettivi, nella pelle e nella cavità peritoneale. Per quanto riguarda i mastociti umani questi vengono classicamente distinti in mastociti MCT contenuti principalmente l'enzima triptasi e localizzati soprattutto negli alveoli bronchiali, nella mucosa nasale e intestinale, e mastociti MCTC, contenenti sia triptasi che chimasi, distribuiti nella pelle e

nella sottomucosa delle vie respiratorie e intestinali. Recentemente, sottopopolazioni di mastociti che contengono prevalentemente chimasi, e indicati come MCc, sono stati identificati nei bronchi e nella sottomucosa intestinale (Tabel- la1). Tuttavia, questa distinzione non tiene conto della eterogeneità di queste cellule che differiscono da tessuto a tessuto sia per l'espressione di molecole di membrana sia per il contenuto dei granuli citoplasmatici. Benché esistano molteplici differenze tra uomo e topo, diversi sono i recettori costitutivamente espressi dal mastocita (Tabella 2). Per semplicità, qui di seguito ci riferiremo



Figura 1

La socialità del mastocita



Rappresentate in figura sono le interazioni dei mastociti con cellule del sistema immunitario e cellule tissutali. Ad oggi, alcune interazioni sono dimostrate essere bidirezionali (freccia verde) altre monodirezionali (freccia rossa).



ai mastociti umani e, dove necessario, integreremo lo stato dell'arte con dati prodotti nel modello murino vista l'impossibilità di svolgere determinati esperimenti nel contesto umano (7). Fra le molecole che possono determinare l'attivazione del mastocita troviamo i recettori per le immunoglobuline IgE e IgG (FcεR, FcγR), recettori toll-like (TLRs) che riconoscono prodotti di derivazione microbica, recettori per componenti del complemento, per citochine, chemochine e diverse molecole endogene. A questi recettori si aggiungono poi una gamma molto ampia di molecole di adesione e molecole co-stimolatorie che permettono al mastocita di interagire in modo continuo sia con cellule del sistema immunitario che con cellule del tessuto e della matrice extracellulare localmente presenti (6). Come conseguenza di questa vasta capacità di sentire il microambiente, il mastocita può essere attivato da molteplici stimoli quali antigeni e allergeni attraverso i recettori per le immunoglobuline, patogeni (inclusi virus, batteri e parassiti), così come da molteplici fattori solubili presenti nei tessuti e nei fluidi biologici sia in condizioni patologiche che di omeostasi.

La grande variabilità nella risposta biologica di cui il mastocita è protagonista, trova riscontro nell'ampia gamma di mediatori che possono essere selettivamente rilasciati in seguito a specifica attivazione. Si tratta di molecole pleiotropiche e ridondanti, che possono quindi svolgere molteplici funzioni e avere effetti sovrapponibili a quelli di altri fattori. Una parte di essi viene prodotta preventivamente e accumulata nei

granuli citoplasmatici, un'altra viene invece sintetizzata de novo al momento dell'attivazione e subito rilasciata (8). I principali mediatori mastocitari sono riportati in Tabella 3 e possono essere suddivisi in tre principali categorie:

- mediatori preformati; istamina, proteoglicani, proteasi neutre e alcune citochine, quali il fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), rilasciati immediatamente dopo l'attivazione,
- mediatori lipidici neosintetizzati in seguito a degradazione enzimatica dell'acido arachidonico ad opera di ciclossigenasi e lipossigenasi,
- citochine, chemochine e fattori di crescita prodotti a seguito dell'attivazione della trascrizione de novo dei relativi geni.

A seconda della natura e dell'intensità dello stimolo, lo spettro di mediatori rilasciati può essere molto variabile. Generalmente stimoli attivatori forti come l'aggregazione del FcεRI o dei recettori associati a proteina G (GCPR) sono capaci di indurre una intensa cascata di attivazione del segnale, che si traduce nella produzione e secrezione di enzimi e citochine capaci di evocare una immediata e massiccia risposta infiammatoria. Come verrà descritto più nel dettaglio nei prossimi paragrafi, a questo volto più infiammatorio del mastocita Giano bifronte, si oppone un volto più selettivo, caratterizzato dalla produzione di chemochine in risposta ad attivazione attraverso i TLRs e in assenza di rilascio di istamina, oppure dalla produzione di citochine come conseguenza dell'interazione con altre cellule del sistema immunitario (4).

LA SOCIALITÀ CELLULARE: LA VERA ARMA DEL MASTOCITA

Come ogni sofisticata macchina che funziona a dovere, il sistema immunitario si fonda sulla interazione e cooperazione fra le sue diverse componenti. In quest'ottica, il mastocita è da considerarsi un ingranaggio di fondamentale importanza per il corretto funzionamento della complessa macchina qual è il sistema immunitario. Difatti, nel corso dell'ultimo decennio, si sono susseguiti tutta una serie di nuovi lavori che hanno portato a definire il mastocita una "cellula sociale", capace di sfruttare il suo ingente armamentario di molecole di membrana e solubili per interagire con partner sia dell'immunità innata che acquisita, nonché con cellule non appartenenti al sistema immunitario quali cellule epiteliali, cellule stromali, fibroblasti e cellule endoteliali vascolari. Il più delle volte questo "dialogo fra cellule" è bidirezionale ed è mediato sia dall'interazione fisica che dal rilascio di citochine, chemochine e/o vescicole extracellulari (6).

In letteratura è riportato che, attraverso il rilascio del contenuto dei granuli, il mastocita è in grado di modulare le risposte immunitarie innate dell'ospite. Il rilascio di istamina e di altri mediatori vasoattivi aumenta la permeabilità vascolare e il flusso sanguigno locale e può agire sui muscoli lisci per aumentare l'espulsione dei parassiti della mucosa. L'istamina ha inoltre l'importante funzione di indurre la produzione di muco da parte delle cellule epiteliali,



favorendo così l'intrappolamento degli agenti patogeni e, quindi, la protezione dell'ospite (9). Principalmente attraverso il rilascio di fattori chemiotattici quali l'interleuchina (IL) 8 e il $\text{TNF-}\alpha$, il mastocita promuove il reclutamento dei neutrofili nel sito interessato da una infiammazione batterica; inoltre favorisce il richiamo di altre cellule infiammatorie quali eosinofili, basofili e cellule natural killer (10). Recentemente, un elegante studio pubblicato da Carroll-Portillo e collaboratori su *The Journal of Cell Biology* ha mostrato che i mastociti sono in grado di formare delle sinapsi con le cellule dendritiche (DC). La formazione di queste sinapsi vede coinvolte le integrine e facilita il trasferimento di antigeni dal mastocita alla DC (11).

Nel contesto delle interazioni cellulari che mettono in luce il bifrontismo del mastocita, uno degli argomenti di studio che ha da sempre riscontrato notevole interesse è la regolazione da parte del mastocita della risposta dei linfociti T. In aggiunta alle cellule che presentano l'antigene (APC) professionali, è stato dimostrato che anche APC residenti nel tessuto, quali il mastocita, svolgono un importante ruolo nella differenziazione e nella risposta delle cellule T CD4+. Un esempio di questa importante funzione del mastocita è dato da un recente studio svolto nell'ambito della psoriasi umana, in cui viene dimostrato che, istruito dall'interferone (IFN)- γ presente nel sito infiammato, il mastocita è in grado di presentare l'antigene a linfociti T CD4+ che erano già stati attivati in periferia e che, in risposta, erano migrati nel tessuto. Come conseguenza di

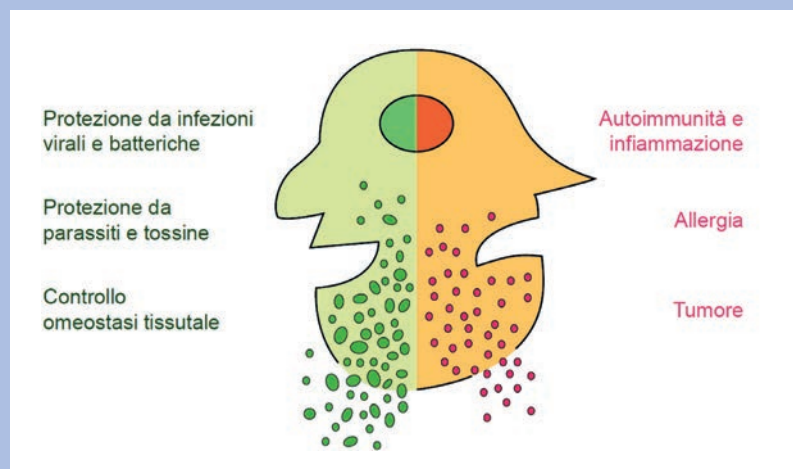
questa interazione si ha la generazione di cellule T helper (Th) produttrici IL-22 e IFN- γ , e quindi una progressione della condizione patologica (12). L'ambivalenza del mastocita Giano bifronte si manifesta anche nel diverso sviluppo che può avere la sua interazione con il linfocita T CD4+. Un lavoro pubblicato da Fujita e collaboratori su *Journal of Clinical Immunology* ha difatti mostrato che se i mastociti umani vengono trattati con IFN di tipo I, piuttosto che con IFN- γ , si ha uno spostamento verso l'espressione di citochine quali IL-10 e TGF- β , a discapito di $\text{TNF-}\alpha$ e della molecola di membrana OX40L, e il conseguente contenimento delle funzioni effettrici dei linfociti T CD4+ (13). Sempre nel contesto della risposta T, i mastociti sono in grado di modulare la

risposta dei linfociti T CD8+ e di interagire con le cellule T regolatorie (Treg). La possibilità che il subset Treg potesse sfruttare l'interazione con il mastocita per potenziare ulteriormente la sua attività soppressiva ha da subito rappresentato un intrigante ambito di ricerca e, attualmente, numerosi lavori descrivono le diverse modalità attraverso cui queste cellule si influenzano reciprocamente. Molto interessante è la considerazione di Bulfone-Paus e Bahri che, a seconda dello specifico microambiente e/o contesto patologico, questa interazione può risultare nello spegnimento delle funzioni del mastocita da parte delle Treg o, al contrario, nel prevalere della inibizione della funzione soppressiva da parte dei mastociti (14). Come illustrato più nel dettaglio nei successivi paragrafi, il



Figura 2

Il mastocita Giano bifronte



Rappresentazione schematica del dualismo funzionale delle risposte messe in atto dal mastocita in differenti contesti fisio-patologici.



mastocita svolge un ruolo significativo nel tumore e, nel contesto del carcinoma del colon-retto, l'esito di questa interazione è la generazione di Treg di tipo pro-infiammatorio, capaci di esprimere IL-17 e di traslare dalla soppressione alla promozione dell'espansione e della degranulazione del mastocita (15).

Seppur meno studiata, anche l'interazione con l'altra componente dell'immunità adattativa, il linfocita B, si è rivelata di notevole importanza nel contesto della regolazione della risposta immunitaria. È stato difatti dimostrato

che, nella forma attivata IgE/Ag, il mastocita è in grado di promuovere, in vitro, la proliferazione della cellula B e la sua differenziazione in cellula effettrice, produttore anticorpi. Merluzzi e collaboratori sono stati i primi a descrivere il ruolo del mastocita nella differenziazione a plasmacellula e nella induzione della produzione di IgA. Questa evidenza in vitro acquisisce ulteriore rilevanza alla luce del dato che mastociti e plasmacellule IgA-produttori sono stati visti co-localizzare in campioni biotici di pazienti affetti da patologie infiam-

matorie intestinali quali colite ulcerosa e malattia di Crohn (16). Uno studio molto recente ha implementato le nostre conoscenze sul crosstalk fra questi due tipi cellulari dimostrando che il mastocita promuove la differenziazione della cellula B in un fenotipo di APC, caratterizzato da un'elevata espressione superficiale di MHC di classe II e di CD86, e induce lo scambio di classe all'isotipo IgG (17). In virtù del fatto che i mastociti sono implicati in varie patologie relazionate alla cellula B, incluse malattie autoimmuni quali l'artri-



Tabella 1

Classificazione dei mastociti nell'uomo e nel topo

Origine	Sottoclasse	Localizzazione	Ammine	Proteasi	Proteoglicani
Uomo	MC _T	Bronchi, alveoli, mucosa nasale, mucosa intestinale	Istamina	Triptasi	Eparina, condroitin solfato
	MC _{TC}	Tonsille, sottomucosa nasale, sottomucosa intestinale, cute, congiuntiva, linfonodi, parenchima mammella	Istamina	Triptasi, chimasi, carbossi peptidasi, catepsina G	Eparina, condroitin solfato
Topo	MC _C	Bronchi, sottomucosa intestinale	Istamina	Chimasi, triptasi, carbossi peptidasi, catepsina G	Eparina, condroitin solfato
	Mucosali (MMC)	Mucosa vie respiratorie, mucosa intestinale, orecchio, lingua	Istamina	MMCP-1, 2	Condroitin solfato
	Connettivali (CTCM)	Cute, peritoneo	Istamina, serotonina	MMCP-3,4,5,6, carbossipeptidasi	Eparina



te reumatoide e la sclerosi multipla (18), urge focalizzare le future linee di ricerca nel valutare il significato in vivo di questa attivazione della risposta B mediata dal mastocita. Se un volto del mastocita Giano Bifronte promuove la risposta effettrice umorale del linfocita B, l'altro è proiettato all'espansione di un subset funzionale di cellule B, chiamato Breg, in grado di regolare negativamente la risposta immunitaria attraverso il rilascio della citochina immunosoppressiva IL-10. Durante la fase di risoluzione dell'infiammazione intestinale indotta dalla somministrazione al topo di destrano sodio solfato, queste Breg vengono espanse nel colon e/o reclutate da altri siti anatomici, e questo processo si è visto essere dipendente dalla presenza del mastocita (19). Come nel caso dell'interazione con il linfocita T, il mastocita può anche "subire" l'effetto della interazione con la cellula B. Linfociti B CD5+ di derivazione splenica sono in grado di sopprimere l'attivazione del mastocita IgE/Ag-mediata in vitro e la risposta allergica nei topi, attraverso un meccanismo dipendente dall'interazione CD40-CD40L e dalla produzione di IL-10 (20). Un recente studio ha dimostrato inoltre che, nel topo, le cellule B regolatorie CD5+ mesenteriche controllano la risposta allergica alimentare causata dalla caseina. In questo caso l'effetto della IL-10 prodotta dalla cellula B non agisce direttamente sul mastocita bensì è responsabile dell'attivazione delle cellule Treg Foxp3+ che, a loro volta, agiscono sopprimendo l'azione degli eosinofili e i mastociti (21).

Quelli riportati in questo paragrafo

sono solo alcuni esempi delle molteplici ed eleganti connessioni che il mastocita tesse con le diverse cellule del nostro organismo (Figura 1). L'intento di questo breve excursus non è certo quello di fornire una panoramica esaustiva e completa delle trame ricamate dal mastocita, quanto invece fornire delle evidenze di come questa cellula sia in grado di sfruttare la sua "socialità" per esercitare funzioni diverse, talvolta opposte, nella regolazione della risposta immunitaria.

RISPOSTA IgE-MEDIATA: ALLERGIE E RISPOSTE AI PARASSITI

Il ruolo del mastocita nella flogosi allergica è stato ampiamente documentato in tutte le sue fasi. Il mastocita fornisce il suo contributo già nelle fasi di sensibilizzazione influenzando la permeabilità delle membrane mucosali che consentono l'accesso degli allergeni nell'organismo, promuovendo il reclutamento tissutale delle cellule dendritiche, presentando direttamente peptidi antigenici alle cellule T e rilasciando citochine come IL-4 e IL-13 che promuovono la produzione di IgE da parte dei linfociti B (22). L'attivazione del mastocita attraverso il recettore FcεRI è stata ampiamente descritta e rappresenta il fattore cardine per l'avvio della flogosi allergica. A seguito del legame del FcεRI si assiste allo svuotamento praticamente immediato dei granuli contenenti mediatori infiammatori preformati come l'istamina, l'eparina, il TNF-α e diverse proteasi. Queste sostanze generano una reazione infiammatoria acuta con una

componente vascolare caratterizzata da aumentata permeabilità vascolare, vasodilatazione e contrazione della muscolatura liscia. Le proteasi rilasciate nella fase acuta, come la triptasi e la chimasi, sono responsabili del danno tissutale che ne consegue, mentre peptidi come la sostanza P, bradichinine e VEGF causano infiammazione acuta e dolore. L'attivazione del mastocita porta anche alla generazione de novo di mediatori di natura lipidica e proteica che vengono rilasciati in tempi più tardivi e in modo prolungato. I metaboliti generati dall'acido arachidonico, come LTB₄, LTC₄, PAF e PGD₂, assieme alle citochine, chemochine e fattori di crescita sono responsabili della fase tardiva della reazione allergica, caratterizzata dall'infiltrazione ed attivazione linfocitaria e leucocitaria, che regola l'amplificazione e la risoluzione del processo flogistico. La prolungata e incontrollata reattività del mastocita è invece responsabile della cronicizzazione del processo infiammatorio (22).

Tuttavia, accanto al ruolo chiaramente pro-infiammatorio del mastocita, non si può non ricordare anche l'altra faccia del mastocita Giano bifronte nelle reazioni IgE-mediate. Infatti, molti dei mediatori rilasciati dai mastociti a seguito di questo tipo di attivazione, hanno un ruolo importante anche nei processi di risoluzione del danno tissutale e nella soppressione della risposta infiammatoria stessa. Ad esempio, è stato dimostrato che la triptasi-beta può tagliare e inattivare le IgE (23) mentre la chimasi può degradare peptidi endogeni come l'endotelina e la neurotensina rilasciati in corso di



infiammazione limitandone gli effetti tossici (24, 25). Inoltre, la produzione da parte dei mastociti di citochine ad azione immunoregulatoria come IL-10 è stata dimostrata fondamentale nell'uomo per la limitazione dell'infiammazione cronica della cute durante le reazioni di ipersensibilità da contatto scatenate in seguito al contatto con alcune specie di piante urticanti (26).

Per molti anni si è sostenuto che le reazioni allergiche IgE-mediate rappresentassero l'evoluzione di meccanismi di difesa contro i parassiti in risposte di tipo Th2 esagerate nei confronti di antigeni innocui. In effetti, molte infezioni parassitarie sono caratterizzate da elevati livelli di IgE sia aspecifiche che specifiche per antigeni parassitari, accompagnate da una redistribuzione ed un aumento del numero di mastociti in prossimità delle sedi di infezione del parassita dove appaiono in gran parte attivati. Tuttavia, studi condotti utilizzando modelli animali mancanti di mastociti o privi di proteasi specifiche di queste cellule, hanno evidenziato che un ruolo benefico del mastocita nei confronti dell'infezione da parassiti è ascrivibile a singoli ceppi di patogeni, smentendo un ruolo protettivo esclusivo del mastocita nelle parassitosi. Infatti, la presenza di mastociti sembra essere fondamentale per la resistenza a infezioni di *Leishmania major* o da infezioni di nematodi come *Strongiloides ratti*, *Strongiloides venezuelanis* e *Trichinella spiralis*, mentre, seppur coinvolti, non sembrano essere fondamentali nel garantire la protezione contro *Nippostrongylus brasiliensis* e zecche del genere *Demacantor variabilis* e

Amblyomma americanum (27).

