

# **N**OTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

Anno 36 - 2017 • Volume 35, n. 2-3

**Potenziali bio-markers  
dell'ITS**

**Endocitosi  
del recettore FcεRI  
per le IgE**

**ITS per allergia  
LTP pesca**

**La sindrome  
LTP esiste?**

**Allergia/intolleranza  
al frumento**

**BPCO:  
aggiornamento (GOLD 2017)**

**INTERVISTA  
Progetto AllergicaMente**



## 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: *Pesco in fiore*



Fotografia  
Shutterstock

Il pesco è fortemente legato alla mitologia e al folclore del popolo orientale, soprattutto cinese. Nei racconti della mitologia cinese si narra di un palazzo appartenente alla Regina-Madre dell'Occidente, Hsi Wang Mu, situato nel centro della terra della terra e circondato da un magnifico giardino dove cresce l'albero di Pesco dell'Immortalità. Una delle prime citazioni venne trovata nel "Libro dei monti e dei mari", risalente al terzo millennio a.C.. Il questo libro viene descritto un enorme albero che nasconde tra i suoi rami la "Porta degli Spettri". Questa, protetta da custodi inflessibili, lasciano entrare solo chi è davvero meritevole di ottenere la vita eterna. In Cina, nel 1977, venne ritrovato il corpo della moglie del marchese di Tai, risalente al II secolo a.C.. Era ancora in perfette condizioni e vicino al suo corpo fu trovata una ciotola piena di pesche. I fiori di pesco assumono poi significati diversi nei vari Paesi. Nei Paesi Occidentali simboleggia il rinnovamento, la rinascita. Essendo uno dei primi alberi a fiorire dopo la lunga pausa invernale, assume anche il significato di ritorno alla vita. Nel linguaggio dei fiori il suo significato è invece legato a quello di amore eterno. I fiori di pesco appartengono alla categoria dei fiori rosa e sono stati celebrati da pittori (Souvenir de Mauve) un famoso dipinto di van Gogh che realizzò durante la sua permanenza ad Arles e da cantanti (come dimenticare il famoso brano di Battisti-Mogol, fiori rosa, fiori di pesco).

G. M.



## SOMMARIO

Notiziario Allergologico, Anno 36 - 2017 - Volume 35, n. 2-3

### EDITORIALE

50

Gianni Mistrello



### AGGIORNAMENTI

#### **Metodiche immunologiche per monitorare l'efficacia dell'ITS** 51

*Claudia Petrarca*

#### **Allergia, ipersensibilità e intolleranze al frumento** 60

*Marco De Carli*

#### **Focus su: Progetto Mondiale** 70

#### **Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO)**

*Gaspare Marino*

#### **Endocitosi del recettore ad alta affinità per le IgE sui mastociti: conseguenze funzionali** 78

*Mario Lecce, Rosa Molfetta, Rossella Paolini*

#### **Immunoterapia specifica in pazienti con allergia alla Lipid Transfer Protein (LTP) della pesca** 88

*Eleonora Nucera*

#### **La Sindrome da LTP esiste?** 94

*Roberto Bernardini*



### INTERVISTA

Gianni Mistrello

#### **Dr. Musarra: Perché è nato il progetto "AllergicaMente"?** 101



### RECENSIONI

Gianni Mistrello

#### **La vita agreste come difesa verso le malattie allergiche ?** 106

*Stein M.M, Vercelli D, Ober C et al*

#### **Pacemaker e dermatite da contatto** 108

*Perez Gonzales et al.*

#### **Galectin 3: è un bio-marker predittivo?** 109

*Riccio AM, Mauri P, De Ferrari L, Rossi R, Di Silvestre D, Benazzi L, Chiappori A, Dal Negro RW, Micheletto C, Canonica GW*



### LOFARMA NEWS

Gianni Mistrello

#### **Sintesi del processo di ricerca europeo Tollerant** 111



## EDITORIALE

a cura di  
Gianni Mistrello

Care lettrici e cari lettori, quando leggerete questo numero sarete tutti già tornati dalle vacanze che ci auguriamo serene e piacevoli. Con questo numero (che riunisce i numeri 2 e 3 del 2017) si chiude il 2017 e purtroppo sarà l'ultimo numero che ha visto il Dr. Fabrizio Ottoboni come responsabile di redazione del Notiziario Allergologico (Foto 1). Fabrizio aveva maturato da tempo il desiderio di volersi accomiatore dalla Lofarma per "raggiunti limiti di età". In altre parole ha deciso di andare in pensione per godersi il meritato riposo. Questa situazione mi ha indotto a qualche riflessione. Immagino che il pensionamento desiderato o temuto, costituisca in ogni caso un cambiamento radicale della propria vita. Alcuni possono vivere questa nuova condizione con un senso di tristezza e malinconia per la conclusione di una fase di vita vissuta. Per altri al contrario può diventare un'occasione preziosa per prendersi cura di se stessi, per mettere in atto progetti a cui prima non aveva potuto dedicarsi, per coltivare meglio i propri interessi, le proprie passioni. Quali interessi Fabrizio desidera coltivare da pensionato sono abbastanza chiari (Foto 2).

Per molti anni abbiamo collaborato con grande impegno per il successo della rivista, condividendo l'idea che una rivista come il Notiziario Allergologico si ponesse come obiettivo quello di contribuire al diffondersi della cultura scientifica allergologica presso la classe medica. Immodestamente abbiamo la convinzione che la rivista rappresenti, per il suo carattere divulgativo, un punto di riferimento importante, rendendo fruibile ad un rilevante numero di medici un'occasione aggiornamento scientifico in campo allergologico, questo grazie anche alla autorevolezza e alla competenza degli autori degli articoli pubblicati. Da queste pagine voglio quindi personalmente ringraziare Fabrizio per aver svolto il suo lavoro con impegno, professionalità, entusiasmo e verve, aiutandomi a monitorare nel tempo l'ev-



Foto 1: Fabrizio Ottoboni

Foto 2: Il pensionamento



luzione della Allergologia, con l'obiettivo di individuare gli argomenti di maggior interesse scientifico, nonché gli autori più competenti in grado di discuterne in maniera credibile. Termino il mio saluto a Fabrizio, rivolgendogli un augurio affettuoso di "un sereno, piacevole e prolungato proseguimento della sua vita di pensionato".

In questo numero che raggruppa nello stesso i numeri 2 e 3, vi presentiamo una serie di articoli che trattano argomenti diversi per cui è difficile individuare un filo conduttore. Iniziamo con un articolo della dottoressa Petrarca, ricercatrice dell'Università di Chieti-Pescara, che presenta una rassegna delle metodologie immunologiche ad oggi usate per monitorare gli effetti dell'ITS nel tentativo di individuare dei bio-marker predittivi dell'efficacia della stessa. Si prosegue con un articolo di De Carli della Struttura di Allergologia dell'Ulss 1 Dolomiti aggiornamento molto puntuale sulle reazioni avverse al frumento, siano esse dovute a reazioni IgE-mediate o non IgE-mediate, con una descrizione al contempo delle procedure diagnostiche disponibili in grado di permettere all'allergologo di identificarle. Il Gruppo di ricerca di Medicina Molecolare dell'Università Sapienza di Roma diretto dalla Professoressa Paolini, che ha concentrato la sua attenzione sul recettore ad alta affinità per le IgE (Fc $\epsilon$ RI) dei mastociti, ci presenta un articolo che illustra i risultati più recenti sui meccanismi molecolari che contribuiscono a modulare la risposta IgE dipendente, in particolare le conseguenze funzionali dell'endocitosi del recettore Fc $\epsilon$ RI sui mastociti con conseguente rilascio, da parte degli stessi una volta attivati, dei complessi recettoriali aggregati in nanovesicole (esosomi). Si ipotizza che questi esosomi possano agire a distanza rappresentando un sistema autocrino di amplificazione della risposta allergica. Si continua con un contributo del Professor Marino con un focus sulle linee guida GOLD 2017. Tale documento rappresenta una preziosa fonte di informazioni per gestire la terapia della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO),

una delle principali cause di morbilità e mortalità in tutto il mondo. Arriviamo ai due articoli conclusivi che apparentemente sembrano contraddirsi. In realtà hanno molti aspetti in comune. Il primo, della Dottoressa Nucera, dell'Unità Allergologica del Policlinico Gemelli di Roma, concentra la sua attenzione sulle "non specific lipid transfer proteins", nsLTPs, in particolare sulla nsLTP (Pru p3) della pesca e sul rischio per il soggetto sensibilizzato di andare incontro a reazioni gravi anche in caso di assunzione di alimenti diversi ma con elevato livello di omologia. Per contenere tale rischio il suddetto gruppo si è attivato per effettuare un primo trial clinico di immunoterapia con estratto di pesca titolato in Pru p3 e i risultati di questo studio sono stati sintetizzati nell'articolo che pubblichiamo. Il secondo, del Dottor Bernardini, Direttore della Struttura di Pediatria S. Giuseppe di Empoli, si chiede provocatoriamente se in realtà esiste la cosiddetta Sindrome da nsLTP. In particolare basandosi su una serie di esperienze cliniche avanza l'ipotesi che una positività all'nsLTP non sempre si associa alla comparsa di sintomi dopo ingestione dell'alimento che lo contiene, dipendendo questo dal livello di omologia tra le diverse nsLTP. In altre parole in pazienti con allergia ad un alimento confermato da un test cutaneo positivo e con presenza di nsLTP nell'alimento, non è consequenziale che gli stessi siano anche allergici comunque manifestino sintomi allergici ad altri alimenti o pollini che la contengano. E' pertanto fondamentale una valutazione personalizzata per il singolo paziente anche per evitare allo stesso l'impiego di diete inutilmente restrittive. Concludiamo il numero con l'intervista al Dr. Musarra e alla Dottoressa Billò, rispettivamente Presidente ed Ex Presidente AAIITO, ai quali abbiamo chiesto di illustrarci la loro ambiziosa e interessante iniziativa nota come progetto AllergicaMente.

Nel ringraziare tutti gli autori per il loro contributo, auguro a voi tutti una buona lettura con l'auspicio che il nuovo anno inizi e prosegua verso ciò che di meglio ognuno desidera per se stesso.



# Metodiche immunologiche per monitorare l'efficacia dell'ITS

Claudia Petrarca

*DMSI - Università di Chieti-Pescara  
U.O. Allergologia e Immunotossicologia,  
CeSIMEI, Chieti*

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3 : 52-60

**L**e nuove scoperte riguardanti la fisiopatologia delle malattie allergiche hanno portato allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici ed al miglioramento di quelli già in uso. Tra questi vi è l'immunoterapia con allergene (AIT) che è un trattamento immunomodulante in grado di indurre la tolleranza immunologica per le malattie allergiche mediate da IgE: la rinite allergica, l'asma allergica e la dermatite atopica. Sebbene questo approccio sia altamente efficace alcuni pazienti trattati non rispondono e, inoltre, il grado di remissione che è possibile ottenere con la AIT dipende da diversi fattori ancora non identificati. Per questo motivo è fondamentale individuare biomarcatori e sviluppare test analitici specifici che permettano di monitorare l'andamento della terapia, cioè che permettano di identificare precocemente i soggetti che potrebbero o meno rispondere, indicare la durata minima di trattamento per ottenere efficacia terapeutica, predire le ricadute sintomatiche e indicare quando eseguire un richiamo o un potenziamento della terapia. Inoltre, nei

pazienti responsivi, sarebbe utile di disporre di biomarcatori che indichino lo stato di tolleranza a lungo termine verso l'antigene al momento della conclusione di un ciclo/periodo terapeutico. Per l'individuazione di potenziali biomarcatori che possano guidare le decisioni mediche è necessario conoscere i meccanismi immunologici che sottendono la patologia e la effetti terapeutici positivi.

L'induzione di tolleranza indotta da AIT e la sua efficacia clinica sono state associate alla modificazione di diversi parametri immunologici cellulari e umorali, anche se finora non è stato possibile correlare causalmente tutti questi eventi tra loro in modo chiaro.

Tra le componenti del sistema immunitario che state analizzate in contesti sperimentali e clinici come potenziali biomarcatori predittivi ci sono: mastociti, basofili e eosinofili, le cellule linfoidi innate del gruppo II (ILC2), cellule T helper di tipo 2 (Th2); interleuchine IL-10, TGF- $\beta$ , IL-4, IFN- $\gamma$ , cellule dendritiche regolatorie (DCreg), cellule T regolatorie (T reg), cellule B-regolatorie (Breg), anticorpi IgG4 e immunoglobuline non-

IgE. Inoltre, il ruolo delle IgE specifiche come biomarcatore dell'efficacia della AIT è stato riesaminato recentemente (1). Sia per la componente cellulare che per quella umorale sono stati utilizzati sia metodi analitici ben validati che altri di più recente allestimento e non sempre applicabili alla pratica clinica.

## **Le Innate lymphoid cells 2 (ILC2)**

sono cellule morfologicamente simili ai linfociti a cui manca il riarrangiamento somatico dei recettori per l'antigene e quindi mancano di specificità per l'antigene. Questo e altri gruppi di ILC forniscono immunità verso le infezioni parassitarie, virali e batteriche ma possono anche avere un ruolo patogenetico nell'infiammazione allergica. Sotto l'influenza di mediatori prodotti dalle cellule epiteliali (IL-33, IL-25, TSLP, LTD4) le ILC2 possono secernere citochine Th2 (IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13) e così promuovere l'infiammazione allergica di tipo 2, oltre che promuovere la riparazione dei tessuti. Alti livelli di ILC2 (caratterizzate dal marcatore di superficie CD84) sono stati trovati nelle lesioni da



dermatite atopica. Inoltre, queste cellule sono risultate rapidamente aumentate nel sangue periferico di soggetti con rinite allergica test di provocazione nasale con l'allergene di gatto (2). Inoltre, le ILC2 (CD117+ o IL13+) aumentano nel sangue periferico in pazienti esposti naturalmente al polline di graminacee, ma non in quelli trattati con immunoterapia iniettiva (SCIT). E' da notare però che al di fuori della stagione di pollinazione la frequenza di queste due sottopopolazioni di ILC2 non è diversa tra allergici e non allergici e che un trattamento di 4 mesi con immunoterapia per via sublinguale (SLIT) non ha portato a riduzione della frequenza delle ILC2 (3). Viste le apparenti discrepanze nei risultati dei due studi (forse dovute a la fatto di essere state condotte in stagioni diverse), il ruolo delle ILC2 nella risposta clinica alla AIT non è chiaro e tali cellule non possono essere considerate al momento un biomarcatore di risposta efficace.

Alcune sottopopolazioni di **cellule dendritiche, DC2 e DCreg**, le quali sono coinvolte rispettivamente nel differenziamento delle cellule Th2 e delle cellule T regolatorie la cui abbondanza relativa è implicata nello sviluppo e mantenimento o meno della risposta allergica, si sono rivelate interessanti come indicatori di effetto della AIT. In un ampio studio che ha coinvolto 79 soggetti, Zimmer e colleghi hanno individuato, mediante un'estesa analisi genomica e proteomica, due marcatori C1Q e STAB1 che rappresentano la "firma molecolare" delle DCreg tollerogeniche, la cui upregolazione in DCreg derivate in vitro da monociti

isolati dal sangue periferico correla con l'efficacia della AIT nei pazienti trattati responsivi (4). Anche in un altro studio, basato sull'analisi citofluorimetrica, la variazione del livello di espressione di antigeni specifici di DC tollerogeniche (anche esse generate in vitro) è stata indotta dalla AIT in pazienti con rinite allergica. Più precisamente, dopo 2 e 4 mesi di trattamento, il cambiamento del livello di espressione di 5 marcatori molecolari dei quali 3 sulle DC2 (riduzione di CD141, GATA3, e RIPK4) e due delle Treg (aumento di C1QA e FcγRIIIA) correlava con il beneficio clinico della AIT e ha permesso la effettiva classificazione in pazienti responsivi e non responsivi, con una sensibilità del 91% e una specificità del 61.9% (5).

RIASSUNTO

Parole chiave e acronimi

- Allergia • Immunoterapia specifica • Immunità innata • Biomarcatori
- Interleuchine • MicroRNA
- CTLA, Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen • FACS, Fluorescence activated cell sorting
- GATA, Transcription factor binding to the DNA sequence • IGF, Insulin growth factor
- RIPK, Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1 • STAB, Stabilin
- STAT, Signal transducer and activator of transcription • TGF, Tumour growth factor
- TSLP, Thymic Stromal Lymphopoietin

*I principali effetti immunologici che scaturiscono dall'immunoterapia con allergene (AIT) sono limitati alla induzione di anticorpi bloccanti e allo spostamento Th2-Th1 della risposta cellulare e all'induzione delle cellule T regolatorie. Questi e molti altri cambiamenti che sono stati descritti potrebbero contribuire all'attenuazione dei sintomi e costituire dei segnali anticipati di risposta efficace o di non risposta alla terapia. In questo articolo sono riassunte le principali metodologie di analisi più attuali e presi in esame i relativi biomarcatori determinati che, una volta validati in trials con end-point clinici altamente standardizzati, potrebbero chiarire i meccanismi immunologici della AIT e costituire end-point surrogati per monitorare, e possibilmente anticipare, gli effetti a breve e a lungo-termine della AIT.*