Diversamente dai parassiti, la maggior parte degli allergeni non rappresenta una potenziale minaccia per l'ospite. La provenienza comune di buona parte degli allergeni da sostanze o alimenti che contengono tossine, ha indotto già nel 1991 Margie Profet a ipotizzare che le reazioni allergiche acute, caratterizzate da starnuti, tosse, vomito o diarrea, non sono altro che l'evoluzione di meccanismi di difesa con cui l'ospite cerca di contrastare, neutralizzare ed eliminare nel modo più rapido possibile sostanze potenzialmente pericolose (28). In quest'ottica, le reazioni di ipersensibilità immediata potrebbero essere il riflesso di reazione protettive di organismi vertebrati nei confronti di morsi, punture o invasioni di rettili e antropodi. Queste considerazioni sono state a lungo ignorate, ma negli ultimi anni il gruppo di ricerca di S. Galli a Stanford si è ampiamente prodigato per dimostrare la validità di questa teoria. Galli ha utilizzato diversi modelli di topi geneticamente mancanti di mastociti per dimostrare che la loro presenza è fondamentale per la resistenza dell'animale al veleno di rettili, scorpioni e api di diversa provenienza geografica (29). Diverse componenti pericolosamente letali del veleno di questi animali, come la sarafotossina 6b e la helodermina, hanno una somiglianza strutturale con peptidi endogeni (rispettivamente endotelina e polipeptide vasoattivo intestinale) per i quali i mastociti esprimono i recettori di membrana. Attraverso questi recettori, i peptidi esogeni tossici possono indurre i mastociti a degranulare, svuotando in tempi rapidissimi i loro

granuli citoplasmatici. Una volta secreti, alcuni degli enzimi contenuti nei granuli citoplasmatici del mastocita, in particolare la carbossipeptidasi A3 e l'omologo della chimasi umana mMCP4, degradano immediatamente i componenti dei veleni riducendone la tossicità e favorendo la sopravvivenza dell'organismo colpito. Inoltre, la risposta Th2 generata in seguito all'attivazione dei mastociti conferisce all'organismo resistenza verso dosi potenzialmente letali dello stesso veleno (29).

Ecco dunque come il dualismo del Giano bifronte si può applicare al mastocita nel contesto delle risposte IgE-mediate: da un lato l'attivazione del mastocita rappresenta un evento inappropriato ed indesiderato perché si scatena verso sostanze innocue, dall'altro lato lo stesso processo infiammatorio che sta alla base dall'attivazione IgE-mediata corrisponde ad un meccanismo che nei secoli ha garantito la sopravvivenza della nostra specie ad aggressioni esterne.

RISPOSTA IGE-INDIPENDENTE: TUMORE, AUTOIMMUNITÀ E INFIAMMAZIONE CRONICA

Come già introdotto in altri punti di questo aggiornamento, una varietà di mediatori IgE-indipendenti, tra cui IgG, citochine, chemochine, molecole esogene, farmaci e peptidi cationici, e molti altri ancora, possono innescare l'attivazione del mastocita (4). Al pari della attivazione IgE-mediata, la risposta IgE-indipendente del mastocita è implicata nella fisiopatologia di diverse malattie, tra cui disturbi gastrointestinali, molti



Tabella 2

Recettori, molecole di adesione e molecole co-stimolatorie espresse costitutivamente dai mastociti.
 Recettori Toll like, TLR; Recettore associato a proteina G, GPCR; PGE, prostaglandina E; VIP, peptide intestinale vasoattivo.

Famiglia recettore	Tipo recettore	Ligandi
FcR FcεR FcγR	FcεRI, FcεRII FcγRI, FcγRII, FcγRIII	IgE IgG
TLR	TLR1, 2,3,4,5,6,7,8,9	prodotti microbici
MHC	MHC I, MHC II	
Recettori del complemento	CR2, CR3, CR4, CR5, C3aR, C5aR	C3a, C5a
Recettori di citochine e fattori di crescita	IL-1R, IL-3R, IL-9R, IL-10R, IL-12R, IL-33R, INFγR, TGFβR, CD117	IL-1, IL-3, IL-9, IL-10, IL-12, IL-33, INFγ, TGFβ, SCF
Recettori di chemochine	CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CX3CR1	CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL1, CXCL2, CXCL8, CXCL10, CXCL11, CXCL12
GPCR: neurotrasmettitori ormoni peptidici altri	H1, H2, H3, H4, 5-HT, recettori adrenergici β2 MRGX2, VPAC2, NKR ET-A, recettore per neurotensina, EP, P2Y1, P2Y11	Istamina, serotonina, adrenalina Somatostatina e sostanza P, VIP, neurochinine Endotelina-1, neurotensina PGE, ADP, ATP
Molecole di adesione	ICAM-1, VCAM, VLA4, CD226 (DNAM-1) Siglec7, Siglec8, CD47, CD300a, SynCAM (CADM1), a2b1, a1b7, a4b7	LFA-1, MAdCAM-, VCAM-1, CD112 (Nectin-2), residui acido sialico, TSLC1
Molecole co-stimolatorie famiglia TNF/TNFR famiglia B7 famiglia Notch	CD40L, OX40L, 4-1BB, GITR, CD30L, Fas, TRAIL-R CD128, ICOSL, PD-L1, PD-L2 Notch1, Notch2	CD40, OX40, 4-1BBL, GITRL, CD30, FASL, TRAIL CD80, ICOS, PD-1 Jagged, Delta



Tabella 3

Principali classi di mediatori prodotti dai mastociti.

Famiglia	Tipo	Effetto biologico
Pre-formati:		
ammine	Istamina e serotonina	Vasodilatazione, attivazione leucociti, dolore, contrazione muscolatura
proteasi	Triptasi	Infiammazione, dolore, danno tissutale, attivazione PAR
	Chimasi	Infiammazione, dolore, danno tissutale
	Carbossipeptidasi A	Degradazione enzimatica
	Catepsina G, elastasi	Infiammazione, rimodellamento tissutale
	Granzyme B	Killing dei patogeni, rimodellamento tissutale
	Metallo proteinasi-1,3,9	Rimodellamento tissutale
enzimi lisosomiali	Arilsolfatasi, b-esosaminidasi, b-glucuronidasi, b-D-galattosidasi, catepsina B-C-D-E-L	Killing dei patogeni, rimodellamento tissutale Killing dei patogeni, rimodellamento tissutale Killing dei patogeni, rimodellamento tissutale
altri	Ossido nitrico sintasi, Endotelina, Chinine, Somatostatine	Produzione ossido nitrico Sepsi Infiammazione, dolore, vasodilatazione Azione anti-infiammatoria
Prodotti di neo-sintesi:		
di natura lipidica	LTB4, LTC4, PGD2, PAF,	Infiammazione, reclutamento leucociti, adesione endoteliale, aumento permeabilità vasale, contrazione muscolatura liscia
citochine	IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-22, IL-25, IL-33, MIF, TNF-a, IFN-a, IFN-b, IFN-g	Infiammazione, proliferazione e attivazione linfocitaria e leucocitaria, immunoregolazione
chemochine	CCL1,2,3,4,5,7,8,11,13,16,17,19,20,22,25 CXCL1,2,3,4,5,8,10 CX3CL	Chemotassi leucocitaria
fattori di crescita	TGF-b, SCF, G-CSF, M-CSF, GM-CSF, VEGF, NGF-b, LIF, bFGF, Ang-1	Crescita cellulare



tipi di tumori e malattie autoimmuni.

Una mole crescente di lavori ha descritto un'attivazione basale del mastocita "semplicemente" a seguito dell'interazione con altre cellule e, soprattutto, in assenza di segnali di attivazione provenienti dal microambiente (6). Talvolta però questa modalità di attivazione non è associata al mantenimento dell'omeostasi bensì a condizioni patologiche. L'interazione fra mastocita e DC svolge ad esempio un ruolo essenziale nella fase di sensibilizzazione dell'ipersensibilità da contatto. Otsuka e collaboratori hanno difatti dimostrato che, nella forma attivata, le DC inducono l'attivazione del mastocita che, attraverso il contatto cellulare, innesca la maturazione delle DC della pelle e la migrazione verso i linfonodi drenanti (30). Nel contesto della sclerosi multipla, l'attivazione dei mastociti da parte di citochine infiammatorie prodotte da cellule T possono aggravare la patologia (31).

I mastociti esprimono numerosi GPCR che sono in grado di legare stimoli peptidici quali tossine, neuropeptidi, peptidi antimicrobici e peptidi endogeni bioattivi (32). Recenti studi hanno dimostrato che i mastociti umani possono essere attivati attraverso un nuovo GPCR, noto come membro X2 dei recettori accoppiati con proteina G legato alla MAS (MRGPRX2), espresso selettivamente sui mastociti e presente sia sulla membrana plasmatica che a livello intracellulare. Il legame a questo recettore di peptidi antimicrobici quali LL-37 innesca nel mastocita le funzioni di "direttore" della risposta innata mentre il composto 48/80, che attiva i mastociti

attraverso MRGPRX2, è stato utilizzato nei topi come un adiuvante dei vaccini sicuro ed efficace. In contrapposizione a questi aspetti benefici, è stato descritto un ruolo di MRGPRX2 in malattie caratterizzate da infiammazione cronica (33). Fujisawa e collaboratori hanno riportato evidenze del fatto che i mastociti di pazienti affetti da orticaria cronica esprimono MRGPRX2 a livelli superiori rispetto alla controparte sana (34) mentre la recente dimostrazione che i neuropeptidi sono in grado di attivare i mastociti umani tramite MRGPRX2 suggerisce che questo GPCR contribuisce allo sviluppo di infiammazione neurogena (33).

Il bifrontismo del mastocita e, più specificatamente, della risposta IgE-indipendente diventa lampante nel contesto tumorale, ambito in cui l'esatto contributo di queste cellule rimane ad oggi un quesito irrisolto dal momento che in alcune neoplasie i mastociti svolgono un ruolo pro-tumorigenico, in altri un'azione protettiva, mentre in altri ancora sembrano non avere una funzione rilevante nella progressione della malattia (35). Come revisionato in maniera molto accurata da Varricchi e collaboratori, i mastociti peri- e intra-tumoral si vengono a trovare in un microambiente infiammatorio caratterizzato da ipossia, da bassi livelli di pH e dall'accumulo di acido lattico, adenosina, PGE2, IFN- γ e SCF, ovvero di fattori che possono significativamente influenzare la migrazione e l'attivazione del mastocita. In risposta a questi mediatori, e a seconda della tipologia e dello stadio del tumore, il mastocita può promuovere la progres-

sione del tumore attraverso il rilascio di fattori angiogenici e linfangiogenici, proteasi, specie reattive dell'ossigeno e l'induzione della transizione epitelio-mesenchima e della staminalità, oppure favorire la risposta antitumorale attraverso meccanismi diretti e indiretti (36). Due esempi del bifrontismo del mastocita nel contesto tumorale sono rappresentati esaurientemente dall'analisi del tumore alla prostata e al seno. Nel tumore alla prostata, Johansson e collaboratori hanno mostrato che il ruolo del mastocita varia a seconda della sua specifica localizzazione; più nello specifico, i mastociti intra-tumoral regolano negativamente l'angiogenesi e la crescita del tumore, mentre quelli situati nella zona peri-tumorale stimolano l'espansione del tumore alla prostata (37). Studi antecedenti eseguiti su biopsie prostatiche avevano associato un'elevata densità di mastociti ad una buona prognosi della patologia mentre nel 2011 il gruppo di ricerca di M.P. Colombo ha descritto un duplice ruolo del mastocita che ostacola lo sviluppo dell'adenocarcinoma della prostata, ma promuove la comparsa di tumori neuroendocrini altamente aggressivi (38). Benché il tumore al seno sia una delle neoplasie per il quale vi sono più evidenze di un effetto protettivo del mastocita (36), Ribatti e collaboratori hanno riportato diverse evidenze di un aumentato numero di mastociti nell'angiogenesi associata a tumori solidi, compreso il cancro al seno, e suggeriscono che il targeting specifico delle funzioni del mastocita potrebbe rappresentare una nuova frontiera per combattere questo tipo di tumore (39).



Similmente alla risposta generata dal legame del complesso IgE/Ag a FcεRI, anche l'attivazione IgE-indipendente del mastocita può avere dei risvolti diversi a seconda dello specifico contesto immunologico in analisi. Da un punto di vista terapeutico, questo spinge a ricercare terapie sempre più mirate, in grado di spegnere le funzioni avverse salvaguardando invece quelle che hanno un effetto benefico sul decorso della patologia.

CONCLUSIONI

I mastociti possono essere collocati molto in alto nella scala evolutiva del sistema immunitario. Questo aspetto può essere spiegato considerando il ruolo chiave di queste cellule nell'indurre reazioni infiammatorie salvavita già in organismi primordiali, incapaci di mettere in atto una risposta immunitaria adattativa. Una nuova visione di questa cellula "antica" deriva dall'ingente impegno dedicato negli ultimi due decenni allo studio del ruolo del mastocita in contesti diversi da quello allergico (40). Il take-home message di tutti questi studi è che l'estrema variabilità delle funzioni mastocitarie è la diretta conseguenza non solo della diversità degli stimoli a cui questa cellula può rispondere ma soprattutto allo specifico contesto in cui il mastocita viene a trovarsi. Difatti, molte volte le modalità di attivazione e risposta del mastocita possono risultare le stesse messe in atto in reazioni che conferiscono da un lato protezione, dall'altro danno all'organismo.

In questo aggiornamento abbiamo voluto utilizzare il mito del Giano bifronte

per meglio spiegare la versatilità del mastocita e la diversità delle sue risposte. Come rappresentato in Figura 2, il mastocita ha un ruolo attivo e positivo nel processo di difesa contro le tossine e nel processo infiammatorio contro virus e batteri. L'attivazione del mastocita serve ad innescare la risposta contro l'antigene ma anche a promuovere le reazioni di riparo dei tessuti lesionati dall'azione dei suoi stessi mediatori rilasciati. Tuttavia, l'attivazione del mastocita può insorgere anche contro autoantigeni o protrarsi eccessivamente contribuendo alla cronicizzazione della flogosi. L'attivazione del mastocita attraverso FcεRI serve alla protezione dalle infezioni da parassiti, ma è anche responsabile dell'innescamento delle reazioni allergiche. Nei contesti tumorali il mastocita è la sentinella tissutale in grado di contrastare l'innescamento del tumore. Ma se nelle fasi iniziali il mastocita può rallentare la crescita tumorale,

una sua massiccia attivazione può causare risposta vascolare a sostegno della progressione neoplastica (4).

Il mastocita non è l'unica cellula del sistema immunitario in grado di svolgere molteplici funzioni, ma è certamente una cellula che si attiva rapidamente ed estremamente versatile. Questa capacità di rispondere immediatamente ad una vasta gamma di segnali rende il mastocita essenziale per la sopravvivenza ad insulti esterni potenzialmente fatali, mentre l'adattabilità della risposta in funzione del tipo di insulto e del contesto in cui esso si manifesta conferisce al mastocita un crescente interesse terapeutico (41). La modulazione selettiva della reattività del mastocita rappresenta quindi un promettente approccio terapeutico per il trattamento non solo di malattie allergiche, bensì di tutte quelle condizioni fisio-patologiche in cui questa cellula è coinvolta.



Bibliografia

1. Fawcett DW - Cytological and pharmacological observations on the release of histamine by mast cells. *The Journal of experimental medicine* 1954;100:217-24.
2. Bach MK, Bloch KJ, Austen KF - IgE and IgG antibody-mediated release of histamine from rat peritoneal cells. I. Optimum conditions for in vitro preparation of target cells with antibody and challenge with antigen. *The Journal of experimental medicine* 1971;133:752-71.
3. Krystal-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG - Mast Cell: A Multi-Functional Master Cell. *Frontiers in immunology* 2015; 6: 620.
4. Frossi B, Mion F, Tripodo C, et al. - Rheostatic Functions of Mast Cells in the Control of Innate and Adaptive Immune Responses. *Trends in immunology* 2017;38(9):648-656.
5. Collington SJ, Williams TJ, Weller CL - Mechanisms underlying the localisation of mast cells in tissues. *Trends in immunology* 2011;32:478-85.
6. Gri G, Frossi B, D'Inca F, et al. - Mast cell: an emerging partner in immune interaction. *Frontiers in immunology* 2012;3:120.
7. Bischoff SC - Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: compari-



Bibliografia

- son of human and murine data. *Nature reviews Immunology* 2007;7:93-104.
8. Moon TC, Befus AD, Kulka M - Mast cell mediators: their differential release and the secretory pathways involved. *Frontiers in immunology* 2014;5:569.
9. Urb M, Sheppard DC - The role of mast cells in the defence against pathogens. *PLoS pathogens* 2012; 8: e1002619.
10. St John AL, Abraham SN - Innate immunity and its regulation by mast cells. *Journal of immunology* 2013;190:4458-63.
11. Carroll-Portillo A, Cannon JL, te Riet J, et al. - Mast cells and dendritic cells form synapses that facilitate antigen transfer for T cell activation. *The Journal of cell biology* 2015;210:851-64.
12. Gaudenzio N, Laurent C, Valitutti S, et al. - Human mast cells drive memory CD4+ T cells toward an inflammatory IL-22+ phenotype. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2013;131:1400-7 e11.
13. Fujita T, Kambe N, Uchiyama T, et al. - Type I interferons attenuate T cell activating functions of human mast cells by decreasing TNF-alpha production and OX40 ligand expression while increasing IL-10 production. *Journal of clinical immunology* 2006;26:512-8.
14. Bulfone-Paus S, Bahri R - Mast Cells as Regulators of T Cell Responses. *Frontiers in immunology* 2015; 6: 394.
15. Blatner NR, Bonertz A, Beckhove P, et al. - In colorectal cancer mast cells contribute to systemic regulatory T-cell dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010;107:6430-5.
16. Merluzzi S, Frossi B, Gri G, et al. - Mast cells enhance proliferation of B lymphocytes and drive their differentiation toward IgA-secreting plasma cells. *Blood* 2010;115:2810-7.
17. Palm AK, Garcia-Faroldi G, Lundberg M, et al. - Activated mast cells promote differentiation of B cells into effector cells. *Scientific reports* 2016;6:20531.
18. Walker ME, Hatfield JK, Brown MA - New insights into the role of mast cells in autoimmunity: evidence for a common mechanism of action? *Biochimica et biophysica acta* 2012;1822:57-65.
19. Mion F, D'Inca F, Danelli L, et al. - Mast cells control the expansion and differentiation of IL-10-competent B cells. *Journal of immunology* 2014;193:4568-79.
20. Kim HS, Kim AR, Kim DK, et al. - Interleukin-10-producing CD5+ B cells inhibit mast cells during immunoglobulin E-mediated allergic responses. *Science signaling* 2015;8:ra28.
21. Kim AR, Kim HS, Kim DK, et al. - Mesenteric IL-10-producing CD5+ regulatory B cells suppress cow's milk casein-induced allergic responses in mice. *Scientific reports* 2016;6:19685.
22. Galli SJ, Tsai M - IgE and mast cells in allergic disease. *Nature medicine* 2012;18:693-704.
23. Rauter I, Krauth MT, Westritschnig K, et al. - Mast cell-derived proteases control allergic inflammation through cleavage of IgE. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2008;121:197-202.
24. Maurer M, Wedemeyer J, Metz M, et al. - Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature* 2004;432:512-6.
25. Piliponsky AM, Chen CC, Nishimura T, et al. - Neurotensin increases mortality and mast cells reduce neurotensin levels in a mouse model of sepsis. *Nature medicine* 2008;14:392-8.
26. Grimbaldston MA, Nakae S, Kalesnikoff J, et al. - Mast cell-derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet B. *Nature immunology* 2007;8: 1095-104.
27. Galli SJ, Tsai M - Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity. *European journal of immunology* 2010;40:1843-51.
28. Profet M - The function of allergy: immunological defense against toxins. *The Quarterly review of biology* 1991;66:23-62.
29. Galli SJ - The Mast Cell-IgE Paradox: From Homeostasis to Anaphylaxis. *The American journal of pathology* 2016;186:212-24.
30. Otsuka A, Kubo M, Honda T, et al. - Requirement of interaction between mast cells and skin dendritic cells to establish contact hypersensitivity. *PLoS one* 2011;6:e25538.
31. Christy AL, Brown MA - The multitasking mast cell: positive and negative roles in the progression of autoimmunity. *Journal of immunology* 2007;179:2673-9.
32. Lu L, Kulka M, Unsworth LD - Peptide-mediated mast cell activation: ligand similarities for receptor recognition and protease-induced regulation. *Journal of leukocyte biology* 2017.
33. Subramanian H, Gupta K, Ali H - Roles of Mas-related G protein-coupled receptor X2 on mast cell-mediated host defense, pseudoallergic drug reactions, and chronic inflammatory diseases. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2016;138:700-10.
34. Fujisawa D, Kashiwakura J, Kita H, et al. - Expression of Mas-related gene X2 on mast cells is upregulated in the skin of patients with severe



Bibliografia

chronic urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2014;134: 622-33 e9.