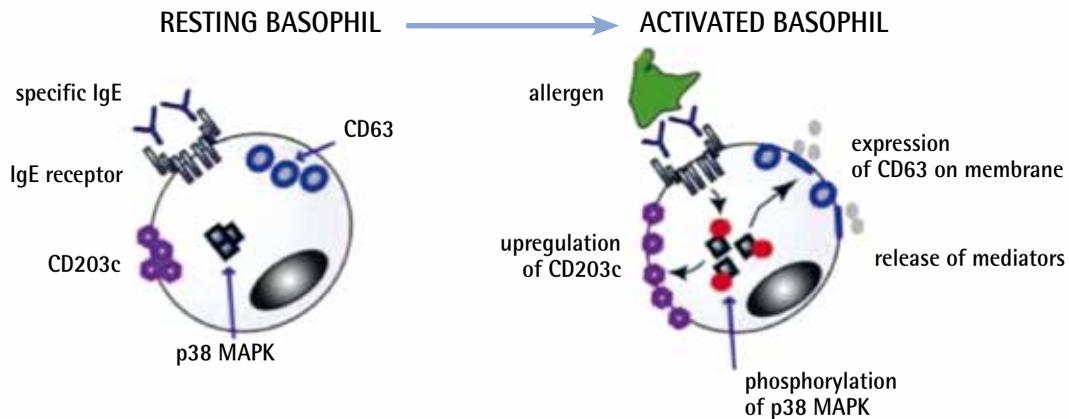
**I linfociti B regolatori (Breg)**

sono una sottopopolazione di cellule B CD19+ che producono IL-10 e hanno la capacità di sopprimere l'azione pro-infiammatoria di cellule T e B effettrici. Le cellule Breg promuovono la tolleranza immunologica attraverso la produzione di tre citochine: IL-10, IL-35 e TGF-β. La AIT è in grado di indurre una sottopopolazione di cellule Breg (CD25+CD71+CD73-) che produce IL-10 in grado di inibire la proliferazione di cellule T CD4+ antigene-specifiche e produrre anticorpi anti-infiammatori IgG4 (6). Cellule con questo immunofenotipo sono state purificate in soggetti tolleranti al veleno di imenotteri e hanno dimostrato in vitro di essere in grado di sopprimere la proliferazione antigene-di-



Figura 1

Marcatori di attivazione dei basofili



Cramhecke JL et al. *Curr Allergy Asthma Rep* 2014;14:408

Hausmann OV et al. *Immunol Allergy Clin N Am* 2009; 555-66

modificato da: (8)

pendente di PBMC. Inoltre, nello stesso studio, cellule Breg specifiche per la fosfolipasi A2 e produttori IL-10 sono risultate aumentate in seguito a AIT con veleno di imenottero. Anche questi dati sono stati ottenuti mediante analisi FACS.

### I basofili

rappresentano <1% dei leucociti umani nel sangue periferico. Essi contengono granuli di secrezione citoplasmatici citoplasmatici, fatti di proteoglicani e istamina. I basofili esprimono il recettore FcεRI, che può essere legato da IgE specifiche per l'allergene dopo l'esposizione all'allergene, e risultando nella degranulazione con rilascio di istamina, leucotrieni ed altri mediatori dell'infiammazione al-

lergica. Il CD63 (una proteina che è legata ai granuli) è tipicamente espressa sulla superficie dei basofili stimolati ed attivati dall'allergene nel sangue intero, mentre CD203c è espresso sulla membrana di tutti i basofili a prescindere dal loro stato di attivazione. CD63 e CD203c sono complementari per stabilire lo stato di attivazione dei basofili.

I basofili possiedono anche altre varie proteine di membrana che sono espresse quando vengono attivate, come CD13, CD107a e CD164. Inoltre, l'istamina può essere individuata nel fluido di lavaggio broncoalveolare da pazienti con asma allergico e nel plasma dei pazienti di dermatite atopica. Più recentemente, l'espressione intracellulare di **diamino**

**ossidasi (DAO)**, identificabile mediante marcatura con fluorocromo, è stata indicata come potenziale biomarcatore di efficacia e tolleranza dopo AIT(7). (Figura 1) In uno studio clinico di AIT, l'attivazione dei basofili indotta da polline di graminacee è risultata elevata in pazienti con rinite allergica stagionale (SAR) e diminuita in individui trattati con AIT iniettiva (SCIT) o sublinguale (SLIT). La riduzione della reattività e rilascio di istamina misurata come DAO mediante citofluorimetria era associata a ridotti sintomi e numero di medicazioni salvavita (7).

### I microRNA (miR)

sono piccole sequenze di RNA (18-22 nucleotidi) non-codificanti che costitu-





potrebbero agire come interruttori molecolari per resettare il profilo proteico delle cellule in risposta a stimoli esterni nell'infiammazione allergica. Altri microRNA riconoscono geni di mediatori del sistema immunitario come IL-13, IL-13Ra, CTLA-4, STAT-1, e modulano la funzione di varie cellule immunitarie come cellule T, cellule dendritiche e macrofagi [9] (Figura 2).

Per quanto appena descritto, anche **Panalis del miRnoma** (cioè della modulazione dell'insieme di tutti i miR noti ad oggi, circa 2000) mediante piattaforme strumentali dedicate e dotate di software per l'analisi biostatistica dei dati, potrebbe a breve costituire uno strumento analitico di immunologia molecolare per l'identificazione di endpoint surrogati per predire l'efficacia clinica della AIT (e di altre terapie).

In effetti, studi recenti suggeriscono che i microRNA possano essere utili nel monitoraggio della AIT: in pazienti adulti nella fase built-up della immunoterapia con veleno di imenotteri alcuni di essi vanno incontro a cambiamenti pre- post-AIT del livello di espressione, nel senso di una riduzione di quelli coinvolti nell'infiammazione allergica e dell'aumento di quelli con una funzione pro-tollerogenica (10); in pazienti in età pediatrica con rinite allergica verso gli acari della polvere di casa e trattati con immunoterapia con allergene (SLIT o SCIT) e valutati a 3 mesi, il livello di espressione di miR-146a è risultato aumentato e correlato all'aumento di altri parametri immunologici come aumento del livello di espressione di FOXP3, IL-10 e riduzione di IL-5 e TRAF-6 (11).

Molte osservazioni sperimentali e cliniche suggeriscono che **le cellule Treg** abbiano un ruolo importante nel controllo dell'allergia. La AIT può dirigere la risposta immunitaria verso l'induzione di cellule Treg con conseguente aumento della produzione delle citochine inibitorie IL-10 e TGF- $\beta$ , prodotte da queste cellule, e la soppressione delle IgE (12). Nel corso della AIT, il numero di cellule della memoria di tipo Th2 si riduce in concomitanza con l'aumento delle cellule Treg e di quelle Th1 (13). Le cellule Treg possono essere indotte dall'esposizione naturale ad alte dosi di allergene, come si verifica per gli apicoltori che possono essere punti più volte, che inducono tolleranza mediata da IL-10 e da aumentati livelli di IgG4 antigene-specifici (14). Inoltre, è stato dimostrato che cellule Treg FOXP3+IL-10+ aumentano nella mucosa nasale di pazienti sottoposti a AIT (15). IL-10 ha un ruolo importante nel controllo dell'allergia mediante soppressione dell'infiammazione allergica e induzione di cellule Treg. Il bilanciamento tra sottopopolazioni di cellule T allergene-specifiche potrebbe essere influenzata dalla AIT, come suggerito dal fatto che in pazienti atopici la frequenza delle cellule Treg nel sangue periferico è scarsa, ma aumenta in pazienti trattati con AIT. Quindi, le Treg sembrano avere un ruolo fondamentale nell'induzione di tolleranza nella AIT sopprimendo la risposta allergica Th2 e inducendo lo stato di tolleranza Th1.

Recentemente, è stata possibile una caratterizzazione immunofenotipica più fine di queste cellule grazie all'identifi-

cazione di nuovi marcatori sulla loro superficie. In particolare, la ridotta o nulla espressione sulla superficie del CD127 correla direttamente con alti livelli di espressione del marcatore intracellulare e fattore di trascrizione specifico delle Treg, FOXP3. Questa scoperta ha permesso di superare l'ostacolo tecnico della marcatura intracitoplasmatica, che può determinare un aumento del segnale fluorescente aspecifico, e ha semplificato il protocollo di marcatura. Ciò è particolarmente utile quando sia necessario criocorserare il materiale da utilizzare per l'analisi per necessità tecniche e per permettere l'analisi simultanea (e quindi meno influenzata da variazioni inter-assay) di campioni di monociti da sangue periferico (PBMC) che sono stati prelevati in tempi diversi, come nel caso di campioni pre- post-terapia.

In base ai risultati delle prime analisi in citofluorimetria multiparametrica di alcuni campioni di PBMC di pazienti pediatrici pre- e post-AIT risulta che la frequenza delle cellule T reg (CD4+CD25+CD127-CD39+) effettrici (/CD45RA-HLA-DR-) ed effettrici terminali (/CD45RA-HLA-DR+) aumenta nel corso della terapia e parallelamente diminuiscono le Treg naive (/CD45RA+HLA-DR-). È interessante notare che piuttosto che un aumento della percentuale delle T reg totali si verifica una redistribuzione delle varie sottopopolazioni. I dati sono ovviamente preliminari ma questa tendenza è chiara. Inoltre, di uno di questi pazienti la percentuale delle Treg aumenta in modo dipendente dal tempo. Il CD39 è un ectoenzima espresso sulla superficie delle



che catalizza la formazione di adenosina che svolge un ruolo nella funzione inibitoria delle Treg (16). Le due sottopopolazioni HLA-DR- e HLA-DR+ T regs sono funzionalmente distinte e caratterizzate da cinetiche di soppressione diverse e meccanismi di azione diversi, mediato da IL-10 e TGF- $\beta$  le prime e mediato da contatto cellula T-cellula T le seconde, in grado di indurre tolleranza dominante che persiste anche in presenza di macrofagi e altre APC professionali (17). Quindi il monitoraggio simultaneo di questi 6 marcatori permette, ad oggi, una caratterizzazione funzionale precisa delle cellule T reg circolanti. Sarà possibile anche un'analisi volta a individuare eventuali cellule T reg indotte. E' da notare che in questa analisi sono state utilizzate cellule crio-preservede e ciò potrebbe aver alterato la immunoreattività di alcuni antigeni di superficie e necessitano quindi di ulteriori conferme su campioni freschi (Figura 3).

### Gli anticorpi funzionali IgG4

sono tra i potenziali biomarcatori della AIT più interessanti. L'immunoterapia specifica è un trattamento efficace per le malattie allergiche IgE mediate che implica eventi che coinvolgono cellule T e B. I recettori per le IgE sulla superficie delle cellule presentanti l'antigene (APC) facilitano la presentazione degli allergeni in presenza di anticorpi IgE specifici e risultano nell'attivazione delle cellule T. L'interferenza con questo meccanismo dipendente dalle sIgE da parte di anticorpi IgG immunoreattivi e funzionali bloccanti può regolare ne-

gativamente le risposte delle cellule T e manifestarsi come una riduzione delle risposte allergiche in vivo. Alcuni studi clinici dimostrano che la risposta immunologica che segue alla somministrazione di allergene sia mediante SCIT

che SLIT è caratterizzata all'induzione di tali anticorpi serici IgG allergene-specifici immunoreattivi e funzionali, che rappresentano quindi degli utili biomarcatori di efficacia. In pazienti che hanno ricevuto un trattamento AIT

**Figura 3** Rappresentazione schematica delle sottopopolazioni di cellule T regolatorie e dei marcatori noti

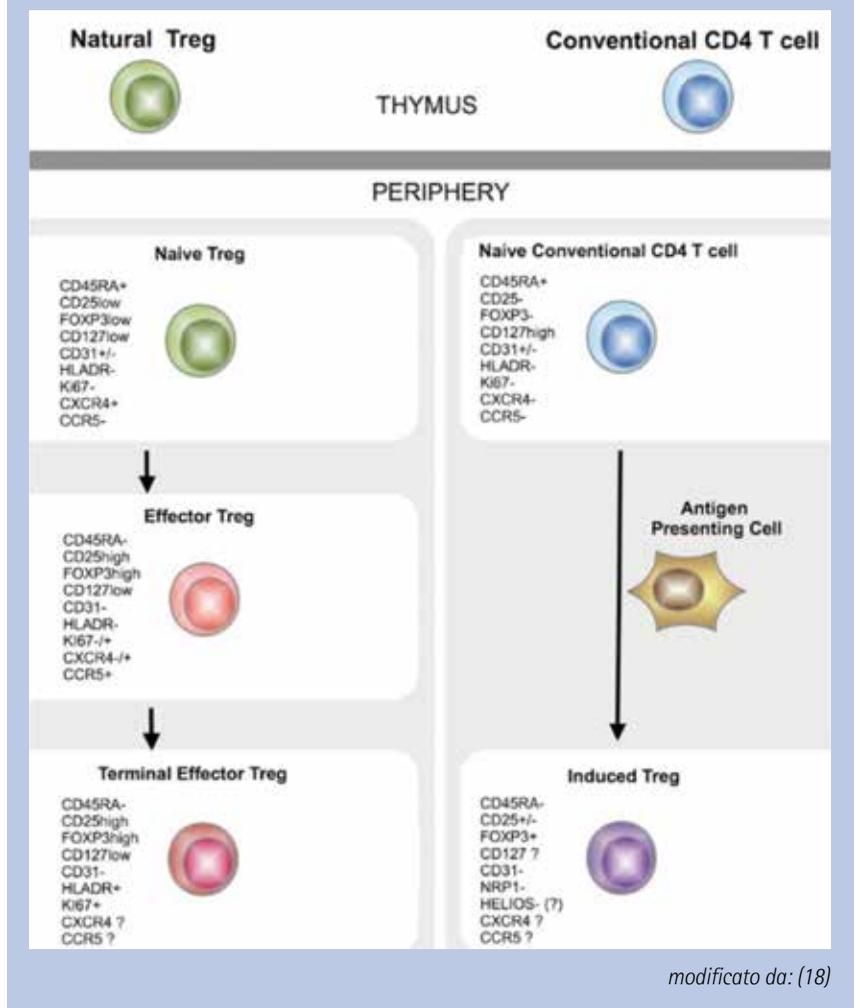
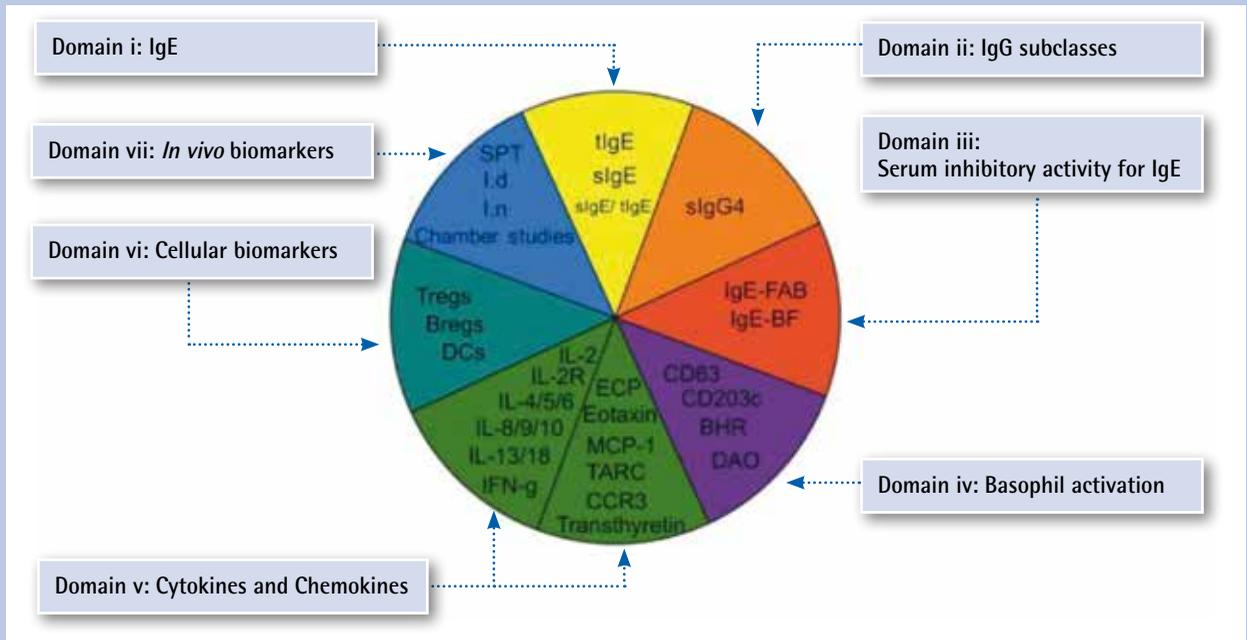




Figura 4

Categorie di biomarcatori per il monitoraggio della AIT



modificato da: (9)

si può riscontrare un aumento di 10-100 volte della concentrazione di anticorpi allergene-specifici IgG1 e IgG4. Una correlazione tra le IgG4 allergene-specifiche seriche (sIgG4) e parametri di outcome clinici favorevoli è stata descritta in alcuni studi. In un trial clinico di SCIT dose-risposta randomizzato, in doppio cieco, con un gruppo di controllo placebo, i livelli di sIgG4 sono aumentati in modo tempo e dose dipendente; fatto ancor più significativo è che il legame del complesso allergene-IgE alle cellule B risultava diminuito dal siero con alto titolo sIgG4 in modo dipendente dal tempo e dalla dose e

che l'attività inibitoria del siero correlava positivamente con la riduzione dei sintomi e del numero di medicazioni salvavita (19). Anche in uno studio sull'effetto della SLIT sulla immunità a livello locale (mucosa sublinguale) era stato osservato un aumento tempo-dipendente dell'attività inibitoria del siero per le IgE-(IgE-FAB) nei pazienti atopici trattati in associazione con l'aumento di cellule Treg e sIgA e sIgG4 (20). Inoltre, in uno studio randomizzato di 2 anni con un gruppo trattato con placebo e l'altro con AIT (SCIT) per graminacee, quest'ultimo ulteriormente randomizzato in placebo o SCIT per

ulteriori 2 anni, i livelli di IgG1 e IgG4 erano aumentati a 2 e 4 anni nel gruppo trattato attivamente. Invece, nel gruppo che era stato trattato attivamente per 2 anni e poi aveva ricevuto altri 2 anni di placebo, si era verificato un declino del livello del titolo IgG4 di circa l'80% a 4 anni (21). E' interessante il fatto che l'attività inibitoria del siero nei confronti del legame con allergene facilitato dalle IgE (IgE-FAB) era perdurata per due anni dopo la cessazione del trattamento. Il siero dei pazienti che avevano sospeso anticipatamente la AIT avevano mostrato riduzione di tale attività IgE-FAB. Questi risultati indicano che le ri-