35. Marichal T, Tsai M, Galli SJ. Mast cells: potential positive and negative roles in tumor biology. *Cancer immunology research* 2013;1:269-79.

36. Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S, et al. - Are Mast Cells MASTers in Cancer? *Frontiers in immunology* 2017;8:424.

37. Johansson A, Rudolfsson S, Hammarsten P,

et al. - Mast cells are novel independent prognostic markers in prostate cancer and represent a target for therapy. *The American journal of pathology* 2010;177: 1031-41.

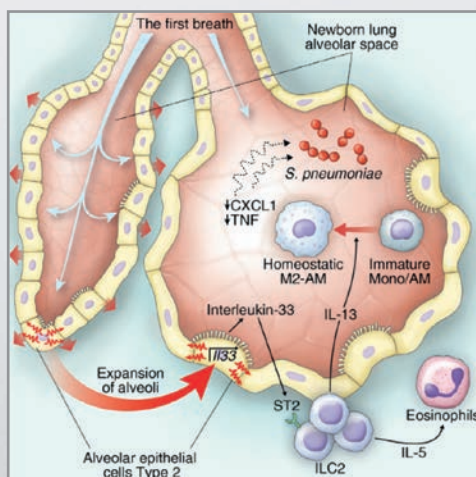
38. Pittoni P, Colombo MP - The dark side of mast cell-targeted therapy in prostate cancer. *Cancer research* 2012;72:831-5.

39. Cimpean AM, Tamma R, Ruggieri S, et al. - Mast cells in breast cancer angiogenesis. *Critical*

reviews in oncology/hematology 2017;115:23-6.

40. da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C - Mast cell function: a new vision of an old cell. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society* 2014;62:698-738.

41. Heib V, Becker M, Taube C, et al. - Advances in the understanding of mast cell function. *British journal of haematology* 2008;142:683-94.



Saluzzo et al.- First-Breath-Induced Type 2 Pathways Shape the Lung Immune Environment
Cell Reports 2017;18:1893-1905.

de Kleer et al.- Perinatal Activation of the Interleukin-33 Pathway Promotes Type 2 Immunity in the Developing Lung
Immunity 2016;45:1285-1298.

Il primo respiro

It is not known why allergy often begins in early life. The postnatal lung immune environment is largely unexplored. de Kleer et al. and Saluzzo et al. showed that, shortly after birth, type 2 innate immune cells accumulate in a IL-33-dependent manner in the developing lung. The first breath triggers IL-33 induction by AEC2 in lungs of newborn mice with the induction of an IL-33/ILC2/IL-13-driven immune response. ILC2-derived IL-13 polarizes newborn's AMs into an M2 phenotype. IL-33 furthermore boosts the function of neonatal dendritic cells to promote long-lasting Th2-cell-mediated immunity.

E.O.





I microRNA: piccoli regolatori ad ampio spettro

Veronica Santarlaschi
Università degli Studi Firenze

MicroRNAs: small RNAs but master regulators.

Not Allergol 2017; vol. 35: n.1: 23-30.

INTRODUZIONE

Il caos! Le cellule staminali non esisterebbero, il cervello e i muscoli non si svilupperebbero, le piante soccomberebbero alle infezioni virali, i fiori non attirerebbero gli insetti, le cellule non si dividerebbero per la mancanza di centromeri funzionanti: tutto questo accadrebbe se non esistessero i microRNA! I microRNA (miRNA) sono piccoli RNA (21-25 nucleotidi) non codificanti per proteine, “small non-coding RNA” che giocano un ruolo chiave nella regolazione dell'espressione genica. Agendo a livello degli RNA messaggeri prodotti dalla cellula, queste affascinanti molecole si pensa possano regolare finemente l'espressione di ben il 30% di tutti i geni codificanti proteine dei mammiferi.

DALLA SCOPERTA DEL SILENZIAMENTO GENICO AI miRNA

Napoli e Jorgensen furono i primi nel 1990 a mettere in evidenza un fenomeno di soppressione di una proteina,

chiamato “silenzamento genico”, senza però poterne capire ancora i meccanismi e i fattori responsabili (1). L'obiettivo dei loro studi era di determinare se un enzima chiave nella biosintesi di flavonoidi, fosse l'enzima limitante la velocità nella biosintesi delle antocianine responsabile per la colorazione violetta delle petunie.

Nel tentativo di generare petunie viola, Napoli e Jorgensen introdussero tale enzima, la calcione sintasi, ad alti livelli nelle petunie, che inaspettatamente divennero petunie bianche. Osservarono che sia i livelli endogeni che quelli del gene introdotto erano 50 volte più bassi rispetto alle petunie naturali, ciò li por-

RIASSUNTO

Parole chiave e sigle

- miRNA • inibizione della traduzione • silenziamento • differenziazione
- patologie • biomarcatori

I microRNA (detti anche miRNA) sono piccole molecole di RNA non codificante che regolano l'espressione genica agendo sulla regione non tradotta 3' (3' UTR) di specifici RNA messaggeri degradandoli o inibendo la loro traduzione. I miRNA possono reprimere la traduzione di molteplici geni e sono quindi in grado di regolare un gran numero di meccanismi cellulari. Prove emergenti hanno dimostrato che i miRNA svolgono un ruolo importante in una vasta gamma di processi di sviluppo tra cui la proliferazione cellulare, il ciclo cellulare, la differenziazione, il metabolismo, l'apoptosi, i tempi di sviluppo, il destino delle cellule neuronali, l'espressione genica neuronale, morfogenesi del cervello, differenziazione muscolare e la divisione di cellule staminali. Inoltre, un gran numero di studi ha riportato collegamenti tra alterazioni dell'omeostasi dei miRNA e condizioni patologiche come il cancro, malattie neurologiche, malattie cardiovascolari, malattie autoimmuni e malattie allergiche. I progressi degli ultimi anni fanno sperare che i miRNA nel prossimo futuro avranno un grande potenziale nella diagnosi e nel trattamento di molte malattie.



SUMMARY

Key words and Acronyms

- miRNA • translation inhibition • silencing • miRNA differentiation
- pathologies • biomarkers

MicroRNAs (also called miRNA) are small conserved non-coding RNA molecules that post-transcriptionally regulate gene expression by targeting the 3' untranslated region of specific messenger RNAs for degradation or translational repression. miRNAs can repress the gene translation of hundreds of their targets and are therefore well-positioned to target a multitude of cellular mechanisms. Emerging evidence has demonstrated that miRNAs play a major role in a wide range of developmental process including cell proliferation, cell cycle, cell differentiation, metabolism, apoptosis, developmental timing, neuronal cell fate, neuronal gene expression, brain morphogenesis, muscle differentiation and stem cell division. Moreover, a large number of studies have reported links between alterations of miRNA homeostasis and pathological conditions such as cancer, neurological diseases, cardiovascular disease, and allergic disease. Great discoveries and rapid progress in the past few years on miRNAs provide the hope that miRNAs will in the near future have a great potential in the diagnosis and treatment of many diseases.

tò ad ipotizzare che si fosse generato un fenomeno di “co-soppressione” reciproca. Tale scoperta inaugurò gli studi sul silenziamento. Alla fine degli anni 90' i fenomeni di silenziamento furono osservati in un ampio spettro di eucarioti, dai funghi alla drosophila. Nel 1992, Romano e Macino segnalavano un fenomeno simile in *Neurospora crassa* (2), notando che l'introduzione di sequenze di RNA causavano il “quelling” cioè una temporanea inattivazione del gene endogeno. Ma la prima evidenza che il fenomeno di silenziamento fosse da attribuire ad un “piccolo RNA” fu data nel 1993 da Victor Ambros, Rosalind Lee e Rhonda Feinbaum in uno studio condotto su lin-4, un gene noto per il controllo esercitato sulle tempistiche di sviluppo larvale di *Caenorhabditis elegans* (3). Quando isolarono il gene si accorsero che invece di produrre un RNA messaggero si

generavano piccoli filamenti di RNA uno dei quali era lungo 22 nucleotidi e parzialmente simile a sequenze multiple presenti nella regione all'estremità 3' non tradotta (3'UTR) dell'mRNA del gene lin-14 (Figura 1). Fu proposto per queste molecole appena scoperte un ruolo nel silenziamento dell'espressione genica di lin-14, ma si pensò fosse un prodotto genico caratteristico di *C. elegans*. Guo e Kemphues (4), nei loro studi sul gene par-1 nel *C. elegans* fecero un grande passo avanti osservando che è l'RNA a doppio filamento (double strand, dsRNA) con la sua sequenza a dare la specificità per la distruzione del mRNA target. Nel 2000 fu individuata una seconda piccola molecola di RNA codificata dal gene lin-7 con azione soppressiva sull'mRNA del gene lin-41 (5). Un anno dopo si riscontrò che gli RNA lin-4 e lin-7 sono parte di una grande classe di piccole mo-

lecole di RNA presenti nelle cellule di *C. elegans*, *Drosophila* ed *Homo sapiens* (6). L'Uomo ha circa 2.000 geni di miRNA già codificati.

LA BIOGENESI

La maggior parte dei geni che codificano per i miRNA si trovano nel DNA tra un gene e quello successivo (regioni intergeniche) o vengono trascritti leggendolo il codice genetico di un gene in senso inverso (3'>5' invece che 5'>3'), ciò indica che i miRNA vengono trascritti come unità indipendenti dagli altri geni (6,7). La restante parte dei geni dei miRNA si trovano all'interno di un gene ma in regioni non trascritte (introniche), ciò significa che sono trascritti insieme al gene stesso. Inoltre, alcuni miRNA sono raggruppati all'interno del DNA per consentire una trascrizione unica e coordinata. Negli animali, i miRNA sono trascritti come lunghi trascritti primari (pri-miRNA), che sono tagliati a formare una struttura a forcina chiamata pre-miRNA dall'RNasi nucleare III, chiamata Drosha (8) (Figura 1). Questo evento di scissione è importante perché determina la sequenza del miRNA maturo e genera il substrato ottimale per gli eventi successivi (8,9). Il prodotto intermedio, pre-miRNA (di circa 70 nucleotidi), viene esportato fuori dal nucleo da exportin-5 (Exp5) (9). Il pre-miRNA viene successivamente scisso da una RNasi III citoplasmatica, chiamata Dicer (10), in ~22-nt andando a costituire un miRNA a doppio filamento. Uno dei due filamenti di questo “duplex” è degradato da una nucleasi,



mentre l'altro filamento rimane come miRNA maturo. Quale filamento verrà selezionato positivamente è determinato dalla relativa stabilità delle due estremità del duplex, cioè, il filamento meno stabile termodinamicamente all'estremità 5' di solito sopravvive (11).

MECCANISMO D'AZIONE

I miRNA solitamente inducono la degradazione di un altro mRNA appaiandosi a siti presenti nel 3'UTR del mRNA bersaglio. Questa interazione impedisce la produzione di proteine sopprimendo la sintesi proteica o avviando la degradazione dell'mRNA stesso. Poiché la maggior parte dei siti di legame sull'mRNA hanno complementarità parziale con il loro corrispondente miRNA, singoli miRNA possono legare fino a 100 diversi mRNA. Ma si verifica anche che i singoli mRNA possano contenere più siti di legame per diversi miRNA, dando origine così ad un network molto complesso. I miRNA maturi vengono convogliati in complessi effettori chiamati miRNP (particelle ribonucleo proteiche contenenti miRNA) e indirizzano il complesso verso l'mRNA target. Nelle piante, i miRNA si legano a un singolo sito, generalmente perfettamente complementare nella parte codificante o nella regione 3'-non tradotte (UTR) del mRNA bersaglio. Al contrario, i miRNA animali si legano a più siti, parzialmente complementari nel 3'-UTR. Il destino del mRNA bersaglio è deciso dalla misura del legame al miRNA: un miRNA determinerà la

degradazione del mRNA bersaglio se ha una complementarità assoluta (12), mentre una complementarità parziale ma distribuita in più siti del mRNA, determinerà la semplice inibizione della traduzione (13). Il miRNA, dopo aver tagliato o inibito un mRNA, rimane intatto e può determinare il riconoscimento e la degradazione di altri mRNA (12).

I miRNA NELLA FISIOPATOLOGIA UMANA

E' stato dimostrato che i miRNA svolgono un ruolo importante in una vasta gamma di processi tra cui il metabolismo, la proliferazione cellulare, l'apoptosi, i tempi di sviluppo cellulare e il destino delle cellule neuronali (14).



Figura 1

Genesi dei miRNA

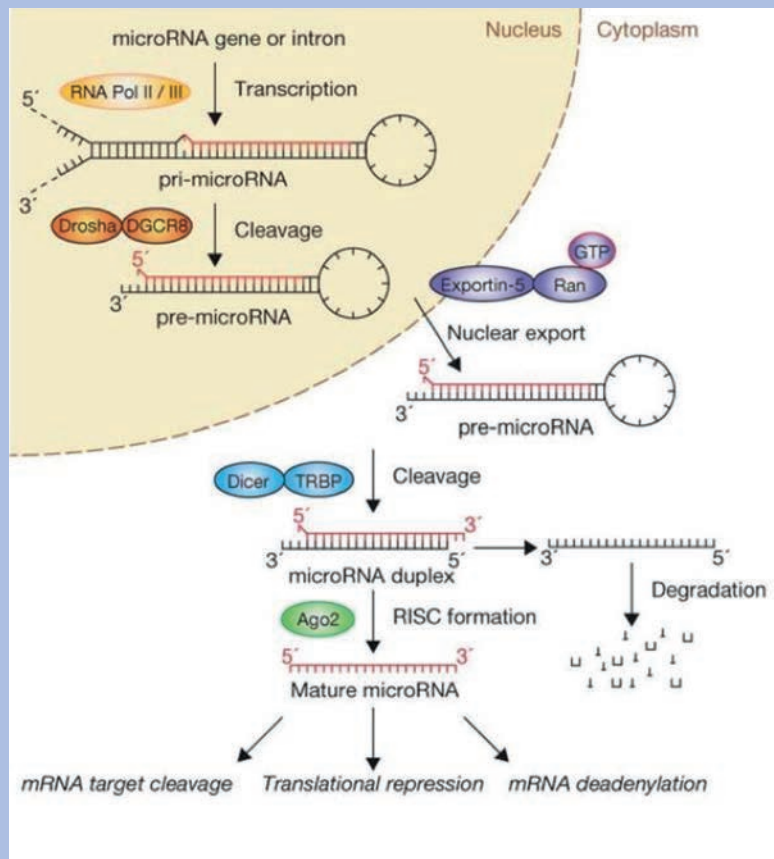




Tabella 1

miRNA coinvolti nello sviluppo di alcuni tumori solidi

Tumore	miRNA coinvolti	Iper (↑) o (↓) ipoespressi
Mammella	miR-21, miR-155, miR-23, and miR-191	↑
Mammella	miR-205, miR-145, miR-10b, and miR-125b	↓
Ovaio	miR-200a, miR-200c, and miR-141	↑
Ovaio	miR-199a, miR-140, miR-145, and miR125bl	↓
Colon	miR-let 7g, miR-21, miR-20a, miR-17-19 family, miR-31, miR-135, miR-181b, and miR-200c	↑
Colon	miR-34, miR-let7, miR-143, miR-145, miR-133b, and miR-126	↓
Polmone	has-mir-21 and has-mir-205, miR-17-92	↑
Polmone	has-mir-126*, miR-let 7, hsa-let-7a-2, let-7f-1	↓

Alcuni miRNA deputati al controllo di geni coinvolti nei processi relativi allo sviluppo, crescita e differenziazione cellulare hanno un'espressione diffusa nelle cellule dell'organismo, altri invece hanno un'espressione selettiva in alcuni tessuti ed organi. La deficienza di alcuni miRNA o la loro eccessiva espressione sono stati associati ad una serie di malattie clinicamente importanti che vanno dall'infarto del miocardio alle malattie

autoimmuni. In alcuni tumori umani è ormai ben documentato un profilo di espressione caratteristico in cui alcuni miRNA iper- o ipo-espressi agiscono da oncogeni regolando processi cellulari come la differenziazione, l'apoptosi o intervenendo nel differenziamento delle cellule endoteliali e perciò definendo quelli che sono i processi neo-angiogenetici responsabili dello sviluppo tumorale (15) (Tabella1). Tessuto cardiaco

e tessuto nervoso esprimono gruppi di miRNA molto specifici ed altamente espressi, e quando la loro regolazione viene a mancare sono associati a patologie come scompenso cardiaco, ipertrofia cardiaca ed aritmie o come nel caso del sistema nervoso centrale alla sindrome di Rett, la malattia di Alzheimer, la malattia di Huntington e la schizofrenia (16,17) (Tabella 2). Studi in vitro e nei modelli animali indicano che i miRNA svolgono un ruolo fondamentale nello sviluppo della risposta immunitaria sia innata che adattativa. Definiscono l'entità della risposta infiammatoria agendo a livello di proteine coinvolte nei segnali intracellulari che si innescano a seguito del riconoscimento del patogeno da parte dei Toll Like Receptor e vengono regolati negativamente in modo da far esprimere ad alti livelli proteine che codificano per specifiche citochine infiammatorie. I miRNA agiscono anche a livello delle cellule T helper mantenendo le CD4+ in uno stato "naive" fino a che lo stimolo sul TCR non sia sufficientemente intenso e sostenuto da sopprimere l'espressione degli stessi miRNA e consentire un'adeguata attivazione della cellula; la successiva differenziazione nei diversi fenotipi effettori è altrettanto determinata dall'espressione di alcuni ben noti miRNA che agiscono inibendo la differenziazione di un fenotipo a favore di un altro, sopprimendo fattori di trascrizione specifici (Figura 2). Regolando la soglia di attivazione ed i segnali a valle del TCR, sono poi in grado di favorire la proliferazione e la sopravvivenza di cellule T attivate (18).



NELL'INFIAMMAZIONE ALLERGICA

Ad oggi profili di espressione di miRNA sono stati identificati in pazienti con asma allergico (19), esofagite eosinofila (20), dermatite atopica (21) e rinite allergica (22). La maggior parte dei miRNA identificati hanno come target molecole che determinano l'incipit o il mantenimento dei processi allergici. Sembra che più miRNA agiscano in maniera coordinata su pathway comuni: la risposta polarizzata dei linfociti T helper può essere regolata da più miRNA che agiscono sui differenti componenti della via di polarizzazione T. Ad esempio il miR-21 e miR-146a sono iperespressi, ed i membri della famiglia let-7 sono ipoespressi in tutte le patologie allergiche analizzate fino ad oggi. In particolare miR-21 sembra promuovere il fenotipo Th2 e attenuare la risposta Th1, sopprimendo l'mRNA dell'interleuchina 12 (IL-12), molecola chiave coinvolta nella polarizzazione in senso Th1 (19,23); miR-21, infatti, è stato trovato più espresso nell'esofagite eosinofila, nella dermatite atopica e tale evidenza è stata confermata in diversi modelli murini di asma allergico, che hanno permesso di spiegare i meccanismi di azione del miRNA. Il miR-146a sembra invece favorire una risposta Th2 inducendo la soppressione dei linfociti Th1 da parte di cellule regolatori (Treg) ed inibendo un fattore di trascrizione inducente il fenotipo Th1 (STAT1) (24): la cute di pazienti con dermatite atopica e le biopsie mucosali di pazienti con esofagite eosinofila hanno mostrato livelli elevati di tale miRNA. Sorprendentemente

livelli elevati di quest'ultimo miRNA sono stati riscontrati anche nel plasma dei pazienti affetti da esofagite (20), aprendo la possibilità di utilizzare questo miRNA come biomarcatore non invasivo. Dal momento che let-7 ha come target l'interleuchina 13 (IL-13), la soppressione di questa famiglia di miRNA determina un aumento di tale citochina e quindi potenziamento della risposta Th2 (25). Poiché la risposta dei linfociti Th1 e Th2 è in continuo equilibrio, è chiaro

come la differente espressione di questi miRNA appena citati possano, agendo in sinergia, determinare l'inizio o il mantenimento di una risposta Th2 non controllata (Figura 3).

I miRNA COME BIOMARCATORI

Mentre la maggior parte dei miRNA si trovano all'interno della cellula, un numero significativo di miRNA sono sta-



Tabella 2

miRNA coinvolti nelle patologie umane

Patologia	miRNA coinvolti	Iper (↑) o (↓) ipoespressi
Ipertrofia cardiaca	miR-23a, miR-23b, miR-24, miR-195, miR-199a, and miR-214	↑
Sindrome di Down	miR-99a, let-7c, miR-125b-2, miR-155 and miR-802	↑
Alzheimer	miR-9, miR-128a, miR-125b	↑
Artrite reumatoide	miR-155, miR-146	↑
Lupus eritematoso sistemico	miR-189, miR-61, miR-78, miR-21, miR-142-3p, miR-342, miR-299-3p, miR-198 and miR-298	↑
Lupus eritematoso sistemico	miR-196a, miR-17-5p, miR-409-3p, miR-141, miR-383, miR-112, and miR-184	↓
Psoriasi	miR-203	↑



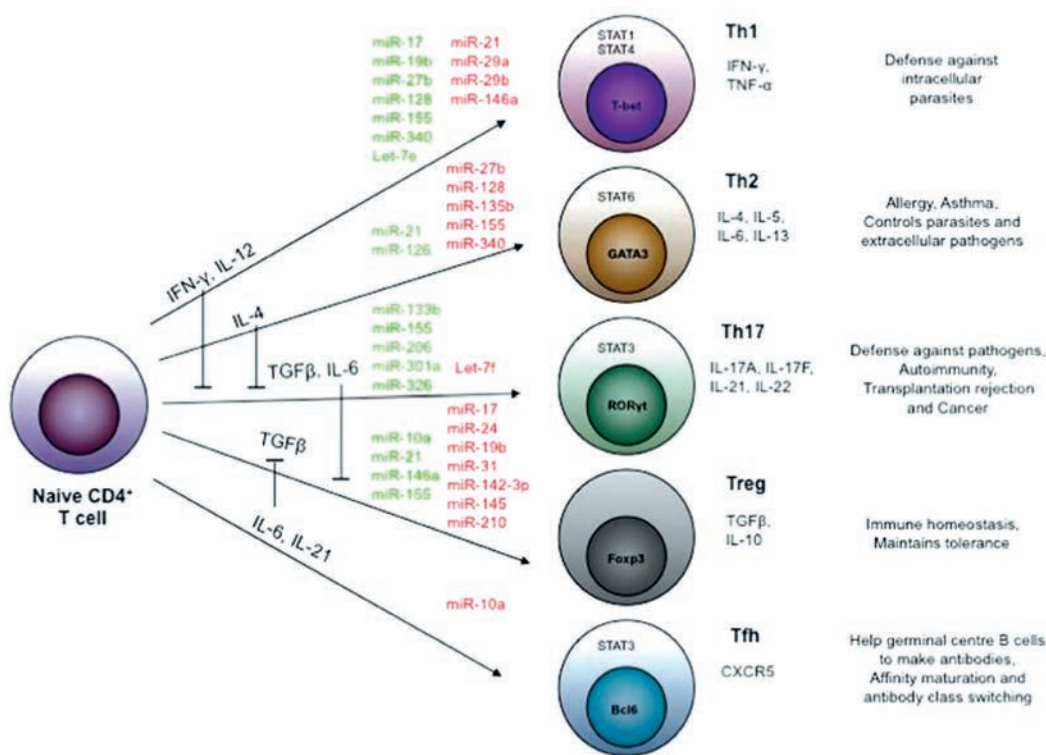
ti trovati in alcuni fluidi biologici (26). Questi miRNA sono stabili e mostrano un profilo di espressione specifica a seconda del fluido biologico preso in esame. Dal momento che il siero e gli altri fluidi biologici contengono ribonucleasi – enzimi che scindono l'RNA – è molto probabile che i miRNA siano protetti dalla degradazione grazie a vescicole lipidiche in cui sono veicolati o legati a

proteine. Nonostante crescenti evidenze indichino la presenza di miRNA nei fluidi biologici ancora poco si sa della loro funzione. Un'affascinante ipotesi suggerisce che siano mediatori tra cellula e cellula (27), secreti da una cellula, riconosciuti, catturati ed utilizzati da altre. E' stato osservato recentemente che miR-150 secreto in microvescicole da cellule del sangue, viene catturato dalle HMEC-

1 (microvascular endothelial cells) e regola l'espressione c-Myb, un suo noto target (28). Inoltre, Pegtel e collaboratori hanno dimostrato che i miRNA rilasciati in esosomi da cellule infettate dal virus di Epstein-Barr (EBV), possono essere presi dalle cellule mononucleate del sangue periferico e possono sopprimere geni bersaglio dell'EBV (29). Questi risultati sostengono fortemente che almeno alcu-

Figura 2

I miRNA controllano la differenziazione dei CD4+ T helper nelle diverse sottopopolazioni



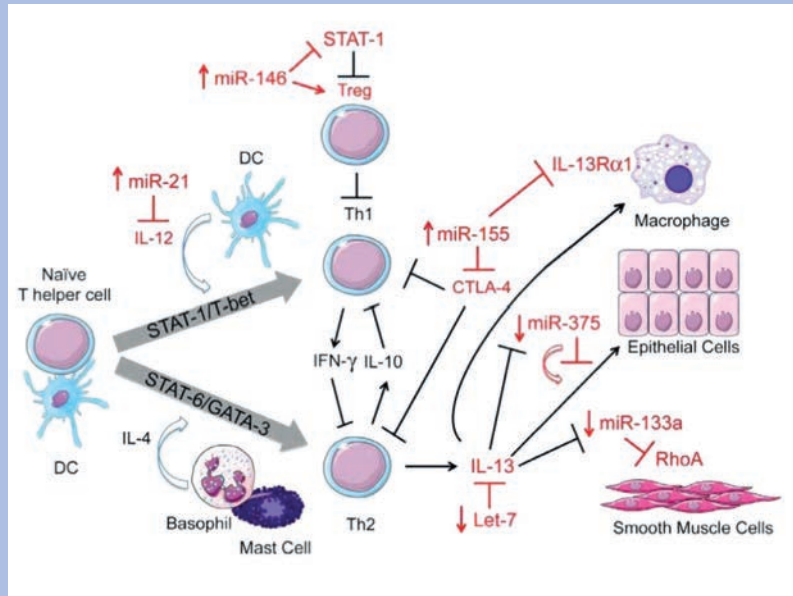


ni miRNA secreti vengono utilizzati per la comunicazione cellula-cellula, anche se è necessario altri studi per determinare come i miRNA siano specificamente selezionati per la secrezione, riconosciuti per l'internalizzazione, e quali informazioni possano essere trasmesse tramite questo processo. I miRNA secreti hanno molte delle caratteristiche necessarie per essere dei buoni biomarcatori: sono stabili nei fluidi corporei, le sequenze dei maggiori miRNA sono conservati tra le specie, l'espressione di alcuni miRNA è specifico per tessuti o stadi biologici, e il livello di miRNA può essere facilmente valutato mediante vari metodi, inclusi metodi come la PCR, che consente l'amplificazione del segnale. I cambiamenti dei livelli di alcuni miRNA nel plasma, siero, urine, saliva sono già stati associati con diverse malattie (30,32). Ad esempio, i livelli sierici di miR-141, sono stati utilizzati per discriminare i pazienti con carcinoma della prostata avanzato da individui sani (33), il rapporto di miR-126 e miR-182 in campioni di urine può essere utilizzato per rilevare il cancro della vescica (31), e la diminuzione dei livelli di miR-125a e miR-200a nella saliva è associata al carcinoma orale a cellule squamose (34). Oltre a questi usi potenziali nel rilevamento di vari tumori, un'altra possibilità interessante è l'uso di livelli di miRNA organo-specifici nei fluidi corporei per monitorare le condizioni fisiopatologiche organo-specifiche. Le scoperte ed i rapidi progressi in questi ultimi anni sui miRNA danno la speranza che i miRNA nel prossimo futuro, abbiano un grande potenziale nella diagnosi e nel trattamento di molte malattie.



Figura 3

I miRNA e i loro target nell'infiammazione allergica



Le cellule Th1 e Th2 vivono in uno stato di equilibrio e si inibiscono a vicenda la differenziazione. Il miR-21 inibisce IL-12 e, a sua volta, inibisce la differenziazione Th1. Il miR-146 promuove la soppressione Treg-mediata delle cellule Th1, probabilmente agendo su STAT-1. La soppressione della risposta Th1 promuove una risposta Th2 con la produzione di IL-13. La famiglia dei miR Let-7 inibisce la produzione di IL-13, perciò la sua soppressione amplifica ulteriormente la risposta Th2. Nelle cellule T helper, il miR-155 promuove sia la risposta Th1 che Th2 agendo negativamente sull'inibitore CTLA-4. Nei macrofagi, il miR-155 attenua la risposta IL-1-mediata sopprimendo il recettore alfa1 dell'IL-13 (IL-13Rα1). IL-13 inibisce l'espressione di miR-375 nelle cellule epiteliali, e miR-375 può sia potenziare che inibire le risposte IL-13-mediate nelle stesse cellule epiteliali. IL-13 inibisce il miR-133a in cellule muscolari lisce, e questo aumenta l'espressione della GTPasi RhoA che media la contrazione della muscolatura liscia.

I miRNA e i loro target diretti sono mostrati in rosso. DC, cellule dendritiche.



Bibliografia

1. Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R - Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *Plant Cell* 1990;2: 279-89.
2. Romano N, Macino G - Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol. Microbiol.* 1992;6: 3343-53.
3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V - The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-54.
4. Guo S, Kemphues KJ - *par-1*, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell* 1995; 81: 611-20.
5. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M et al. - The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-6.
6. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T - Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-8.
7. Lee Y, Jeon K, Lee JT et al. - MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J.* 2002; 21: 4663-70.
8. Lee Y, Ahn C, Han J et al. - The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-9.
9. Lund E, Guttinger S, Calado A et al. - Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303: 95-8.
10. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hanon GJ - Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 2001; 409: 363-6.
11. Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD - Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 2003; 115: 209-16.
12. Hutvagner G, Zamore PD - A microRNA in a multiple-turnover RNAi enzyme complex. *Science* 2002; 297: 2056-60.
13. Bartel DP - MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-97.
14. Ha TY - MicroRNAs in Human Diseases: From Cancer to Cardiovascular Disease. *Immune. Netw.* 2011; 11: 135-54.
15. O'Connell RM, Chaudhuri AA, Rao DS, Baltimore D - Inositol phosphatase SHIP1 is a primary target of miR-155. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 2009; 106: 7113-8.
16. Miller BH, Wahlestedt C - MicroRNA dysregulation in psychiatric disease. *Brain Res.* 2010; 1338: 89-99.
17. Small EM, Olson EN - Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature* 2011; 469: 336-42.
18. Baumjohann D, Ansel KM - MicroRNA regulation of the germinal center response. *Curr. Opin. Immunol.* 2014; 28: 6-11.
19. Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME - MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression. *J. Immunol.* 2009; 182: 4994-5002.
20. Lu TX, Sherrill JD, Wen T et al. - MicroRNA signature in patients with eosinophilic esophagitis, reversibility with glucocorticoids, and assessment as disease biomarkers. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 129: 1064-75.
21. Sonkoly E, Wei T, Janson PC et al. - MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? *PLoS. One.* 2007; 2: e610.
22. Shaoqing Y, Ruxin Z, Guojun L et al. - Microarray analysis of differentially expressed microRNAs in allergic rhinitis. *Am. J. Rhinol. Allergy* 2011; 25: e242-e246.
23. Lu TX, Hartner J, Lim EJ et al. - MicroRNA-21 limits in vivo immune response-mediated activation of the IL-12/IFN-gamma pathway, Th1 polarization, and the severity of delayed-type hypersensitivity. *J. Immunol.* 2011; 187: 3362-73.
24. Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A et al. - Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010; 142: 914-29.
25. Polikepahad S, Knight JM, Naghavi AO et al. - Proinflammatory role for *let-7* microRNAs in experimental asthma. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 30139-49.
26. Zen K, Zhang CY - Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med. Res. Rev.* 2012; 32: 326-48.
27. Wang K, Zhang S, Weber J et al. - Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38: 7248-59.
28. Zhang Y, Liu D, Chen X et al. - Secreted monocyte miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. *Mol. Cell* 2010; 39: 133-44.
29. Pegtel DM, van de Garde MD, Middeldorp JM. Viral miRNAs exploiting the endosomal-exosomal pathway for intercellular cross-talk and immune evasion. *Biochim. Biophys. Acta* 2011; 1809: 715-21.
30. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 2010; 127: 118-26.
31. Hanke M, Hoefig K, Merz H et al. - A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol. Oncol.* 2010; 28: 655-61.
32. Lodes MJ, Caraballo M, Suci D et al. - Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray. *PLoS. One.* 2009; 4: e6229.
33. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM et al. - Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 2008; 105: 10513-8.
34. Park NJ, Zhou H, Elashoff D et al. - Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15: 5473-7.



INTERVISTA

Dott.ssa
M. Beatrice Bilò



Update sulla allergia al veleno di Imenotteri

Update on Hymenoptera venom allergy

Not Allergol 2017; vol. 36: n. 1: 31-42.

a cura di Fabrizio Ottoboni

Cara Beatrice, questa estate è stata molto pesante per il caldo e per le continue punture di insetti. Io e molte altre persone abbiamo manifestato gonfiori, prurito e altre reazioni fastidiose. Quali sono gli insetti più pericolosi?

Sulla superficie terrestre sono presenti dai 3 ai 6 milioni di specie di insetti, molti dei quali possono indurre reazioni indesiderate, per lo più localizzate nella sede della puntura, le quali, come nel caso di tafani, pappataci e simuliidi, possono essere particolarmente fastidiose, ma in genere non a rischio per la vita. Fanno eccezione le reazioni da punture di imenotteri, che possono risultare particolarmente severe. In Europa e quindi in Italia gli imenotteri importanti dal punto di vista allergologico appartengono al sottordine degli Aculeati e sono essenzialmente rappresentati dalle famiglie degli Apidi e dei Vespidi (Figura 1 a pagina 35).

La famiglia Apidae comprende un ampio numero di insetti che si differenziano sia per aspetto che per abitudini; i più importanti sono l'*Apis mellifera* (ape) e il *Bombus* (bombo).

La famiglia Vespidae comprende le sot-

tofamiglie Vespinae e Polistinae, che si differenziano nel segmento che unisce il torace all'addome, di aspetto troncato nelle Vespinae, di forma arrotondata nelle Polistinae. Le Vespinae includono i generi *Vespula*, *Dolichovespula* e *Vespa*. Nell'ambito della *Vespula* (giallone), le specie più importanti in Europa sono *V. germanica*, *V. vulgaris* e *V. rufa*. Il genere *Vespula* si distingue da quello *Vespa* (calabrone) per le dimensioni inferiori e da quello *Dolichovespula* per la minore distanza tra gli occhi e per la mascella superiore.

Il genere *Dolichovespula* ha una diffusione più limitata e può essere assimilato dal punto di vista allergologico alla *Vespula*. Nell'ambito del genere *Vespa*, *V. crabro* è quella predominante in Europa. Le Polistinae si trovano in tutto il mondo; in Europa *Polistes gallicus*, *P. nimpha* e soprattutto *P. dominula* sono ampiamente rappresentati, soprattutto nelle aree Mediterranee.

Al di là della diversa morfologia, del diverso comportamento e delle diverse caratteristiche del nido, una distinzione importante tra api e vespe è legata al pungiglione. Il pungiglione delle api è seghettato, per cui nel momento della puntura

rimane infisso con il sacco velenifero nella cute; l'ape si eviscera nel tentativo di volare via e muore. I vespidi, invece, possiedono un pungiglione liscio, che possono estrarre dalla loro preda rimanendo indenni e quindi pungere più volte consecutivamente.