sposte anticorpali funzionali e protettive sono critiche per la tolleranza a lungo termine. Il vigore delle risposte proliferative di cloni di cellule T è indicativo del legame di complessi IgE-allergene alle cellule B e test basati sulla proliferazione in vitro di cloni T antigeni-specifici sono stati da tempo utilizzati per individuare la presenza nel siero delle sIgG funzionali. Recentemente, è stato sviluppato un test di più semplice realizzazione che possa misurare il legame dei complessi IgE-allergene alle cellule B. I complessi allergene-IgE possono essere individuate mediante analisi citofluorimetrica e questa tecnica semplificata è chiamata **test del legame con allergene facilitato da IgE (IgE-FAB)** (22). Esso si basa sull'analisi citofluorimetrica di cellule B (per es. linea cellulare trasformata da EBV) esprimenti elevati e stabili livelli di CD23 (cioè il recettore a bassa affinità per le IgE, Fc RII), come valutato dalla percentuale di cellule positive al legame con anti-CD23-PE. Il test poi prevede l'uso di un siero atopico indicatore ad elevata concentrazione IgE specifiche per l'allergene di interesse (RAST > 100 IU/ml), da utilizzare per assegnare il valore di positività pari al 100%. Una variante del test che potrebbe risultare interessante perché presuppone una identica sovrapposizione di sequenze riconosciute da parte degli anticorpi di classi diverse è quella di utilizzare per ciascun paziente il siero pre-trattamento per definire il livello basale di legame al CD23, al posto del siero indicatore, e quello post-trattamento per valutare la capacità di inibizione. Un limite del test

è rappresentato dal fatto che in alcuni pazienti la complessità del repertorio anticorpale IgE potrebbe influenzare la formazione del complesso allergene-IgE piuttosto che essere una diretta funzione del titolo in sé. Nonostante la affidabilità e riproducibilità di questo metodo, esso richiede cellule B vitali e con una stabile espressione del recettore CD23 sulla superficie, che potrebbe risultare compromessa da una coltura a lungo termine. Un'alternativa al IgE-FAB FACS è rappresentata dal test cellulare IgE-FAB ELISA (ELIFAB), in cui i complessi IgE-allergene, ma non le IgE libere, sono catturate da monomeri di CD23 immobilizzati su una superficie solida (23).

La tolleranza a lungo termine che consegue alla AIT implica lo spostamento da un risposta predominante di tipo Th2 verso una risposta Th1 che dovrebbe riflettersi nella diminuzione delle citochine Th2 (IL-4, IL-13, IL-9) delle citochine e chemochine infiammatorie, come IL-17, eotassina, TNF- $\alpha$ , e nell'aumento di quelle Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-12) e regolatorie (IL-10 e TGF- $\beta$ ). Campbell e colleghi hanno descritto una popolazione di cellule T allergene-specifiche esprimenti CD154, un marcatore di attivazione recente, e IFN- $\gamma$  intracellulare, come biomarcatori cellulari per monitorare l'andamento della immunoterapia della rinite allergica in soggetti con rinite allergica sottoposti ad esposizione ambientale controllata al polline di graminacee (24). Però, solo alcuni studi hanno descritto queste modifiche e inoltre non è stato dimostrato un nesso tra citochine del siero e risposta

clinica alla AIT.

Molti altri vari fattori solubili del siero sono stati studiati come potenziali biomarcatori di outcome, ma nessuno di essi si è dimostrato correlabile alla risposta clinica. I livelli di citochine locali, piuttosto che quelli serici, potrebbero essere più indicativi degli effetti immunologici e clinici; ciò è stato osservato per esempio in uno dei pochi studi eseguiti su citochine locali che ha dimostrato diminuzione delle citochine Th2 e eotassina del fluido nasale dopo test di provocazione nasale con allergene dopo trattamento AIT efficace (25). Al momento però, soprattutto per la disomogeneità dei dati risultanti dai diversi studi, questi importanti fattori umorali non possono essere considerati dei validi biomarcatori.

Le varie tipologie di componenti immunologiche cellulari e molecolari cui si basano i gli studi e i test analitici che hanno finora permesso di individuarli come potenziali biomarcatori della AIT sono stati recentemente ampiamente revisionati in modo sistematico e critico e sono graficamente riassunti nella figura seguente (26) (Figura 4).

## CONCLUSIONI

Finora, non è stato individuato alcun biomarcatore predittivo della risposta clinica all'AIT e molte delle metodologie di analisi sono di complessa realizzazione. Quelle più promettenti appaiono al momento le metodiche citofluorimetriche (DC, Treg, basofili e IgE-FAB) e l'analisi del profilo di espressione dei microRNA.



## Bibliografia

1. Ciprandi G-Serum IgE as biomarker for predicting allergen immunotherapy effectiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139:2029.
2. Doherty TA, Scott D, Walford HH et al.-Allergen challenge in allergic rhinitis rapidly induces increased peripheral blood type 2 innate lymphoid cells that express CD84. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1203-1205.
3. Lombardi V, Beurard C, Neukirch C et al.-Circulating innate lymphoid cells are differentially regulated in allergic and nonallergic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:305-8.
4. Zimmer A, Bouley J, Le Mignon M et al.-A regulatory dendritic cell signature correlates with the clinical efficacy of allergen-specific sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1020-30.
5. Gueguen C, Bouley J, Moussu H et al.-Changes in markers associated with dendritic cells driving the differentiation of either TH2 cells or regulatory T cells correlate with clinical benefit during allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137:545-58.
6. van de Veen W, Stanic B, Yaman G et al.-IgG4 production is confined to human IL-10-producing regulatory B cells that suppress antigen-specific immune responses. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1204-12.
7. Shamji MH, Layhadi JA, Scadding GW et al.-Basophil expression of diamine oxidase: A novel biomarker of allergen immunotherapy response. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:913-921.
8. Leysen J, Sabato V, Verweij MM, et al.-The basophil activation test in the diagnosis of immediate drug hypersensitivity. *Expert Rev Clin Immunol* 2011;7:349-55.
9. Lu TX, Rothenberg ME-Diagnostic, functional, and therapeutic roles of microRNA in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:3-13.
10. Specjalski K, Maciejewska A, Pawłowski R et al.-Changes in the Expression of MicroRNA in the Buildup Phase of Wasp Venom Immunotherapy: A Pilot Study. *Int Arch Allergy Immunol* 2016;170:97.
11. Luo X, Hong H, Tang J et al.-Increased Expression of miR-146a in Children With Allergic Rhinitis After Allergen-Specific Immunotherapy. *Allergy Asthma Immunol Res* 2016;8:132.
12. Akdis CA, Akdis M-Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:18-27.
13. Suárez-Fueyo A, Ramos T et al.-Grass tablet sublingual immunotherapy downregulates the TH2 cytokine response followed by regulatory T-cell generation. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:130-138.
14. Varga E-M, Kausar F, Aberer W et al.-Tolerant beekeepers display venom-specific functional IgG4 antibodies in the absence of specific IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1419-21.
15. Radulovic S, Jacobson MR, Durham SR et al.-Grass pollen immunotherapy induces Foxp3-expressing CD4+CD25+ cells in the nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:1467-1472.
16. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W et al.-Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med* 2007;204:1257-65.
17. Baecher-Allan C, Wolf E, Hafler DA-MHC class II expression identifies functionally distinct human regulatory T cells. *J Immunol* 2006;176:4622-31.
18. Simonetta F, Bourgeois C-CD4+FOXP3+ Regulatory T-Cell Subsets in Human Immunodeficiency Virus Infection. *Front Immunol* 2013;4:215.
19. Shamji MH, Ljørring C, Francis JN et al.-Functional rather than immunoreactive levels of IgG4 correlate closely with clinical response to grass pollen immunotherapy. *Allergy* 2012;67:217-26.
20. Scadding GW, Shamji MH, Jacobson MR et al.-Sublingual grass pollen immunotherapy is associated with increases in sublingual Foxp3-expressing cells and elevated allergen-specific immunoglobulin G4, immunoglobulin A and serum inhibitory activity for immunoglobulin E-facilitated allergen binding to B cells. *Clin Exp Allergy* 2010;40:598-606.
21. James LK, Shamji MH, Walker SM et al.-Long-term tolerance after allergen immunotherapy is accompanied by selective persistence of blocking antibodies. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:509-516-5.
22. Shamji MH, Wilcock LK, Wachholz PA et al.-The IgE-facilitated allergen binding (FAB) assay: validation of a novel flow-cytometric based method for the detection of inhibitory antibody responses. *J Immunol Methods* 2006;317:71-9.
23. Shamji MH, Francis JN, Würtzen PA et al.-Cell-free detection of allergen-IgE cross-linking with immobilized phase CD23: Inhibition by blocking antibody responses after immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2013;132:1003-1005.
24. Campbell JD, Buchmann P, Kesting S et al.-Allergen-specific T cell responses to immunotherapy monitored by CD154 and intracellular cytokine expression. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1025-35.
25. Kouser L, Kappen J, Walton RP et al.-Update on Biomarkers to Monitor Clinical Efficacy Response During and Post Treatment in Allergen Immunotherapy. *Curr Treat Options Allergy* 2017;4:43-53.
26. Shamji MH, Kappen JH, Akdis M et al.-Biomarkers for monitoring clinical efficacy of allergen immunotherapy for allergic rhinoconjunctivitis and allergic asthma: an EAACI Position Paper. *Allergy* 2017;72:1156-73.