Sempre nell'ambito degli imenotteri, sono stati segnalati casi sporadici in Europa di reazioni allergiche alle formiche della famiglia Formicidae (*Formica rufa*) e della famiglia Myrmicidae (*Solenopsis invicta*), diffuse in particolare nel Nord e Centro America e in Australia.

Quest'anno ho sentito anche parlare della *Vespa velutina* che preda le api. Puoi dirmi qualcosa riguardo questa specie aliena?

La *Vespa velutina nigritorax* fa parte della sottofamiglia delle Vespinae e del genere *Vespa*. Nel 2005 è stata segnalata la sua presenza nel Sud della Francia, proveniente dal Sud Est Asiatico. In Italia il primo nido è stato ritrovato nel 2013 in Liguria; la sua presenza è stata segnalata anche in Piemonte ed Emilia Romagna. Può essere confusa con il nostro calabrone ma ha alcune sostanziali differenze: la *V. velu-*



Curriculum vitae

- Laurea in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Ancona nel 1986 con lode.
- Specializzazione in Allergologia ed Immunologia Clinica con lode presso l'Università di Roma nel 1990
- Specializzazione in Anestesia e Rianimazione presso l'Università di Ancona nel 1999
- Responsabile SOS per la Diagnosi e Terapia delle Malattie Allergiche non Respiratorie (farmaci, alimenti e veleno di imenotteri) - SOD Allergologia - Dipartimento di Medicina Interna, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ancona
- Segretaria del Sottocomitato dell'EAACI per l'Allergia al Veleno di Imenotteri (giugno 2003- giugno 2007)
- Chairman del Sottocomitato dell'EAACI per l'Allergia al Veleno di Imenotteri (luglio 2007 - giugno 2011)
- Membro dell'Executive Committee dell'EAACI in qualità di Rappresentante degli Interest Groups (luglio 2011 - giugno 2013)
- Member at Large dell'Executive Committee dell'EAACI: (luglio 2013 - giugno 2017)
- Membro dell'Executive Committee dell'EAACI in qualità di Chair del National Allergy Societies Committee (NASC) da luglio 2017
- Editore della Newsletter dell'EAACI da gennaio 2014
- Dal 2013 al 2016 Presidente AAIIITO (Associazione Allergologi Immunologi Clinici Ospedalieri e Territoriali)
- Coordinatore nazionale Campagna di Awareness sulla allergia al veleno di imenotteri "Punto nel Vivo"
- Dal 2002 Professore a contratto di Allergologia presso la Scuola di Specializzazione in Allergologia ed Immunologia Clinica dell'Università Politecnica delle Marche
- Abilitazione nazionale a Professore Associato dall'aprile 2017

tina è più piccola e più corta del calabrone, testa e torace della *V. velutina* sono prevalentemente neri rispetto al bruno rossastro del calabrone, il calabrone ha solamente i primi due tergiti scuri, mentre i rimanenti sono gialli con macchie scure. Un'altra differenza sostanziale fra le due è il luogo in cui nidificano: la *V. velutina* in primavera crea piccoli nidi, detti primari, a bassa altezza; successivamente, all'inizio dell'estate, la colonia crea il vero e proprio nido, generalmente sui rami degli alberi, anche ad oltre 10 metri d'altezza. Il calabrone invece costruisce i suoi nidi in ambienti chiusi, come cavità degli alberi, camini, intercape-

dini dei muri e soffitte.

La *V. velutina* è un temibile predatore delle api e ha causato in Francia la riduzione della produzione di miele di circa il 40%, con forti ripercussioni anche sull'attività di impollinazione delle api. Si ciba principalmente delle api che raccolgono il nettare per produrre il miele, al rientro verso l'alveare. Appostandosi in gruppo davanti alle arnie, queste vespe possono catturare anche 6 api al minuto, che diventano facilmente qualche centinaia in un giorno, compromettendo la stabilità della colonia di api. Le arnie sotto attacco frequentemente interrompono le attività di volo, per sfuggi-

re alla caccia, bloccando così l'apporto di cibo, il conseguente arresto della covata e potenzialmente la morte dell'alveare. Sono stati descritti alcuni casi di reazioni anafilattiche dopo puntura di *V. velutina* con riscontro di cross-reattività di grado variabile con altri vespidi.



Quali sono le più efficaci norme di prevenzione verso le punture di imenotteri?



A tutt'oggi non esistono studi scientifici sulle misure preventive più idonee per evitare le punture di insetti né norme di profilassi dettagliate. Pertanto il



buon senso e i consigli derivati dalla conoscenza di quanto è ormai acquisito sul comportamento degli insetti, soprattutto se messi per iscritto, costituiscono l'unico modo possibile per aiutare i pazienti allergici a ridurre al minimo il rischio di ripuntura. (tabella 1)

Quali sono le manifestazioni delle reazioni allergiche alla puntura di imenotteri?

 Le reazioni indesiderate da punture di imenotteri di interesse allergologico sono rappresentate fondamentalmente dalle reazioni locali estese e dalle reazioni sistemiche.

Le reazioni locali estese vengono definite tali in presenza di eritema ed edema in sede di puntura con diametro superiore a 8-10 cm e durata di almeno 24-48 ore, a volte possono estendersi ad una intera regione anatomica.

Le reazioni sistemiche, generalmente a patogenesi IgE-mediata, presentano una insorgenza rapida, entro pochi minuti dalla puntura, e possono variare da reazioni di tipo cutaneo (prurito, orticaria, angioedema) a reazioni anafilattiche. Vi è comune accordo nel definire clinicamente l'anafilassi come 1) una reazione grave e a rapida insorgenza che interessi, oltre all'apparato cutaneo-mucoso, quello respiratorio o cardiocircolatorio; 2) una reazione che coinvolga due o più organi (cutaneo, respiratorio, gastro-intestinale, cardio-circolatorio) e che compaia dopo esposizione ad un allergene sospetto; 3) reazione acuta, caratterizzata da sola ipotensione grave a seguito del contatto con allergene noto.

Esistono diverse classificazioni della gravità delle reazioni allergiche sistemiche da

allergia al veleno di imenotteri, nessuna delle quali tuttavia completamente soddisfacente.

I sintomi cutanei sono i più comuni (80%) e sono l'unica manifestazione nel 15% dei casi di reazioni sistemiche degli adulti. Quasi il 50% delle reazioni comprende sintomi respiratori (angioedema delle vie aeree superiori, broncospasmo). I sintomi e segni di ipotensione si verificano in oltre il 60% degli adulti, nella metà dei casi con perdita di coscienza. Non è raro che si verifichino dolori addominali e sintomi gastroenterici, nausea, vomito e diarrea e contrazioni a livello uterino.

Nei bambini le reazioni sistemiche sono in genere più lievi rispetto agli adulti interessando per lo più la cute e raramente l'apparato cardiocircolatorio. I sintomi cutanei costituiscono l'unica manifestazione clinica nel 60% dei casi.

Le reazioni più gravi possono determinare danni permanenti, come ischemia cerebrale o infarto del miocardio o addirittura essere fatali: autopsie effettuate su pazienti deceduti a seguito di puntura di imenottero mostrano una co-morbidità cardiopolmonare in più del 50% dei casi.

L'anafilassi bifasica, caratterizzata dalla ripresa dei sintomi anafilattici entro 4-24 ore dalla loro risoluzione senza una riesposizione all'agente eziologico, è una evenienza possibile anche se non comune.

Anche quest'anno ho letto sui giornali che alcune persone sono morte a seguito di punture di vespe e calabroni. Qual è la frequenza di questa allergia?

 Gli studi epidemiologici indicano una frequenza di reazione allergica

sistemica in Europa tra lo 0,3% e l'8,9%; nei bambini la prevalenza di reazioni sistemiche moderate-severe si posiziona su valori dello 0,15-2,5%. Per ciò che riguarda l'Italia, studi epidemiologici di tipo retrospettivo evidenziano una incidenza di reazioni sistemiche compresa tra lo 0,6 e il 4,4/100.000 abitanti/anno.

Secondo i dati del Registro Europeo sull'anafilassi, su 3333 casi diagnosticati, l'allergia al veleno di imenotteri è risultata la causa più frequente delle reazioni gravi nella popolazione adulta (48,2%) e la seconda causa più frequente delle reazioni gravi nell'età pediatrica (20,2%), dopo l'allergia alimentare.

Nel complesso l'incidenza della mortalità nei vari Paesi europei è compresa tra 0.03 casi per milione di abitanti all'anno riportati in Italia e 0.48 casi in Francia. In Italia dati ISTAT riferiti al periodo 1994-2003 riportano 94 decessi. I dati di mortalità sono generalmente sottostimati per la possibilità di erronea attribuzione ad altre cause, in particolare di tipo cardiaco.

Nonostante questi dati epidemiologici molto simili a quelli della allergia alimentare, perché l'allergia al veleno di imenotteri è meno conosciuta?

 Questa malattia allergica in effetti viene tenuta in minore considerazione; potrei azzardare una ipotesi riferibile al fatto che interessa di più le persone adulte-anziane, a differenza della allergia alimentare che è prevalente in età pediatrica e che quindi attira maggiormente l'attenzione dei mass-media. Anche recenti studi epidemiologici evidenziano la scarsa conoscenza di questa patologia, della possibilità



di disporre sia di una terapia farmacologica da utilizzare in fase acuta (adrenalina auto-iniettabile) che di un trattamento salva-vita in grado di modificare la storia naturale di questa allergia (immunoterapia specifica al veleno = VIT). Proprio per questi motivi dal 2015 è in corso una campagna di awareness (concentrata sulla primavera-estate) sulla allergia al veleno di imenotteri dal nome **“Punto nel Vivo”** che si propone di informare e sensibilizzare il pubblico sulla esistenza, prevenzione, diagnosi e cura delle reazioni allergiche da punture di imenotteri.



Parlami di questa innovativa campagna “Punto nel Vivo”.



Si tratta della prima campagna di sensibilizzazione sull'argomento realizzata non solo in Italia ma anche in Europa, promossa da un gruppo di esperti che fanno riferimento ai principali Centri Allergologici Italiani specializzati in questo settore e che ho l'onore di coordinare. In questi due anni la campagna **“Punto nel Vivo”** ha realizzato la prima pagina Facebook sull'argomento, canale di comunicazione fruibile da parte di tutto il pubblico, in continuo aggiornamento, dove le persone possono trovare informazioni semplici e pratiche per riconoscere gli imenotteri, distinguere una reazione normale da una reazione allergica, valutare la sua gravità, comprendere quando è necessario avere a disposizione la terapia di emergenza e quando è indicato iniziare l'immunoterapia specifica. Altre azioni e strumenti di comunicazioni attuati dalla campagna sono rappresentati dal posizionamento di flyer e poster in molti Pronti Soccorsi italiani, dalla realizzazione di rac-

comandazioni per i medici di Medicina Generale, dalla promozione di iniziative di informazioni sul territorio da parte degli esperti del Board **“Punto nel Vivo”**, dalla realizzazione del primo corso FAD dedicato al personale medico di Pronto Soccorso, dalla disponibilità in rete di informazioni relative ai Centri Allergologici italiani che si occupano di questa patologia. Infine abbiamo appena realizzato la prima Consensus Italiana avente per argomento **“Criteri pratici sulla gestione della allergia al veleno di imenotteri”**, documento rivolto non solo agli addetti ai lavori ma anche ai decisori delle politiche sanitarie.



Come ha risposto la classe politica?



La scarsa conoscenza infatti di questa allergia da parte della classe politica italiana e l'assenza di una programmazione sanitaria regionale hanno comportato da un lato una notevole differenza dei criteri di rimborsabilità della VIT e, di conseguenza, di pari opportunità di accesso alle cure per i pazienti allergici al veleno di imenotteri e dall'altro una penalizzazione dei giovani specialisti allergologi che non riescono a svolgere la professione per la quale si sono specializzati. Questa situazione è in piena contraddizione con quanto recentemente stabilito dai nuovi Livelli Essenziali di Assistenza (LEA 2016) sostitutivi del DPCM 29 Novembre 2001, che hanno riconosciuto allo specialista allergologo la peculiarità ed esclusività della maggior parte delle prestazioni, da sempre eseguite, come ad esempio la diagnostica e l'immunoterapia specifica nelle reazioni allergiche da punture di imenotteri.

Ci auguriamo che questo documento sia tenuto in considerazione dai decisori politici, pur sapendo che sarà tuttavia necessario proseguire la campagna di sensibilizzazione anche con altri mezzi.



Torniamo a noi, ci sono persone più a rischio di altre di diventare allergici al veleno di imenotteri?

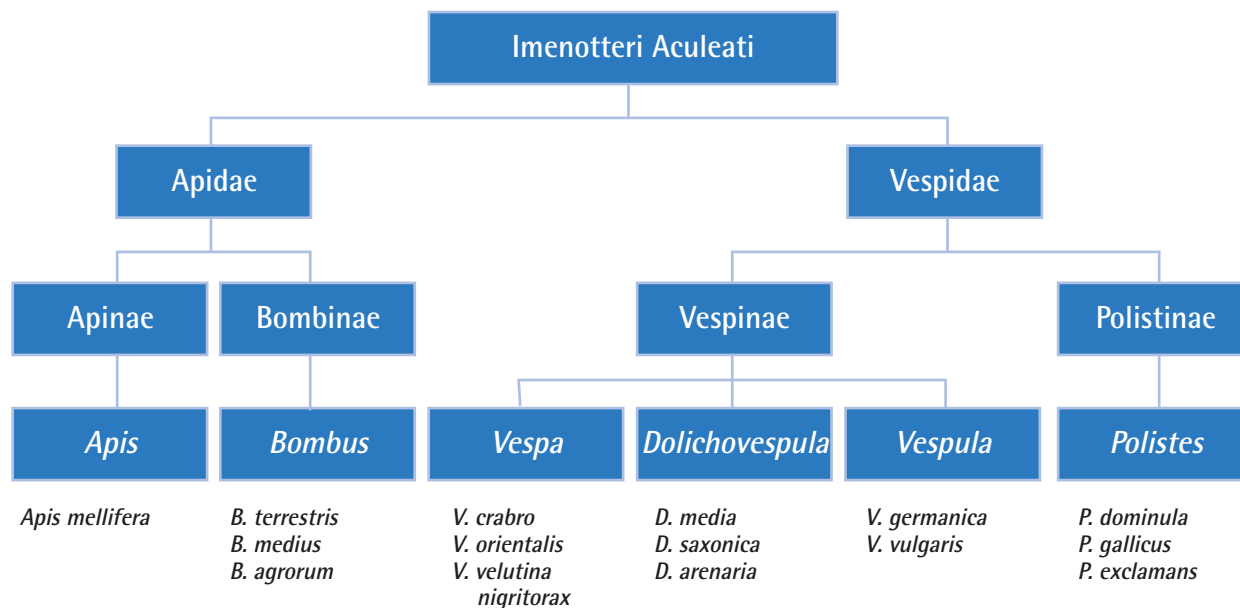


La risposta è affermativa dal momento che sono stati individuati alcuni fattori di rischio per comparsa di una reazione sistemica a seguito della puntura di imenotteri. Questa allergia privilegia infatti categorie particolarmente esposte come apicoltori, giardinieri e persone residenti in aree rurali e comunque tutti coloro che, per motivi lavorativi o hobbistici, svolgono attività all'aria aperta. Varie punture contemporanee possono sensibilizzare il soggetto ed essere seguite da una reazione sistemica anche per una singola puntura. Per gli apicoltori è dimostrato un aumento del rischio in coloro che ricevono <15-25 punture all'anno, mentre un numero elevato di punture (>200) comporta un effetto protettivo. A motivo di ciò, i familiari degli apicoltori e gli apicoltori hobbisti risultano più a rischio, rispetto ai professionisti. La presenza di atopia costituisce un fattore di rischio per gli apicoltori e i loro familiari, non per la popolazione generale, contrariamente a quanto si potrebbe pensare. Molti anni fa abbiamo dimostrato che un breve intervallo tra le punture rappresenta un ulteriore fattore di rischio per comparsa di una reazione sistemica: in particolare il rischio aumenta del 58% in caso di puntura nei due mesi precedenti, anche se tollerata. Infine il veleno di ape induce una sensibilizzazione più persistente nel tempo ed è un



Figura 1

Classificazione



fattore di rischio per lo sviluppo di reazioni sistemiche rispetto ai vespidi.

E' molto diffusa la convinzione sia nella popolazione generale che in medici non specialisti che, una volta che si è verificata una reazione allergica, la successiva tenda sempre ad essere più grave. E' vero?

In linea generale alle successive punture la reazione tende a manifestarsi con le stesse caratteristiche cliniche iniziali. In altri termini il rischio di presentare una reazione sistemica è influenzato dalla gravità delle reazioni precedenti: 5-15% per reazioni locali estese; 20% per reazioni

sistemiche lievi, 40-60% per reazioni sistemiche gravi.

Tuttavia sono stati individuati vari fattori che possono incidere sulla gravità della reazione successiva, come ad esempio l'età. Nei bambini il 60% delle reazioni sistemiche è lieve, negli adulti circa il 70% presenta sintomi respiratori o cardiocircolatori; gli anziani hanno un rischio maggiore di reazioni fatali verosimilmente in relazione alla presenza di patologie preesistenti cardiovascolari e respiratorie e alle terapie concomitanti (come betabloccanti e ACE inibitori). Per ciò che attiene la tipologia dell'insetto, nell'area Mediterranea il rischio di reazioni potenzialmente

fatali è circa tre volte superiore per il calabrone rispetto agli altri vespidi e all'ape. Secondo alcuni studi anche la sede della puntura può svolgere un suo ruolo: le punture al capo e collo sembrano associate ad un maggior rischio di reazioni fatali. Altri fattori importanti di rischio sono rappresentati dalla presenza di malattie dei mastociti e da livelli elevati di triptasi sierica. Viceversa, bassi livelli basali dell'enzima PAF-acetil-idrolasi (PAF-AH), si sono dimostrati significativamente correlati alla gravità della reazione anafilattica da puntura di imenotteri, ad indicare un substrato genetico predisponente il paziente a sviluppare reazioni allergiche più gravi. A



Tabella 1 Alcune raccomandazioni per prevenire le punture di imenotteri

- **Non camminare mai senza scarpe**, soprattutto sull'erba.
- **Evitare abiti ampi, con colori vivaci e disegni floreali**. I colori vivaci attraggono gli imenotteri e soprattutto le api.
- **In campagna evitare profumi, cosmetici profumati, deodoranti**. Anche i repellenti per le zanzare attraggono gli imenotteri.
- **Fare attenzione durante l'attività sportiva** in quanto il sudore attira gli insetti pungitori.
- **Evitare giardini fioriti, alberi da frutta, tronchi o rami di alberi caduti in terra** (spesso i vespidi fabbricano qui i loro nidi).
- **Tenersi lontano da alveari, soprattutto in caso di cattivo tempo**. Infatti le api nelle giornate piovose abbassano i "corridoi di volo" verso fonti di acqua o campi ove bottinare.
- **Indossare guanti e cappello per andare in bicicletta o in moto**. Controllare l'automobile prima di entrare e tenere i finestrini chiusi durante il viaggio.
- **Non compiere movimenti bruschi** quando si avvicinano api o vespe.
- **Le vespe possono trascorrere l'inverno dentro a guanti, stivali, cassetti o armadi tenuti in cantina o in garage**. Controllate il vestiario prima di indossarlo dopo l'inverno.
- **Non uccidere gli insetti senza una ragione**, ce ne possono essere altri nei paraggi. Ricordate che le api, ad esempio, durante la puntura emettono un "ferormone" che funge da richiamo d'allarme per altre api, che possono quindi giungere sul luogo ed attaccare il malcapitato.
- **Affidare a personale specializzato la bonifica** di eventuali alveari o nidi presenti in casa o nelle vicinanze. Tenere le finestre chiuse o inserire le zanzariere.
- **Gli alimenti attraggono le vespe**; evitare di cucinare o consumare cibi all'aperto; conservare ben chiusi i rifiuti ed evitare le aree adibite alla loro raccolta; le pattumiere dovranno essere sempre ben pulite e regolarmente irrorate, soprattutto sul bordo, con un insetticida.
- **Gli insetti adorano il profumo del cibo**, coprire quindi il cibo e fare attenzione alle bibite in lattina una volta aperte, per la possibilità che un'ape o una vespa vi siano entrate.

differenza del dosaggio della triptasi sierica, purtroppo questo esame non è ancora eseguibile nella normale routine ambulatoriale. Infine uno dei principali fattori di rischio per reazioni ad esito fatale è costituito dal mancato o tardivo uso di adrenalina.



A proposito di malattie dei mastociti, in questi ultimi anni esse sono state indicate come una patologia importante e non infrequente nei pazienti allergici al veleno di imenotteri. Di che cosa si tratta?



La mastocitosi è una malattia caratterizzata da una abnorme proliferazione e maturazione delle mastcellule in vari organi (in particolare cute, midollo osseo, fegato, milza, linfonodi), causata nella maggior parte dei casi da una mutazione puntiforme del gene che codifica per il recettore KIT, costitutivamente espresso dai mastociti. L'interazione tra KIT e il suo ligando, lo stem cell factor (SCF), svolge un ruolo chiave nella regolazione della proliferazione, maturazione, adesione, chemiotassi e sopravvivenza delle mastcellule. Questa mutazione fa sì che il recettore KIT possa essere attivato senza la presenza del ligando, causando proliferazione delle mastcellule e provocando una ampia varietà di forme cliniche, da quelle pauci-sintomatiche (mastocitosi cutanea, mastocitosi sistemica indolente) fino a forme di anafilassi fatale o a mastocitosi aggressive. L'anafilassi rappresenta la manifestazione clinica più severa della mastocitosi sistemica indolente (MSI), a volte ad evoluzione fatale.

L'associazione preferenziale tra mastocitosi e allergia al veleno di imenotteri è ormai ben nota e studiata. La prevalenza di allergia al veleno di imenotteri nei pazienti con disturbi mastocitari è di circa il 20-30%, a differenza della popolazione europea adulta dove è compresa tra lo 0,3% e l'8,9%. Analogamente, mentre la prevalenza della mastocitosi sistemica nella popolazione generale è notoriamente bassa, essa è significativamente superiore nei pazienti con allergia al veleno di imenotteri: 5-8%. La puntura d'imenottero è la causa più frequente di gravi reazioni allergiche nei pazienti adulti affetti da mastocitosi sistemica, riportata nel 19-53% dei casi.

La maggiore prevalenza di anafilassi da



imenotteri (50%) è stata osservata in pazienti con MSI e livelli di triptasi compresi tra 20,4 ng/L e 29,9 ng/L, mentre essa è al di sotto del 10% nei pazienti con mastocitosi e livelli di triptasi inferiori a 6,1 ng/L e superiori a 191 ng/L. L'anafilassi indotta da puntura di imenotteri è infatti rara nei pazienti con forme aggressive di mastocitosi, caratterizzata da una elevata presenza di mastociti.

Il Network Spagnolo sulla Mastocitosi (REMA) ha proposto, e poi validato, uno score prognostico (REMA score) in grado di individuare tra i pazienti con manifestazioni severe da mediatori mastocitari, tra cui l'anafilassi da imenotteri, quelli a maggior rischio di essere affetti da patologia clonale mastocitaria, in assenza di lesioni cutanee tipiche. Il REMA score si basa sui seguenti parametri, cui è stato associato un punteggio: sesso maschile, clinica dell'episodio caratterizzato dalla presenza d'ipotensione/sincope in assenza d'orticaria/angioedema e livelli basali di triptasi > 25 ng/ml. Uno score ≥ 2 ha un potere predittivo positivo dell'89%. Dal punto di vista pratico in un soggetto con anafilassi al veleno d'imenotteri e concentrazione plasmatica persistentemente elevata di triptasi basale e/o un REMA score ≥ 2 va sempre sospettata la presenza di mastocitosi; a maggior ragione in presenza di test allergologici su cute o siero negativi. Si raccomanda pertanto di eseguire di routine il dosaggio della triptasi basale e di applicare il REMA score durante la valutazione diagnostica di pazienti con reazioni sistemiche da puntura di imenotteri allo scopo di sospettare malattie dei mastociti ed avviare il paziente a centri specializzati per una corretta diagnosi.



Si può fare una diagnosi corretta? I test sono pericolosi?

Gli obiettivi della diagnosi, da eseguire in centri specializzati, sono rappresentati dalla classificazione del tipo di reazione, dalla conferma del meccanismo patogenetico allergico IgE-mediato e dalla identificazione dell'insetto pungitore. Pertanto la diagnosi si basa sulla storia clinica e sul risultato dei test in vivo e in vitro (dosaggio su siero di IgE specifiche). Dal momento che è possibile individuare una sensibilizzazione allergica a veleni nel 10-30% di soggetti con anamnesi negativa per reazione allergica, devono essere indagati solo i pazienti con anamnesi di pregressa reazione sistemica. I test cutanei rappresentano tuttora il gold standard della diagnostica e devono essere eseguiti almeno due settimane dopo la puntura, per escludere una falsa risposta negativa durante il periodo refrattario; in caso di negatività dei test e di anamnesi fortemente suggestiva per reazione allergica, essi devono essere ripetuti dopo 1-2 mesi. I test cutanei con veleni sono in genere sicuri, anche in pazienti affetti da mastocitosi, purché eseguiti da personale esperto e in ambiente idoneo. Le Linee Guida Europee e la Consensus di esperti italiani in attuale fase di pubblicazione forniscono tutte le informazioni pratiche necessarie ad eseguire correttamente la diagnostica in vivo. La presenza di IgE specifiche su siero è documentabile subito dopo la puntura, anche se il periodo ottimale per la loro determinazione è di 1-4 settimane dopo la puntura, consentendo a volte di individuare l'imenottero responsabile della reazione. La sensibilità dei test sierologici con utilizzo di estratti interi è in genere minore rispetto a quella dei test cu-

tanei ed è inferiore per *Vespula* spp. rispetto a veleno di ape. Tuttavia, un nuovo metodo arricchito di allergene ricombinante Ves v 5 ha evidenziato una maggiore sensibilità rispetto alle metodiche tradizionali.

Il più importante fattore che al momento attuale complica la diagnosi è rappresentato dalla presenza di positività multiple in pazienti punti da un singolo imenottero non riconosciuto. La doppia positività al veleno di *Apis mellifera* e di *Vespula* sp. si riscontra nel 25-40% dei casi e può essere dovuta a: 1. doppia sensibilizzazione; 2. cross-reattività tra epitopi presenti su comuni allergeni dei due veleni; 3. carboidrati cross-reattivi (CCD) presenti nei veleni e negli allergeni da inalazione (situazione più frequente). La disponibilità in commercio di numerosi allergeni maggiori dei veleni espressi in forma ricombinante e la possibilità di ricercare le IgE sieriche specifiche verso CCD (bromelina o MUXF3) consentono di eseguire una diagnosi basata sulle componenti molecolari (CRD) nella quasi totalità dei casi di doppia positività ape-vespa.

Tuttavia, nel sud Europa la doppia sensibilizzazione *Vespula*-*Polistes* è più frequente di quella *Ape*-*Vespula*. In questo caso l'attuale disponibilità di un solo allergene ricombinante del *Polistes dominulus* non consente in una considerevole percentuale di casi di eseguire una diagnosi precisa, rendendo necessaria la prescrizione di una doppia VIT, oppure, laddove disponibile, l'effettuazione di test aggiuntivi in vitro (CAP-inibizione e Test di Attivazione dei Basofili). Si tratta, questi ultimi, di test di laboratorio costosi e a volte con risultati difficili da interpretare, da eseguire in laboratori con elevata esperienza.



Quando si è allergici al veleno di imenotteri quali farmaci bisogna avere a disposizione?



Dipende dal tipo di reazione. Se la reazione è locale e molto estesa, il cortisone e l'antistaminico sono sufficienti. Ma se il paziente ha sviluppato una reazione sistemica, anche se lieve, deve essere munito di adrenalina auto-iniettabile. L'adrenalina, attualmente erogata dal SSN come farmaco in fascia H, rappresenta infatti il trattamento di scelta per l'anafilassi acuta sia nell'adulto che nel bambino, deve essere somministrata per via intramuscolare nel vasto laterale della coscia ed essere sempre seguita da una osservazione clinica in Pronto Soccorso. Tale farmaco deve essere prontamente somministrato in caso di shock anafilattico, poiché il raggiungimento di concentrazioni elevate nel plasma e nei tessuti rallenta la progressione dei sintomi e può prevenire lo sviluppo di reazioni fatali o bifasiche.

Tuttora permangono alcune false convinzioni che possono portare ad un trattamento ritardato dell'anafilassi, come il fatto che la reazione anafilattica sia sempre preceduta da sintomi lievi e che quindi c'è tempo per intervenire e che l'adrenalina sia sempre efficace anche se non somministrata con rapidità. In realtà non esiste la possibilità di prevedere la progressione di una reazione allergica, vari organi possono essere interessati contemporaneamente, l'assenza di sintomi cutanei non esclude l'insorgenza dell'anafilassi e quindi può contribuire a ritardare l'utilizzo della adrenalina.

Nonostante molti pazienti abbiano paura ad utilizzare l'adrenalina auto-iniettabile

per il timore degli effetti collaterali, ad eccezione della nota comparsa di tachicardia, tremori e vasocostrizione periferica, non vi sono report di eventi avversi significativi se il farmaco è stato utilizzato nei dosaggi e nella modalità corretta. Alcuni soggetti, come quelli con patologia cardiovascolare o cerebrovascolare, sono sicuramente a maggior rischio di effetti avversi; tuttavia, anche in questi pazienti, in caso di anafilassi il beneficio tratto dalla terapia con adrenalina è generalmente maggiore rispetto al rischio degli effetti indesiderati.

Secondo le nuove disposizioni EMA, agli operatori sanitari viene raccomandata la prescrizione di due auto-iniettori in tutti i pazienti, unitamente alla istruzione all'uso dell'auto-iniettore mediante materiale didattico e training pratico. In Italia solo alcune Regioni hanno recepito tali disposizioni; nelle restanti, gli specialisti applicano i suggerimenti delle recenti Linee Guida Europee ovvero la prescrizione di un doppio autoiniettore di adrenalina nei pazienti affetti da disordini mastocitari e/o elevati livelli di triptasi sierica, nei pazienti con anamnesi di reazioni anafilattiche molto gravi che hanno richiesto la somministrazione di più dosi di adrenalina o che non possano accedere rapidamente a strutture ospedaliere. Infine la prescrizione di due device di adrenalina dovrebbe essere presa in considerazione anche in soggetti obesi, per la possibilità che l'iniezione non raggiunga il muscolo e quindi sia meno efficace.



Quindi se si ha a disposizione l'adrenalina auto-iniettabile, si può stare tranquilli o è necessaria la VIT?



Direi che i soli farmaci non sono sufficienti. L'immunoterapia specifica per via iniettiva al momento attuale rappresenta l'unico presidio terapeutico in grado di prevenire efficacemente le reazioni allergiche sistemiche in caso di nuova puntura. Secondo i numerosi studi che hanno valutato la sua efficacia, sia con lo "sting challenge" sia con la "puntura sul campo" durante il trattamento, la protezione con veleno di vespidi è compresa tra 91-96%, mentre con veleno di ape tra il 77% e l'84%. Il motivo di tale discrepanza non è ancora del tutto chiaro; a parte il maggiore contenuto di veleno inoculato dall'ape rispetto alla vespa al momento della puntura, recenti studi di allergologia molecolare mettono in evidenza come allergeni rilevanti del veleno di ape possano essere scarsamente rappresentati in alcuni estratti per immunoterapia specifica.

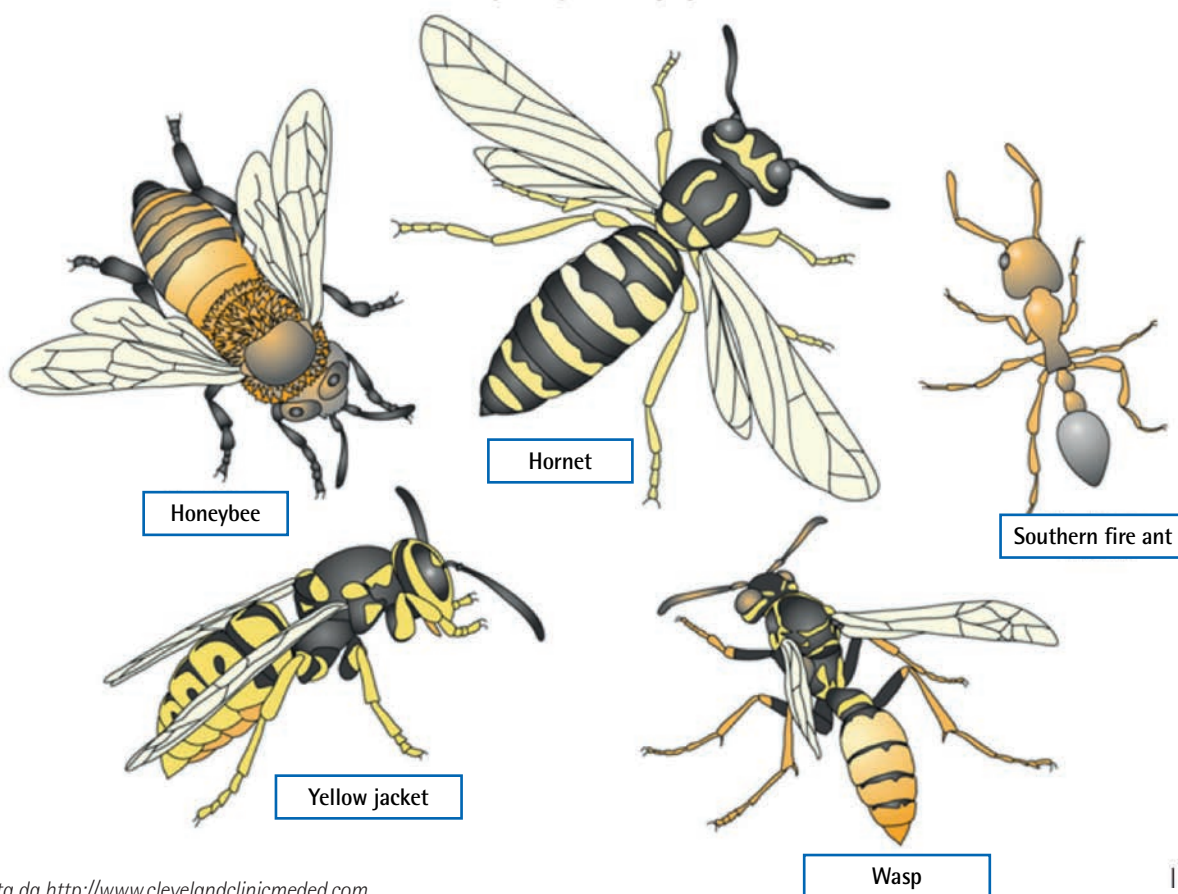
Per ciò che attiene i bambini, in linea generale, nei bambini la percentuale di insuccesso terapeutico della VIT sia in caso di allergia ai Vespidi che alle api è inferiore a quella dell'adulto.

La VIT è indicata sia in bambini sia in adulti che abbiano sviluppato una reazione sistemica che coinvolga altri apparati oltre a quello cutaneo, con documentata sensibilizzazione allergica IgE-mediata verso il veleno dell'imenottero responsabile. La VIT è indicata nei pazienti affetti da malattie dei mastociti, anche se la sensibilizzazione allergica è debole, fenomeno che si riscontra frequentemente in queste circostanze. La VIT può essere presa in considerazione anche nel caso di reazioni sistemiche cutanee ad elevato rischio espositivo e compromissione della qualità della vita.



Figura 2

Hymenoptera stinging insects



Tratta da <http://www.clevelandclinicmeded.com>

Nel corso degli anni sono stati proposti vari schemi di trattamento, allo scopo di migliorare la protezione, ridurre l'incidenza degli effetti collaterali e favorire l'aderenza del paziente. Pertanto la VIT può essere effettuata con metodiche classiche di tipo ambulatoriale, con schemi di trattamento "clustered" (caratterizzati da se-

dute settimanali durante le quali vengono somministrate più dosi) o con protocolli ad incremento rapido o ultra-rapido, che consentono di completare la fase di incremento in tempi variabili compresi tra poche ore ed alcuni giorni.

Il dosaggio di mantenimento abitualmente raccomandato è di 100 mcg di veleno,

corrispondente a circa due punture di ape e ad un numero maggiore di punture di vespa; tale dosaggio è indubbiamente più protettivo di quello di 50 mcg, raccomandato da alcuni Autori. Un dosaggio di 200 mcg può essere riservato ai pazienti non protetti dalla dose di 100 mcg e, secondo alcuni autori, agli apicoltori.



Quali sono le controindicazioni alla immunoterapia specifica con veleni?



Al momento attuale vengono considerate controindicazioni assolute la presenza di asma non controllata, di malattia autoimmune multi-organo in fase attiva, di infezione da HIV, di gravidanza (per ciò che attiene l'inizio della VIT, mentre una VIT già in corso e ben tollerata può essere proseguita durante la gravidanza).

La presenza di malattie cardiovascolari non è una controindicazione alla VIT dal momento che esse costituiscono un importante fattore di rischio in pazienti allergici al veleno degli imenotteri per gravità della anafilassi dopo una puntura. Il paziente cardiopatico è spesso in terapia con beta-bloccanti e ACE-inibitori. I beta-bloccanti possono ridurre l'efficacia dell'adrenalina in caso di reazione sistemica da puntura di imenotteri; tuttavia, il loro utilizzo non è controindicato in corso di VIT. Gli ACE-inibitori rappresentano un fattore di rischio per gravità della reazione in pazienti non trattati con VIT, ma non sembrano aumentare il rischio di reazioni sistemiche in corso di VIT. Secondo un recente studio costituirebbero un rischio per ridotta protezione della VIT al challenge con insetto; la loro sospensione pertanto resta a discrezione del clinico in base al rapporto rischio/beneficio.