# Allergia, ipersensibilità e intolleranze al frumento

Marco De Carli

Struttura Semplice Dipartimentale  
di Allergologia,  
ULSS1 Dolomiti

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 61-70

### INTRODUZIONE

Il frumento e gli altri cereali sono la principale fonte di proteine alimentari nei paesi occidentali in quanto forniscono circa il 50% del supplemento dietetico di proteine (1). L'estrema importanza alimentare deriva dalla capacità del frumento e degli altri cereali appartenenti alle sottofamiglie delle graminacee subpooidee, quali avena, riso, orzo e segale, di crescere in diverse zone climatiche e di fornire grossi raccolti (2). Il grano, oltre ad avere un elevato valore nutrizionale, ha un'elevata palatabilità e può essere processato in molti alimenti, ad esempio pane, pasta, biscotti, pizza, bulgur e couscous, nonché in bevande quali la birra.

Il frumento può provocare un vasto spettro di diverse patologie immunomediate che possono realizzarsi con diversi meccanismi immunopatologici, che si possono esprimere con diverse forme cliniche e che dipendono dalla via di esposizione e di sensibilizzazione.

Il frumento può causare virtualmente tutte le forme cliniche di reazioni di ipersensibilità agli alimenti ed è tra i sei alimenti

responsabili di circa il 90% delle allergie alimentari nei bambini, interessando lo 0.4-1% della popolazione pediatrica (3,4). Nell'età pediatrica l'allergia alimentare al frumento si può manifestare in di-

verse forme cliniche a diversa patogenesi che includono dermatite atopica, esofagite eosinofila, gastrite eosinofila, gastroenterite eosinofila, orticaria, angioedema, asma, dispepsia, dolore addominale ed

### RIASSUNTO

#### Parole chiave e sigle

- Allergia • Frumento • Farina • Grano • Malattia celiaca • Asma da farina
- Baker asthma • Anafilassi • Gluten sensitivity • Gastroenterite eosinofila
  
- FANS = farmaci anti-infiammatori non steroidei.
- FEV1 = Volume espiratorio massimo in 1 secondo.
- TGA = anticorpi anti-transglutaminasi di isotipo IgA.

*Le reazioni avverse al frumento costituiscono oggi un capitolo importante dell'allergologia. Negli ultimi anni, oltre ai quadri clinici tradizionali conosciuti da diverso tempo quali la malattia celiaca, l'allergia alimentare e l'asma da farina, la dermatite da contatto, sono state descritte nuove entità nosologiche, quali l'anafilassi indotta da esercizio fisico e la "gluten sensitivity". Sono inoltre emerse delle forme cliniche sostenute da una risposta immunitaria rivolta verso proteine deamidate del frumento utilizzate come emulsificatori nel settore agroalimentare. Il frumento, pertanto, rappresenta un alimento contenente diverse frazioni immunogeniche sia in forma nativa che denaturata e deamidata che possono essere responsabili di diverse forme di risposta immunomediata nei confronti di questo cereale. La sensibilizzazione al frumento può realizzarsi attraverso diverse vie, inalatoria, respiratoria e percutanea. Il presente articolo ha lo scopo di descrivere le diverse forme cliniche di reattività al frumento e illustrare le procedure diagnostiche disponibili per identificarle.*



anafilassi (4,5). Nell'età adulta le allergie alimentari al frumento propriamente intese sono verosimilmente più rare e non vi sono dei dati certi sul reale impatto epidemiologico delle diverse forme cliniche ad oggi descritte. Anche nell'adulto si riconoscono forme IgE mediate e non IgE mediate, ma la clinica e la diagnostica delle reazioni avverse al frumento si è via via arricchita di nuovi quadri nosologici. Ad oggi lo spettro di manifestazioni cliniche conseguenti a reazioni avverse al frumento è molto esteso e complesso. Esso comprende forme a diversa patogenesi (IgE mediata, non IgE mediata, mista IgE e non IgE mediata) e interessanti diversi organi bersaglio(5). Una possibile classificazione delle reazioni avverse al frumento è proposto in Figura 1.

### REAZIONI IGÉ MEDIATE

Nell'adulto le allergie IgE mediate nei confronti del frumento sembrano essere rare, ma sono state incontrovertibilmente documentate con test di scatenamen-

to in doppio cieco controllato contro placebo in due distinte casistiche comprendenti in totale 22 pazienti (6,7). Nel corso dei test di scatenamento in doppio cieco controllato contro placebo le manifestazioni cliniche di reazioni IgE mediate si sono manifestate come sindrome orale allergica, con sintomi cutanei (prurito, orticaria, eritema, dermatite atopica), con sintomi gastroenterici (nausea, vomito, dolori addominali, diarrea), con sintomi respiratori (rinite, tosse, asma), con angioedema, edema della laringe e cefalea. Tre dei 22 pazienti descritti presentavano reazioni all'ingestione del solo alimento crudo, ma tolleravano l'alimento quando esso veniva cotto (6,7). Una particolare forma di allergia alimentare mediata dal frumento è rappresentata dall'anafilassi da alimenti indotta da esercizio fisico. Nei soggetti affetti da questa peculiare forma di allergia alimentare, il solo esercizio fisico o la sola assunzione dell'alimento non causano reazione. Perché si realizzi anafilassi è necessario che il paziente associ

l'assunzione dell'alimento all'esercizio fisico (8). Il tempo che intercorre tra l'assunzione dell'alimento e l'esercizio fisico necessario perché si realizzi anafilassi è in genere di 30-120 minuti e la durata dell'esercizio fisico prima della comparsa dei sintomi è di 10-50 minuti (9). Molti sono gli alimenti che sono stati descritti essere responsabili di questa forma di anafilassi, ma l'allergene predominante nel causare questa caratteristica forma di allergia alimentare è il frumento (9). In Giappone, ad esempio, nel 56% dei casi l'anafilassi da sforzo indotta da alimenti è causata dal frumento (10). Una forma particolare di anafilassi da sforzo indotta da alimenti è quella che avviene come conseguenza della sensibilizzazione per via percutanea o rinocongiuntivale attraverso l'uso di composti idratanti a base di idrolizzati di proteine di frumento (11,12). Il grano, infatti, non è solo un alimento, ma viene anche utilizzato nell'industria dei cosmetici sotto forma di idrolizzati proteici che possono causare delle particolari forme di orticaria da