Contrariamente a quanto si potrebbe pensare, la VIT deve essere presa in considerazione in soggetti adulti anziani, anche se hanno manifestato una reazione sistemica non grave, qualora siano presenti fattori di rischio per gravità della reazione alla successiva puntura, quali: coesistenti patologie vascolari, trattamento con ACE-inibitori e/o betabloccanti, quadri di BPCO grave. La

presenza di una neoplasia maligna rappresenta un fattore di rischio relativo alla VIT nei pazienti allergici al veleno degli imenotteri; pertanto può essere prescritta nel caso di elevato rischio di gravi reazioni alle punture successive.

Infine la VIT è oggi riconosciuta come un trattamento efficace anche nei pazienti allergici affetti da malattie dei mastociti, sebbene il tasso di protezione in questi pazienti sia ridotto secondo alcuni studi.



Puoi tranquillizzare i nostri lettori a proposito della "pericolosità" della VIT e sulla sua durata?



In linea generale si può dire che la VIT non è affatto una procedura pericolosa con il veleno di Vespidi, mentre una particolare attenzione va prestata al trattamento con veleno di ape. Infatti anche una recente revisione sistematica della letteratura ha confermato l'insorgenza di eventi avversi nel 14,2% dei pazienti trattati con veleno d'ape e nel 2,8% di quelli trattati con veleno di vespidi, con una maggiore percentuale nella fase di induzione rispetto a quella di mantenimento. Oltre al veleno di ape, sono stati individuati altri fattori di rischio per comparsa di reazioni sistemiche in corso di VIT: valori di trip-tasi basale elevati in pazienti allergici alle vespe, malattie clonali dei mastociti, protocolli rapidi ed ultra-rapidi. Non tutti gli autori tuttavia sono concordi nel ritenere pericolosi i protocolli rapidi con schemi rush di cinque giorni o ultra-rush di due-tre giorni, dimostrando un basso rischio di reazioni sistemiche e un grado di sicurezza paragonabile o addirittura migliore rispetto ai protocolli più lenti. Si suggerisce di essere cauti quando si applicano i vari protocolli

nella pratica clinica quotidiana, in quanto le reazioni sistemiche sono spesso imprevedibili e possibili anche senza la presenza di fattori di rischio.

Sono stati tentati diversi approcci allo scopo di minimizzare la possibilità di reazioni sistemiche in corso di VIT, come ad esempio il pre-trattamento con antistaminici e la somministrazione di veleni modificati; tali scelte vanno valutate in relazione alle caratteristiche del paziente da trattare. In ogni caso ha tutt'oggi non vi sono segnalazioni ufficiali di decessi in corso di VIT, verosimilmente in relazione al fatto che tale terapia viene eseguita in genere da personale specializzato e in ambiente idoneo.

La durata della VIT è stata sempre un argomento oggetto di dibattito. Allo stato attuale delle conoscenze la durata raccomandata della VIT è di 3-5 anni negli adulti e nei bambini, tenendo conto che un trattamento uguale o superiore a 5 anni fornisce una efficacia più prolungata dopo l'interruzione. Spesso è difficile decidere se sospendere o meno la VIT in assenza di ripuntura a conferma della protezione, dal momento che il paziente allergico al veleno di imenotteri prosegue con l'adozione di norme di profilassi ambientale anche nel corso della VIT. Per una migliore valutazione della interruzione della VIT è importante sapere che vi sono alcune condizioni nelle quali il rischio di relapse è elevato, come ad esempio la presenza di una reazione sistemica pre-VIT di particolare gravità, di allergia al veleno di ape, di malattie clonali dei mastociti, di reazione sistemica da VIT e di mancata protezione alla ripuntura in corso di VIT.

In ogni caso la decisione se sospendere o meno la VIT deve essere valutata con il



paziente stesso, sulla base di specifici fattori di rischio e anche della sua qualità di vita; non esiste al momento controindicazione alla effettuazione protratta nel tempo della VIT.

Oggi si parla molto di quanto le singole malattie incidano sulla qualità della vita. Il paziente allergico alle punture di imenotteri come vive la sua quotidianità?

Una reazione anafilattica da puntura di imenottero costituisce un evento traumatico per il paziente e per i familiari. Pertanto i pazienti tendono a sviluppare una sindrome ansioso-depressiva che li spinge ad adottare una serie di comportamenti di evitamento tali da compromettere in maniera significativa la qualità della vita, con condizionamento del carattere, della vita sociale e a volte dell'attività lavorativa. Nel caso dei bambini allergici agli imenotteri, la malattia può avere un impatto sulla qualità della vita dei loro genitori. Sono stati costruiti e validati questionari specifici, con i quali è stato possibile confermare che l'allergia al veleno degli imenotteri, indipendentemente dalla gravità della reazione, è in grado di incidere pesantemente sulla qualità della vita dei soggetti che ne soffrono o dei genitori nel caso di bambini allergici. E' stato anche dimostrato che l'uso della VIT si associa ad un significativo miglioramento della qualità della vita già dopo un anno dall'inizio e che soggetti che si sottopongono ad immunoterapia hanno una qualità di vita migliore se paragonati a quelli a cui viene fornita solo l'adrenalina auto-iniettabile, anche nel caso abbiano avuto una reazione sistemica di media gravità quale orticaria o

angioedema. Di tutto ciò bisogna quindi tener conto quando si deve scegliere se iniziare l'immunoterapia in chi ha avuto una reazione sistemica lieve.

E' noto che l'aderenza alla immunoterapia specifica è piuttosto bassa nel caso di allergie ad inalanti. La peculiarità di questa malattia allergica potrebbe influenzare positivamente l'aderenza al trattamento. Ci sono dati sull'argomento?

Recentemente abbiamo condotto uno studio che ha evidenziato percentuali di aderenza alla VIT nettamente superiori a quelle che si riscontrano nei pazienti con allergie respiratorie, ovvero del 95% a 3 anni e dell'84% a 5 anni di trattamento. Tra le motivazioni che possono spiegare questo dato abbiamo ipotizzato la peculiarità della allergia al veleno di imenotteri nel mantenere il paziente in un continuo stato di ansia per la paura della ripuntura, l'efficacia di un counseling pre-immunoterapia eseguito nella nostra Unità Operativa e l'utilizzo di un protocollo rapido effettuato in un ambiente rilassato

con più pazienti contemporaneamente e da personale specializzato. Non è escluso tuttavia che l'aderenza possa essere minore in condizioni diverse di gestione dei pazienti. Infine, anche l'allungamento progressivo dell'intervallo tra le somministrazioni in fase di mantenimento potrebbe giocare un ruolo favorente l'aderenza. Una volta raggiunto il dosaggio di mantenimento, gli intervalli tra le somministrazioni vanno mantenuti a 4 settimane nel primo anno, ma possono essere aumentati a 6-8 settimane negli anni successivi, senza alcun rischio di ridurre l'efficacia clinica della VIT, purché l'incremento di intervallo venga eseguito gradualmente. Secondo alcuni autori, dopo il 3° anno di VIT, l'intervallo tra le singole dosi può essere allungato progressivamente a 12 settimane senza che ne venga ridotta l'efficacia; l'allungamento degli intervalli tra le somministrazioni a 6 mesi è invece al momento sconsigliato perché potrebbe incidere sulla efficacia del trattamento.

Grazie Beatrice per aver con chiarezza incrementato la awareness mia e dei nostri Lettori.



Bibliografia

- Bilò MB, Bonifazi F - *The natural history and epidemiology of insect venom allergy: clinical implications* Clin Exp Allergy 2009;(39):1467-1476.
- Bilò MB et al. - *Self-medication of anaphylactic reactions due to Hymenoptera stings - an EAACI Task Force Consensus Statement*. Allergy 2016;71:931-43.
- Bilò MB - *Anaphylaxis caused by Hymenoptera stings: from epidemiology to treatment* Allergy 2011;66:35-37.
- Bilò BM et al. - *The EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of hymenoptera venom allergy*. Allergy. 2005;60:1339-49.
- Bilò MB et al. - *High adherence to hymenoptera venom subcutaneous immunotherapy over a 5-year follow-up: A real-life experience*. J Allergy



Bibliografia

Clin Immunol Pract 2016; 4:327-9.

- Bonadonna P et al. - Clonal mast cell disorders in patients with systemic reactions to Hymenoptera stings and increased serum tryptase levels. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:680-6.
- Bonadonna P et al. - Hymenoptera Allergy and Mast Cell Activation Syndromes. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016;16(1):5.
- Bonifazi F et al. - EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Prevention and treatment of hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice. *Allergy* 2005;60:1459-70.
- Boyle RJ et al. - Venom immunotherapy for preventing allergic reactions to insect stings. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;10:CD008838.
- Dhami S et al. - Allergen immunotherapy for insect venom allergy: a systematic review and meta-analysis *Clin Transl Allergy* 2016;6:6
- Ebo DG et al. - Component- resolved diagnosis of wasp (yellow jacket) venom allergy. *Clin Exp Allergy* 2013;43:255-61.
- Golden DB et al. - Joint Task Force on Practice Parameters; American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI); American College of Allergy, Asthma & Immunology (ACAAI); Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter update 2011. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 127:852-854.e1-23.
- Golden DBK - Insect allergy in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:289-293.
- Krishna MT et al. - British Society for Allergy and Clinical Immunology. Diagnosis and management of hymenoptera venom allergy: British Society for Allergy and Clinical Immunology (BSACI) guidelines. *Clin Exp Allergy* 2011;41:1201-20.
- Marone G et al. - Human heart as shock organ in anaphylaxis. *Allergo J Int* 2014;23:60-6.

• Matricardi PM et al. - EAACI Molecular Allergy User's Guide. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016;27 Suppl 23:1-250.

• Müller UR, Ring J - When can Immunotherapy for Insect Sting Allergy Be Stopped? *JACI Pract* 2015; 3: 324-8.

• Müller UR - Bee venom allergy in beekeepers and their family members. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:343-347.

• Muraro A et al. - EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Anaphylaxis: guidelines from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 2014;69:1026-45.

• Niedoszytko M et al. - Mastocytosis and insect venom allergy: diagnosis, safety and efficacy of venom immunotherapy. *Allergy* 2009;64:1237-45.

• Oude Elberink JO et al. - Venom immunotherapy improves health related quality of life in patients allergic to yellow jacket venom. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:174-182.

• Pitsios C et al. - Clinical contraindications to allergen immunotherapy: an EAACI position paper. *Allergy.* 2015;70(8):897-909.

• Ruëff F, Przybilla B, Bilò MB et al. - Predictors of severe systemic anaphylactic reactions in patients with Hymenoptera venom allergy: importance of baseline serum tryptase-a study of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:1047-1054.

• Ruëff F et al. and European Academy of Allergy and Clinical Immunology Interest Group - Predictors of side effects during the buildup phase of venom immunotherapy for Hymenoptera venom allergy: the importance of baseline serum tryptase. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:105-11.

• Ruëff F et al. - Clinical effectiveness of hyme-

noptera venom immunotherapy: a prospective observational multicenter study of the European academy of allergology and clinical immunology interest group on insect venom hypersensitivity. *PLoS One* 2013;8:e63233.

• Severino MG et al. - European Polistes venom allergy. *Allergy* 2006;61(7):860-3.

• Simioni L et al. - Efficacy of venom immunotherapy given every 3 or 4 months: a prospective comparison with the conventional regimen. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;110(1):51-4.

• Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB et al. - World Allergy Organization. World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: summary. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:587-93.

• Sturm GJ et al. - EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: Hymenoptera venom allergy. *Allergy.* 2017 Jul 27. doi: 10.1111/all.13262.

• Worm M et al. - First European data from the network of severe allergic reaction (NORA). *Allergy* 2014; 69:1397-1404.

Lofarma
è social

seguici su:





RECENSIONI

Allergia alla taumatina (E957)

Thaumatococcus and gum arabic allergy in chewing gum factory workers

Tschannen M. P. et al.

Am J Ind Med 2017;9999:1-6.

Negli ultimi anni, con il significativo progredire di malattie quali il diabete, l'iperlipidemia e altre malattie legate al consumo degli zuccheri, inclusa l'obesità, si sta assistendo ad una continua ricerca di dolcificanti con un più basso contenuto calorico di quelli tradizionali. Si è così scoperto che diverse specie di piante tropicali contengono componenti in grado di conferire all'alimento o alla bevanda, la percezione del dolce seppur usate in quantità che sono di gran lunga inferiori rispetto al saccarosio. Tra questi, la taumatina è una miscela di proteine estratte dal frutto (katemfe) di una pianta, *Thaumatococcus daniellii*, che cresce nella foresta pluviale dell'Africa occidentale; essa costituisce una delle sostanze più dolci della Terra, avendo un potere edulcorante 2000-3000 maggiore del saccarosio ma uno scarso apporto energetico a parità di quantità. Studi tossicologici sull'uomo hanno dimostrato la sua sicurezza ed il suo uso è stato approvato in diversi Paesi, in particolare in Europa è noto come additivo E957.

Cristalli di taumatina

La suddetta taumatina è caratterizzata da un effetto edulcorante prolungato, in grado di anche di mascherare il gusto amaro di altri prodotti e per queste ragioni è comunemente usata nell'industria alimentare. Per esempio la taumatina è uno degli additivi usati nella produzione del chewing gum. Si stima che nel mondo si producono 890.000.000 kg, di cui 150.000.000 in Europa, di questo prodotto.

Sebbene proteine omologhe della taumatina (le cosiddette thaumatin-like proteins (TLPs) siano state identificate come potenziali allergeni presenti in diverse specie vegetali (kiwi, mela, pesca, pomodoro...), nessuna segnalazione di sensibilizzazione o reazione allergica alla taumatina usata come dolcificante era nota in letteratura. Ricordiamo che la taumatina ha una funzione fisiologica rappresentando una difesa della pianta nei confronti di



infezioni batteriche.

In questo case report gli Autori descrivono una serie di casi di lavoratori di una industria di chewing gum che si sono sensibilizzati alla taumatina pura da *T. daniellii*. In particolare l'indagine ha riguardato 8 lavoratori regolarmente esposti ad una polvere composta da una miscela, 10% di taumatina e 90 % di gomma arabica. Essi sono stati sottoposti ad una valutazione dei sintomi, ad un esame rinologico e della funzione polmonare oltre che ad una serie di test allergologici.

Quattro di questi soggetti presentavano sintomi quali rinorrea, ostruzione nasale e starnutazioni correlabili all'ambiente di lavoro. Nessuno di loro manifestava sintomi orali o gastrointestinali masticando il chewing gum. Gli stessi soggetti presentavano uno skin prick test decisamente positivo alla taumatina pura. Due di questi risultavano però positivi anche al prick per la gomma arabica. La sensibilizzazione alla gomma arabica è però un fenomeno già noto in letteratura.

Gli Autori quindi concludono di aver documentato i primi casi di allergia occupazionale dovuta alla esposizione alla taumatina da *T. daniellii*. Gli stessi suggeriscono anche una misura preventiva da usare nell'ambiente di lavoro, visto che la sostituzione della polvere di taumatina con una forma liquida della stessa adottata nell'industria in questione ha comportato un significativo miglioramento dei sintomi dei soggetti sensibilizzati.

Purtroppo gli Autori non si sono posti il problema di valutare se i soggetti sensibilizzati alla taumatina da *Thaumatococcus daniellii*, tolleravano o meno l'assunzione di alimenti vegetali noti contenere la thaumatin-like protein.

G.M.



Vaccini anti-herpes zoster e allergia all' α -gal

Anaphylaxis after zooster vaccine: implicating alpha-gal allergy as a possible mechanism.

Stone CA Jr, Hemler JA, Commins SP et al.
J Allergy Clin Immunol. 2017;139(5):1710-1713.

L'allergia all' α -gal (galactose- α -1,3 galactose) sta emergendo negli Stati Uniti, in particolare nella zona Sud Est, come possibile causa dell'allergia alla carne rossa. La suddetta allergia attribuibile alla morsicatura di una particolare zecca (*Amblyomma americanum* o lone star), si manifesta con una anafilassi ritardata in seguito alla assunzione di carne rossa e in misura minore di gelatina. L'uso di componenti di origine animale e di gelatina, come eccipienti nella preparazione dei vaccini è molto comune. Recentemente si è ipotizzato che pazienti con allergia alla α -gal possano manifestare reazioni anafilattiche a seguito della somministrazioni di tali vaccini.

In questo lavoro gli autori descrivono il caso di una paziente, allergica alla carne rossa dal 2009, che vivendo in una zona rurale era frequentemente "morsa" dalla zecca Lone star. Nel 2014 la paziente manifestò, qualche minuto dopo la somministrazione di un vaccino attenuato anti virus Herpes zoster (Oka), una serie di sintomi allergici di notevole gravità per i quali si resero necessarie delle immediate cure di emergenza presso una Unità Ospedaliera.

Un mese dopo questo episodio, furono eseguite sul siero della paziente una serie di analisi che misero in evidenza una notevole positività all' α -gal (32.5 kU/L), alla carne di bue e di maiale (23,1 e 17,1 kU/L), oltre che alla gelatina di maiale, seppur di minore intensità (1.84 kU/L).

Sulla base di questo caso, gli autori decisero di sottoporre ad una revisione critica il "Vaccine Adverse Event Reporting System database", verificando il numero di reazioni avverse occorse lo stesso giorno a seguito della somministrazione del vaccino Oka.

Di 202 eventi avversi riportati, 14 furono riconosciuti come

reazioni anafilattiche. Cinque di questi pazienti risultavano positivi alla carne di bue e di maiale oltre che alla gelatina; in aggiunta 4 di questi pazienti provenivano dalla zona Sud Est del Paese.

Gli Autori riuscirono poi ad identificare 5 vaccini (Tab. 1 del lavoro) contenenti derivati di carne di bue o di maiale e/o di gelatina e quindi potenziali candidati ad esprimere l'allergene α -gal. Successivamente essi valutarono se il siero della paziente in esame e altri sieri di soggetti positivi all' α -gal, fossero in grado di riconoscere componenti dei suddetti vaccini. I sieri testati mostrarono una significativa positività IgE verso il vaccino anti zooster e verso il vaccino MMR (morbillo, parotite e rosolia). La conferma che l'IgE-binding fosse rivolto verso l' α -gal, si ebbe ripetendo il test e usando come inibitore la tireoglobulina bovina, nota essere una fonte ricca di epitopi α -gal.

Gli autori sottolineano che il caso descritto rappresenta la prima segnalazione di una anafilassi indotta da un vaccino, associata ad una allergia verso l' α -gal. E' molto probabile che anche la positività IgE verso la gelatina espressa dal siero del soggetto in esame, abbia giocato un ruolo nello scatenamento della reazione anafilattica osservata.

Sulla base di queste osservazioni, gli Autori concludono invitando coloro che operano nel settore della vaccinoterapia di prestare attenzione alla somministrazione dei vaccini anti-herpes zoster o MMR, anche a causa del loro contenuto in gelatina. Anche se l'anafilassi verso queste tipologie di vaccino sembra avere un livello probabilistico molto basso, le implicazioni negative che un simile evento potrebbero avere nell'opinione pubblica non sono affatto trascurabili.

G.M.

Table 1

Reported gelatin or mammal-derived product content of selected vaccines

Vaccine	Reported gelatin content of vaccine	Reported type of gelatin or animal-derived product
Zoster (Merck & Co, Whitehouse Station, NY)	15,580 μ g per 0.65-mL dose	Porcine gelatin, bovine calf serum
MMR (Merck & Co)	14,500 μ g per 0.5-mL dose	Bovine gelatin, bovine calf serum
Yellow fever (Sanofi Pasteur, Lyon, France)	7,500 μ g per 0.5-mL dose	Gelatin, type not reported
TDaP (GlaxoSmithKline, London, United Kingdom)	None	Bovine casein, bovine extract
TDaP (Sanofi Pasteur)	None	Bovine casein, bovine extract



Abbiamo chiesto a Ferruccio Di Donato, direttore del Centro Iperbarico di Bologna e da sempre appassionato di immersione subacquea e istruttore FIPSAS di subacquea e di apnea, di parlarci delle otiti esterne, un quadro patologico che ci interesserà particolarmente nella prossima stagione estiva.

Otiti esterne e prevenzione

Ferruccio Di Donato

Le infiammazioni e le infezioni del condotto uditivo esterno prendono il nome di otiti esterne e sono le patologie che più frequentemente colpiscono l'orecchio, rappresentando fino al 50% delle flogosi auricolari. Di norma, non comportano problemi gravi, ma sufficientemente fastidiosi e duraturi da rovinare la più sospirata delle vacanze subacquee. La sintomatologia delle otiti esterne è tipica: dolore all'orecchio, anche molto intenso, che peggiora con la masticazione e con lo stiramento dell'elice e la digitopressione del trago, prurito e secrezione dal condotto uditivo, ovattamento acustico, autofonia e ipoacusia trasmissiva. L'otite esterna si sviluppa quando nel condotto uditivo si viene a creare

un ambiente caldo umido che favorisce la macerazione della cute. Non stupisce, quindi, che questa affezione venga anche definita otite del nuotatore,

identificando chiaramente come la assidua frequentazione del mare o delle piscine favorisca l'insorgere dell'infezione. L'abbondante irrigazione del condotto uditivo, infatti, conduce alla rimozione del cerume, che ha funzione protettiva e lascia bagnato il condotto uditivo. Il subacqueo o il nuotatore, inoltre, presenta altri fattori di rischio, quando svolge la propria attività in località esotiche con clima caldo umido e si immerge in mari eutrofici o inquinati. Le otiti esterne sono per lo più dovute all'instaurarsi di infezioni, più frequentemente batteriche, da *Pseudomonas aeruginosa* o stafilococco, germi che fisiologicamente abitano la cute dell'uomo come saprofiti, ma che non perdono occasione per trasformarsi in una minaccia alla salute dell'ospite. Ingrati e pericolosi, questi germi sono quelli che più spesso sviluppano resistenza agli antibiotici, divenendo assai difficili da debellare. Meno frequenti,

ma pur sempre possibili le otiti esterne da virus e miceti, così come le forme miste. La terapia delle otiti esterne è per lo più topica locale, attuata con lavaggi con soluzioni antisettiche e con l'instillazione di preparati a base di antibiotici, antimicotici e cortisone. Nei casi più gravi la terapia antibiotica può essere sistemica.

Comunque, l'orecchio esterno, in condizioni di benessere, contrariamente a quanto si possa pensare, non necessita di particolari interventi per la propria igiene ma l'assidua frequentazione dell'ambiente subacqueo può richiedere l'adozione di alcuni particolari accorgimenti. Durante le vacanze subacquee, sono frequenti le irritazioni del condotto uditivo e la comparsa di fastidiosissime otiti esterne. Accade, infatti, che la continua irrigazione delle orecchie porti alla rimozione del cerume che fisiologicamente protegge i condotti uditivi, lubrificandoli e inibendo



l'attività batterica; la cute dei condotti, in tal modo, macera e il clima caldo dei luoghi dove normalmente si svolgono le vacanze blu concorre alla formazione di un ambiente ideale allo sviluppo di colonie batteriche. In questo contesto è, senza dubbio, opportuno che chi viene a contatto con l'acqua di mare o di piscina adotti dei provvedimenti per prevenire l'insorgenza dell'otite, prima di patirne i disagi. L'obiettivo primario delle manovre di igiene, dovrà essere quello di lavare via l'acqua di mare o di piscina presente nelle orecchie e mantenere per quanto possibile, asciutti i condotti uditivi. Pertanto, dopo ogni immersione, si potrà procedere al lavaggio delle orecchie con soluzione fisiologica o, semplicemente acqua pu-

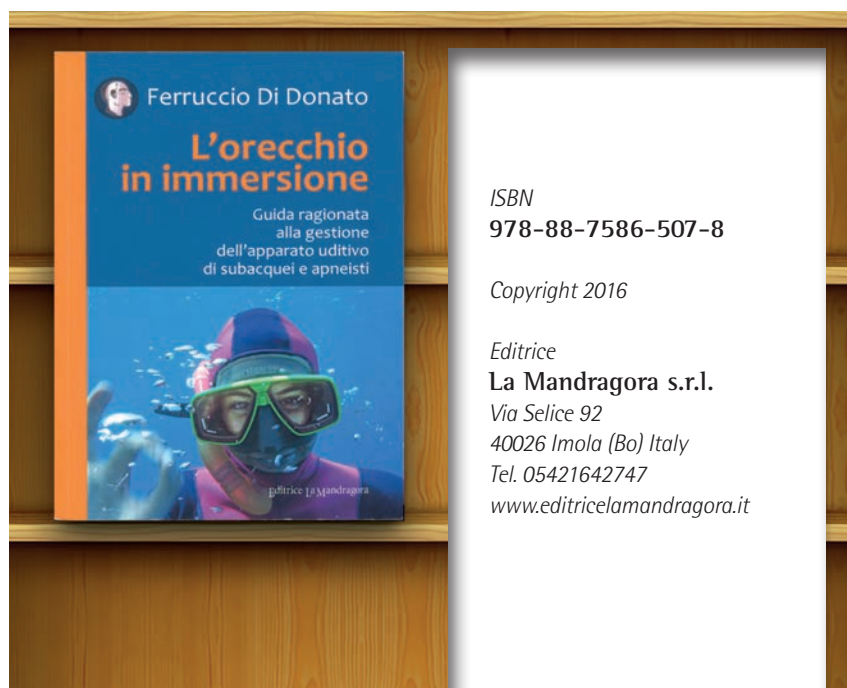
lita (quella minerale andrà benissimo) e successivamente, asciugare i padiglioni con un fazzoletto pulito, tentando di assorbire l'acqua presente nella parte più esterna del condotto con la punta del fazzoletto stesso (come fosse una carta assorbente). In soggetti particolarmente predisposti, potrebbe essere utile impiegare, a scopo preventivo, qualche goccia di preparati oleosi da inserire nei condotti uditivi prima delle immersioni o del bagno, per prevenire la macerazione della cute. A questo proposito, una recente novità è rivolta a chi soffre di questi disturbi provocati dall'acqua nelle orecchie... **Audiol**

Si tratta di una soluzione otologica che sarà accolta favorevolmente da pediatri, genitori e bambini che frequentano

mare e piscina e da chi svolge attività di immersione in mare o in piscina, in apnea o con respiratori. Questa soluzione è studiata per prevenire la presenza di acqua intrappolata nell'orecchio quando si è al mare, in piscina o sotto la doccia, che causa, molto spesso, disturbi che si manifestano con una sensazione di orecchio tappato associata a prurito.

Audiol, questo il nome del prodotto, è uno spray dall'azione preventiva che crea una barriera resistente all'acqua – che viene letteralmente fatta scivolare via – mediante l'erogazione nell'orecchio esterno di una miscela di olio di Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) e di olio di oliva. L'olio di Tea Tree è uno dei componenti funzionali di origine vegetale che ha dimostrato di possedere proprietà antibatteriche, antivirali, antinfiammatorie e un potenziale antinfiammatorio. Idratando la pelle del condotto uditivo riduce anche il prurito e l'eventuale irritazione, condizione che porta spesso i bambini infastiditi a toccarsi e a grattarsi con il rischio di provocare involontarie microlesioni, vie di accesso per i potenziali germi patogeni presenti sia nell'acqua delle piscine e del mare.

Quindi, a differenza dei numerosi prodotti disponibili sul mercato, **Audiol** è in grado di svolgere una doppia funzione: proteggere la parte esterna dell'orecchio e svolgere un'azione preventiva per quanto riguarda il rischio di infezioni. Lo spray predosato fornisce l'esatta dose efficace e l'attivatore per uso otologico è stato disegnato per adattarsi al condotto uditivo esterno. Inoltre, la pompetta ghierata impedisce l'ingres-



ISBN

978-88-7586-507-8

Copyright 2016

Editrice

La Mandragora s.r.l.

Via Selice 92

40026 Imola (Bo) Italy

Tel. 05421642747

www.editricelamandragora.it



so di particelle estranee e assicura così l'integrità del prodotto che, essendo di origine naturale, non crea nessuna sensibilizzazione e può essere usato tutte le volte che necessita.

Audiol è adatto a tutti, a partire da 1 anno di età, anche se è indubbio che tra i bambini troviamo un grandissimo numero di frequentatori delle piscine, soprattutto nel periodo scolastico. Per questo motivo è molto importante nutrire una particolare attenzione alla fascia pediatrica poiché individuare e prevenire il presentarsi di determinate problematiche nel bambino di oggi ci permette di evitare il conclamarsi di fenomeni cronici che porteranno a un peggioramento della qualità della vita nell'adulto di domani.


Lofarma
IN THE WORLD

Headquarters
ITALY

Affiliates

GERMANY
PORTUGAL
GREECE
HUNGARY
ALBANIA
KOREA
RUSSIA
MEXICO
SWITZERLAND





Contribuisce alla normale funzione del sistema immunitario e protegge le cellule dallo stress ossidativo nei soggetti esposti ad inquinanti ambientali, fumo attivo e passivo, alimentazione scorretta, stress emotivo, cattivo stile di vita, eccessiva esposizione a raggi solari.

MA COS'È LO STRESS OSSIDATIVO?

Il termine stress ossidativo identifica un'alterazione dell'equilibrio tra la formazione e l'eliminazione delle sostanze ossidanti fisiologicamente prodotte nel nostro organismo. Queste ultime, dette radicali liberi, possono formarsi in misura maggiore per diverse cause, ad esempio alimentazione scorretta, stress emotivo, cattivo stile di vita, eccessiva esposizione a raggi solari, fumo, inquinamento. In questi casi, oltre a un'alimentazione variata ed equilibrata ed uno stile di vita sano, è utile integrare la



HYPORAL PPA integratore alimentare

di vit. D, vit. E, zinco ed estratti vegetali

Leonardo Ladina



propria dieta con prodotti che contribuiscono alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo.

HYPORAL PPA è l'integratore alimentare che contribuisce alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo, perché contiene:

Estratto di broccolo (*Brassica oleracea* L)

ricco in sulforafano, che svolge un'azione antiossidante nell'organismo e favorisce la regolare funzionalità dell'apparato cardiovascolare.

Vitamina E

che contribuisce alla protezione delle cellule dallo stress ossidativo.

Zinco

che contribuisce alla normale funzione del sistema immunitario, alla normale funzione cognitiva e al mantenimento di una pelle normale.

Vitamina D

che contribuisce alla normale funzione del sistema immunitario e al mantenimento della normale funzione muscolare.

Estratto di Pepe nero (*Piper nigrum*)

ricco in piperina, che svolge un'azione antiossidante nell'organismo e favorisce la regolare funzionalità dell'apparato cardiovascolare.

HYPORAL PPA contiene inoltre **Quercetina** e **Resveratrolo**.

HYPORAL PPA è perfetto in ogni periodo dell'anno, indicato soprattutto nei cambi di stagione. Il prodotto è disponibile in una confezione da due blister da 15 compresse.

Prodotto acquistabile

- nelle migliori farmacie
- online su www.lofarma.it
- Servizio Clienti 02 581981

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

Anno 36, 2017 - Volume 35, n. 1

DIRETTORE RESPONSABILE
Gianni Mistrello

REDAZIONE
Fabrizio Ottoboni

PROGETTO GRAFICO
Maura Fattorini

Stampato da:
Ancora Arti Grafiche
via Benigno Crespi, 30 - 20159 Milano



AMMINISTRAZIONE E PUBBLICITÀ

Lofarma S.p.A.
Viale Cassala 40, 20143 - Milano
tel. +39 02 581981
fax +39 02 8322512
e-mail: redazione@lofarma.it
www.lofarma.it
www.lofarma.com

Registrazione Tribunale di Milano n. 306 dell' 1.8.1980
Pubblicazione Quadrimestrale

Il Notiziario Allergologico è on-line su
www.lofarma.it

In copertina:
Lens culinaris Medik, 1787

Questa spettacolare fioritura risale al 2007 sui piani carsici di Castelluccio di Norcia, all'interno del Parco Nazionale dei Monti Sibillini molto prima del terremoto che ha distrutto il bellissimo paese. La lenticchia è una pianta annuale della famiglia Fabaceae coltivata sin dall'antichità e il cui consumo viene confermato nell'Antico Testamento dall'episodio biblico di Esaù (Libro della Genesi 25,29-343). La Grotta di Franchthi in Grecia frequentata dall'uomo dal paleolitico al mesolitico presenta un quadro fedele della preagricoltura tra il 13000 e l'11000 a.C. e la lenticchia era già presente sulla tavola dei nostri antenati.



Fotografia di
Daniela Zelaschi Ottoboni

Istruzioni per gli autori

Il **Notiziario Allergologico** è una pubblicazione quadrimestrale di aggiornamento nel campo della Allergologia e delle discipline ad essa correlate, rivolta ai Medici ed ai Ricercatori. Il Notiziario Allergologico non pubblica articoli sperimentali, ma aggiornamenti e rassegne concordati tra la Redazione e gli Autori, sia per quanto riguarda i contenuti che la lunghezza. Il Comitato Scientifico partecipa al reperimento delle informazioni e controlla la correttezza scientifica della rivista; comunque le affermazioni e le opinioni espresse negli articoli sono quelle degli Autori e non esprimono necessariamente il parere del Comitato Scientifico o della Redazione.

- I **manoscritti** per la pubblicazione devono venire inviati tramite posta elettronica a: **redazione@lofarma.it**
Nei manoscritti, oltre al nome completo degli Autori, dovrà essere indicata l'affiliazione degli stessi e l'indirizzo postale dell'Autore al quale verranno inviate le bozze.
- Il **testo** dovrà essere in formato Word o analogo senza usare programmi di impaginazione specifici.
- Le **illustrazioni**, le fotografie e le tabelle dovranno essere salvate e inviate in files separati (JPG, TIFF, PDF).

RIASSUNTO E SUMMARY

Ogni articolo sarà preceduto da un riassunto breve (250 parole, 1700 caratteri spazi inclusi) e da un summary in inglese più ampio (450 parole, 3000 caratteri spazi inclusi).

- **Parole chiave:** la lista di 4-8 parole chiave deve mettere in evidenza gli argomenti più significativi trattati nel lavoro.

BIBLIOGRAFIA

La bibliografia verrà scritta in base alle indicazioni riportate di seguito:

- **Lavori comparsi in periodici:** cognome e iniziale del nome degli Autori, titolo del lavoro, titolo abbreviato del periodico, anno, numero del volume, pagina iniziale e finale.

Es: Holt PG - *Mucosal immunity in relation to the development of oral tolerance/sensitization.* Allergy 1998;4:16-19.

- **Monografie e i trattati:** cognome e iniziale del nome degli Autori, titolo, editore, luogo e anno di pubblicazione.

Es: Errigo E - *Malattie allergiche. Etiopatogenesi, diagnostica e terapia.* Lombardo Editore, Roma, 1994.

- **Lavori pubblicati come capitoli di volumi:** indicare cognome e iniziale dei nomi degli Autori, titolo del capitolo, titolo del volume in cui il lavoro è pubblicato, preceduto dall'indicazione del Curatore, e seguita da quella dell'Editore, luogo e anno di pubblicazione, pagina iniziale e finale del capitolo citato.

Es: Philips SP, Whisnant JP - *Hypertension and stroke.* In: Laragh JH, Brenner BM (Eds.) *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management.* 2nd ed., New York, Raven Press, 1995, p. 465-478.

La bibliografia verrà ordinata in ordine di citazione nel corso del testo e ogni citazione verrà contrassegnata da un numero progressivo di identificazione. In casi particolare, quando la bibliografia sia composta da riviste sintetiche, trattati, monografie e sia limitata a poche voci, non verrà citata nel testo ma raggruppata alla fine del lavoro sotto il titolo "Lettture consigliate". I titoli delle riviste dovranno essere abbreviati secondo le indicazioni del Cumulated Index Medicus.

CITAZIONI DI SPECIALITÀ

Ogni composto farmaceutico deve essere citato in base al suo nome chimico e/o alla sua denominazione comune internazionale, evitando di citare il nome del marchio. Quest'ultimo potrà essere indicato solo se inevitabile e con la lettera iniziale in maiuscolo.

ABBREVIAZIONI

Abbreviazioni e simboli usati, secondo gli standard indicati in Science 1954; 120: 1078.

Una volta definiti, essi possono venire usati come tali nel corso del testo.

BOZZE

Le prime bozze verranno inviate al primo Autore, a meno che non venga altrimenti indicato. Le seconde bozze verranno corrette in Redazione. Le bozze dovranno venire restituite nello spazio di sette giorni dalla data di arrivo, con l'approvazione dell'Autore.

Unità di misura Unit

conte per minuto	<i>counts per minute</i>	cpm
curie	<i>curie</i>	Ci
millicurie	<i>millicurie</i>	mCi
microcurie	<i>microcurie</i>	μC
chilogrammo	<i>kilogram</i>	Kg
grammo	<i>gram</i>	g
milligrammo	<i>milligram</i>	mg
microgrammo	<i>microgram</i>	μg
nanogrammo	<i>nanogram</i>	ng
picogrammo	<i>picogram</i>	pg
femtogrammo	<i>femtogram</i>	fg
litro	<i>litre</i>	L
millilitro	<i>millilitre</i>	mL
microlitro	<i>microlitre</i>	μL
nanolitro	<i>nanolitre</i>	nL
picolitro	<i>picolitre</i>	pL
chilometro	<i>kilometre</i>	Km
metro	<i>metre</i>	m
centimetro	<i>centimetre</i>	cm
millimetro	<i>millimetre</i>	mm
micrometro	<i>micrometre</i>	μm
nanometro	<i>nanometre</i>	nm
picometro	<i>picometre</i>	pm
Angstrom	<i>Angstrom</i>	Å
kilo Daltons	<i>kilo Daltons</i>	kDa
ora	<i>hour</i>	h
minuto primo	<i>minute</i>	min
minuto secondo	<i>second</i>	sec



Lofarma nel mondo



www.lofarma.it