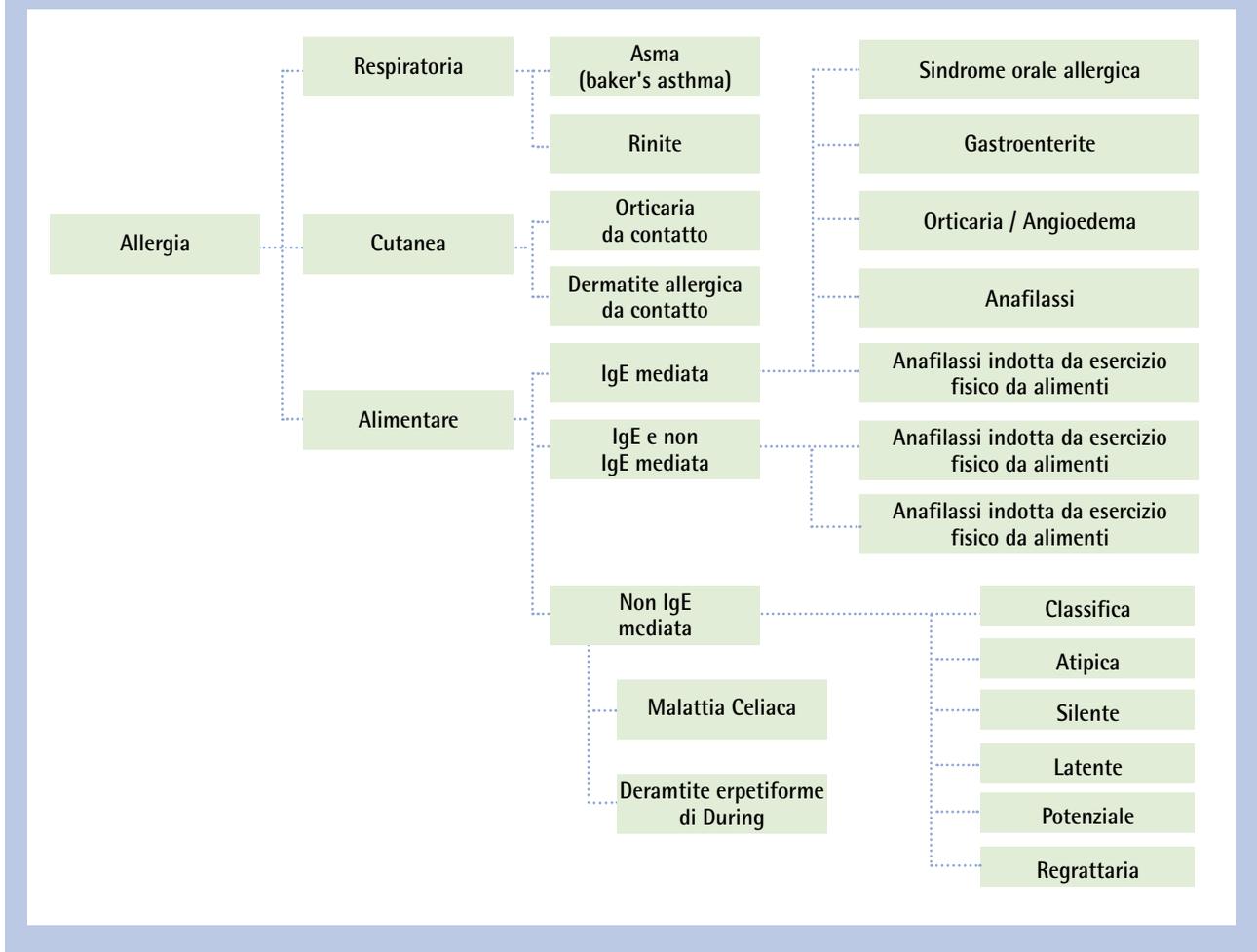


contatto(13). In alcuni soggetti la sensibilizzazione agli idrolizzati si può anche manifestare come anafilassi da sforzo fisico indotta da frumento o come franca allergia alimentare. Rispetto alla forma tradizionale, l'anafilassi da sforzo indotta da frumento che origina da sensibilizzazione ad idrolizzati si esprimerebbe

clinicamente con un caratteristico e distintivo angioedema del volto (12). A livello industriale le proteine della farina sono state anche manipolate per ottenere degli emulsificatori che aumentano la solubilità proteica e che vengono utilizzati nel settore agroalimentare (14). La deamidazione dei residui di glutammi-

na è una delle metodiche utilizzate per aumentare la solubilità e la dispersibilità acquosa del glutine e diversificarne le applicazioni. L'utilizzo di questi derivati deamidati del glutine si è associata alla comparsa di una particolare forma di allergia alimentare alle proteine del glutine che si realizza contro il prodot-

**Figura 1** Classificazioni delle reazioni avverse al frumento





to deamidato, ma non nei confronti del glutine nativo. Questi pazienti, pertanto, manifestano gravi reazioni allergiche dopo assunzione di alimenti contenenti glutine deamidato, ma tollerano alimenti contenenti farina(15).

Il grano è anche un allergene respiratorio

professionale. L'inalazione della farina nei soggetti esposti alle polveri di frumento, infatti, può indurre l'insorgenza di una malattia professionale detta asma del panettiere o "baker asthma". L'asma è di solito associata e/o preceduta da rinocongiuntivite allergica e/o da orticaria

da contatto (3). Oltre a queste allergie professionali che sono sostenute da meccanismi IgE mediati, vi sono anche delle allergie professionali al frumento che sembrano essere sostenute da una risposta T cellulare e che si manifestano nei lavoratori esposti alla farina come dermatite allergica da contatto(14).

Figura 2

Elementi clinici indicativi IgE mediata e reazioni miste (IgE + non IgE) o non IgE mediate

### IgE mediata

- Storia di reazione acuta dopo ingestione di alimenti a base di frumento  $\leq$  3 ore
- Sintomatologia tipica
  - ✓ Anafilassi
  - ✓ Angioedema/orticaria
  - ✓ Rash
  - ✓ Dermatite
  - ✓ Dispnea
- Comparla di sintomi dopo sforzo
- Reazioni a contatto con idrolizzati di proteine di frumento
- Asma dopo esposizione occasionale a polveri di frumento o a vapori di alimenti contenenti frumento

### Miste e non IgE mediata

- Comparsa di sintomi  $>$  3 ore dall'ingestione di alimenti a base di frumento
- Sintomi cronici
- Sintomatologia gastroenterica
  - ✓ Dolore addominale
  - ✓ Diarrea
  - ✓ Disfagia
  - ✓ Reflusso
  - ✓ Impatto alimentare
- Segni di malassorbimento
- Versamento ascitico
- Sintomi di occlusione intestinale

### REAZIONI CON COMPONENTE MISTA (IgE E NON IgE MEDIATE)

Le forme cliniche considerate in questo gruppo (Figura 2) come possibile espressione di allergia alimentare sono la esofagite eosinofila, la gastrite eosinofila e la gastroenterite eosinofila (5). Questa particolare classificazione deriva dall'osservazione che in queste forme sarebbero presenti dei meccanismi patogenetici sia IgE mediati che meccanismi Th2-cellulo mediati ritardati(16). Dal punto di vista clinico l'esofagite eosinofila si manifesta con disfagia, reflusso ed arresto dell'alimento. Nell'età pediatrica l'esofagite può causare sintomi meno caratteristici, manifestandosi con dolore addominale e ritardo di crescita (17). Il frumento è risultato essere il più comune alimento in grado di causare esofagite eosinofila nell'adulto ed il secondo più comune alimento responsabile di esofagite eosinofila nel bambino (18,19).

La gastroenterite eosinofila può presentare una sintomatologia variabile a seconda del tratto gastroenterico interessato e dell'estensione dell'infiltrato infiammatorio eosinofilo. L'infiltrato, infatti, può localizzarsi alla sola sottomucosa, interessare la sottomucosa o essere presente nella



sierosa. Il sintomo comune a tutte le diverse forme è il dolore addominale. Le forme con infiltrazione della sola mucosa si possono esprimere clinicamente con diarrea, vomito, enteropatia protido-disperdente e malassorbimento. Al malassorbimento possono conseguire anemia, ipoalbuminemia, perdita di peso o ritardo di crescita. L'infiltrazione della tonaca muscolare si manifesta con occlusione o subocclusione intestinale, mentre l'interessamento della sierosa può causare ascite, peritonite e, nei casi più gravi e rari, perforazione e invaginazione (20). Sebbene sia classificata tra le allergie alimentari, raramente la dieta di eliminazione si è dimostrata efficace nel controllare i sintomi ed una chiara relazione causale con allergeni alimentari è stata solo episodicamente documentata (20,21).

### MALATTIA CELIACA

Abbiamo finora esaminato le allergie tradizionalmente intese che si possono esprimere a livello cutaneo, gastroenterico e respiratorio. Accanto a queste forme di ipersensibilità immuno-mediata, va menzionata una particolare e frequente forma di allergia non IgE mediata che si esprime con fenomeni autoimmuni che è la malattia celiaca. Questa ben nota forma clinica si sviluppa in soggetti geneticamente predisposti. Il glutine e le altre prolammine contengono degli epitopi che possono venire presentati nel contesto degli antigeni HLA di classe II DQ2 e DQ8 alle cellule T specifiche presenti nella mucosa intestinale, attivandole. Queste cellule, una volta attivate, inducono il danno a carico della mucosa intestinale con alterazio-

ne della barriera epiteliale e perdita dei villi intestinali (16). Dal punto di vista clinico la malattia celiaca si può esprimere in diverse forme. La forma classica o tipica si manifesta con diarrea cronica e malassorbimento che si traducono in un arresto di crescita nel bambino o in dimagrimento nell'adulto. Accanto a questa forma negli anni è stata descritta sempre più frequentemente una forma atipica, nella quale prevalgono i sintomi extraintestinali e i sintomi gastroenterici sono poco o per nulla presenti. In queste forme i malassorbimenti sono limitati ad alcuni nutrienti e non causano perdita di peso o difetto di crescita, ma si manifestano con anemia, osteoporosi o altre forme carenziali. Sono state anche descritte altre forme cliniche di celiachia. Viene definita celiachia silente la malattia celiaca che è evidente solo dal punto di vista sierologico ed istologico, ma che non presenta alcuna sintomatologia. La celiachia silente è spesso riscontrata in soggetti nei quali viene ricercata la malattia perché parenti di soggetti con malattia celiaca, o perché affetti da malattie autoimmuni che tendono ad associarsi con la malattia celiaca (es. diabete, tiroiditi autoimmuni) o perché presentano anomalie genetiche o cromosomiche (sindrome di Williams, sindrome di Turner) (22). La celiachia latente identifica dei soggetti spesso sintomatici, con sierologia tipica in assenza di lesioni istologiche a carico della mucosa intestinale (23). Con celiachia potenziale si definisce quella forma clinica caratterizzata dalla presenza di un pattern anticorpale caratteristico, dei geni HLA DQ2 e/o DQ8, ma che hanno un'istologia nor-

male o una conta aumentata di linfociti intraepiteliali, ma senza alterazioni a carico dei villi intestinali indicative di malassorbimento (24,25). L'ultima forma clinica è rappresentata dalla celiachia refrattaria. Con tale termine si identificano quei pazienti che presentano malassorbimento ed atrofia dei villi dopo un anno di dieta aglutinata. Sono descritte due forme di malattia refrattaria: il tipo 1 nella quale il fenotipo dei linfociti T infiltranti è normale e il tipo 2 che presenta dei linfociti T infiltranti con fenotipo anomalo (monoclonale) (26).

Vi è anche una forma cutanea che si associa a malattia celiaca. Si tratta della dermatite erpetiforme di Dühring, una peculiare forma di dermatite bollosa caratterizzata da lesioni papulovesicolari e ponfi orticarioidi distribuiti simmetricamente alle superfici estensorie (27).

### SENSIBILITÀ AL GLUTINE NON CELIACA

#### (NON-CELIAC GLUTEN SENSITIVITY)

Negli ultimi anni sono stati descritti dei pazienti con reattività alimentare all'ingestione di frumento in cui non vi è evidenza di IgE specifiche per frumento e nei quali le indagini per malattia celiaca sono negative. Per questi peculiari quadri clinici è stato coniato il termine di "Sensibilità al glutine non celiaca" (28). Non sono ad oggi noti i meccanismi fisiopatologici e la reale incidenza di tale forma clinica di reattività al frumento (9). I sintomi compaiono subito dopo l'ingestione del glutine e regrediscono con la sospensione degli alimenti conte-



nenti glutine, per ricomparire nell'arco di ore e giorni dopo la reintroduzione del glutine. I sintomi sono molto simili a quelli della sindrome del colon irritabile con dolore addominale, gonfiore e modificazioni delle dell'alvo (diarrea e/o stipsi). Vengono anche riportati sintomi sistemici come "annebbiamento cerebrale", cefalea, dolori articolari, astenia, depressione, torpore delle estremità, dermatite ed anemia. Altre manifestazioni cliniche possono essere perdita di peso, fermentazione, glossite e modifiche comportamentali (30).

### DIAGNOSI

La diagnosi di una reazione avversa al frumento inizia con la storia clinica. Alcuni sintomi possono già essere orientanti per la diagnosi. Un'anamnesi accurata nelle forme di anafilassi da sforzo fisico, ad esempio, può già consentire di individuare il frumento quale possibile allergene scatenante di una forma di anafilassi da sforzo indotta da alimenti. Anche nel caso dell'asma da farina la storia clinica può orientare verso la diagnosi, soprattutto se i sintomi compaiono e/o si aggravano o si alleviano e/o risolvono in coincidenza rispettivamente con l'attività lavorativa o con il riposo. In altre forme cliniche l'intervallo temporale tra esposizione all'alimento e comparsa dei sintomi può essere utile per individuare le forme IgE mediate dalle forme non IgE mediate. Generalmente nelle allergie IgE mediate i sintomi compaiono entro 3 ore dall'esposizione all'allergene(9). Le allergie IgE mediate, inoltre, possono manifestarsi con svariati sintomi che in-

cludono orticaria, angioedema, asma, rinite, dolore addominale, vomito, diarrea, eritema, esacerbazione di dermatite atopica, anafilassi indotta da esercizio (31). Le forme non IgE mediate possono presentarsi con diverse forme cliniche, ma in genere compaiono a distanza di più di tre ore dal pasto e uno dei sintomi principali è rappresentato dal dolore addominale (17,20). A seconda delle diverse forme cliniche, possono coesistere o meno alterazioni dell'alvo, vomito e segni o sintomi di malassorbimento, nonché altri sintomi e segni tipici di alcune peculiari forme cliniche (es. disfagia nell'esofagite eosinofila, occlusione e versamento ascitico nella gastroenterite eosinofila) (17,20).

La sintomatologia nella malattia celiaca è quanto mai variabile a seconda delle diverse forme cliniche e possono essere presenti anche solo sintomi extraintestinali rappresentati dalle complicanze relative al malassorbimento ed alle malattie autoimmuni associate (23). In figura 3 sono elencati gli elementi clinici che possono orientare verso le diverse forme cliniche di allergie alimentari al frumento (Figura 3). La diagnostica imprescindibile, soprattutto nelle forme IgE mediate è l'esecuzione dei prick test o la ricerca delle IgE specifiche (RAST/CAP-FEIA). La ricerca in vivo e in vitro delle IgE specifiche presenta dei limiti diagnostici legati ad una bassa sensibilità dovuta al fatto che i reagenti presenti in commercio sono miscele di proteine della frazione solubile e mancano di allergeni della frazione insolubile del glutine(32). Il RAST/CAP-FEIA risulta essere più sensibile, ma meno specifico dei prick test come conseguenza dell'alta cross-reattività esistente con il

polline di graminacee (33). La diagnostica molecolare può essere di aiuto nella diagnosi delle allergie IgE mediate. Molte sono infatti le proteine allergeniche che possono essere coinvolte nelle allergie al frumento, con alcuni allergeni che sembrano associarsi ad alcune forme cliniche. La sensibilizzazione all'inibitore dell'alfa-amilasi, ad esempio, prevale nelle allergie respiratorie; la sensibilizzazione a non specific lipid-transfer protein (nsLTP) ed alle gliadine correla più spesso con allergia alimentare, la sensibilizzazione ad omega-5 gliadine è tipica delle forme di anafilassi da alimenti indotta da esercizio fisico e la sensibilizzazione alle glutenine ad alto peso molecolare si osserva preferenzialmente nell'orticaria da contatto (34) (Figura 3).

Queste correlazioni presentano numerose eccezioni per cui nessuno di questi allergeni ad oggi ha dimostrato di possedere sufficiente specificità e sensibilità diagnostica per divenire uno standard di riferimento per la diagnosi di allergia al frumento (31). La diagnostica molecolare è utile nella diagnosi di anafilassi da alimenti indotta da esercizio fisico in quanto l'80% dei pazienti risulta essere sensibile all'omega 5-gliadina (35). Un altro campo utile di applicazione della diagnostica molecolare è nell'asma da farina. Uno studio recente ha infatti dimostrato come la diagnostica molecolare possa aiutare a distinguere tra sensibilizzazione da esposizione occupazionale e sensibilizzazione al frumento secondaria a cross-reattività ai pollini di graminacee (36).

Nella maggior parte dei casi per la diagnosi di certezza si rende necessario eseguire dei test di esposizione. Nella



diagnosi di allergia alimentare il “gold standard” è rappresentato dal test di esposizione in doppio cieco controllato contro placebo. Anche in alcuni casi di anafilassi da frumento indotta da esercizio fisico per confermare la diagnosi può rendersi necessario un test di esposizione al frumento associato ad un test da sforzo (37). Un test negativo, tuttavia, non esclude la diagnosi, in quanto è possibile che non venga raggiunta la giusta intensità di esercizio o che nell'espressività clinica abbiano un ruolo alcuni cofattori come ad esempio l'alcol, i FANS e le mestruazioni che andranno pertanto ricercati durante la raccolta dell'anamnesi (31,37).

L'asma da farina, al pari delle asme occupazionali, richiede spesso un riscontro oggettivo in quanto la diagnosi ha un impatto sociale ed economico. Spesso si rende pertanto necessario eseguire un test di broncostimolazione specifico. Questo test, considerato il “gold standard” per la diagnosi di asma da farina, andrebbe eseguito in centri dotati di adeguata strumentazione e con personale addestrato in quanto rappresenta un potenziale rischio per il paziente (38). Questo test può essere effettuato con diverse modalità, ciascuna delle quali ha limiti e vantaggi. Il test può essere eseguito esponendo in una stanza il soggetto alla farina e documentando al termine dell'esposizione od alla comparsa di sintomi un calo significativo del FEV1 rispetto ai valori basali. In alternativa al paziente possono essere fatte inalare dosi crescenti di estratto allergenico monitorando il FEV1 al termine di ciascun ciclo di inalazione(39). Il test viene considerato positivo e viene posta diagnosi di asma da farina quando si veri-

fica un calo del FEV1 almeno pari al 20% rispetto ai valori basali (39).

Nella malattia celiaca svolge un ruolo importante nella diagnosi la ricerca degli anticorpi anti-transglutaminasi di isotipo IgA (TGA). Viene suggerito di abbinare alla sierologia la determinazione della IgA totali, in quanto la malattia celiaca può associarsi ad un difetto di IgA e, in questo caso, la ricerca degli TGA può risultare falsamente negativa. In presenza di un difetto di IgA vengono ricercati gli anticorpi anti-transglutaminasi di isotipo IgG. La ricerca degli antigeni HLA DQ2 e DQ8 si rende necessaria solo in limitati casi e la ricerca dovrebbe essere motivata e richiesta da uno specialista. Una volta evidenziata una sierologia compatibile con

la presenza di malattia celiaca, la conferma diagnostica avviene effettuando una biopsia del piccolo intestino e verificando la presenza delle alterazioni istopatologiche caratteristiche (23). La diagnostica sierologica e le biopsie vanno effettuate sempre durante la dieta libera in quanto la dieta aglutinata, se seguita per settimane, può negativizzare il titolo degli TGA e normalizzare il quadro istologico.

Lo studio endoscopico non è indicato solo nella conferma del sospetto diagnostico di malattia celiaca, ma è anche indispensabile per documentare la presenza degli infiltrati eosinofili nelle esofagiti, nelle gastriti e nelle gastroenteriti eosinofile (17,20).

Va infine ricordato che anche le diete di eliminazione e di esclusione possono

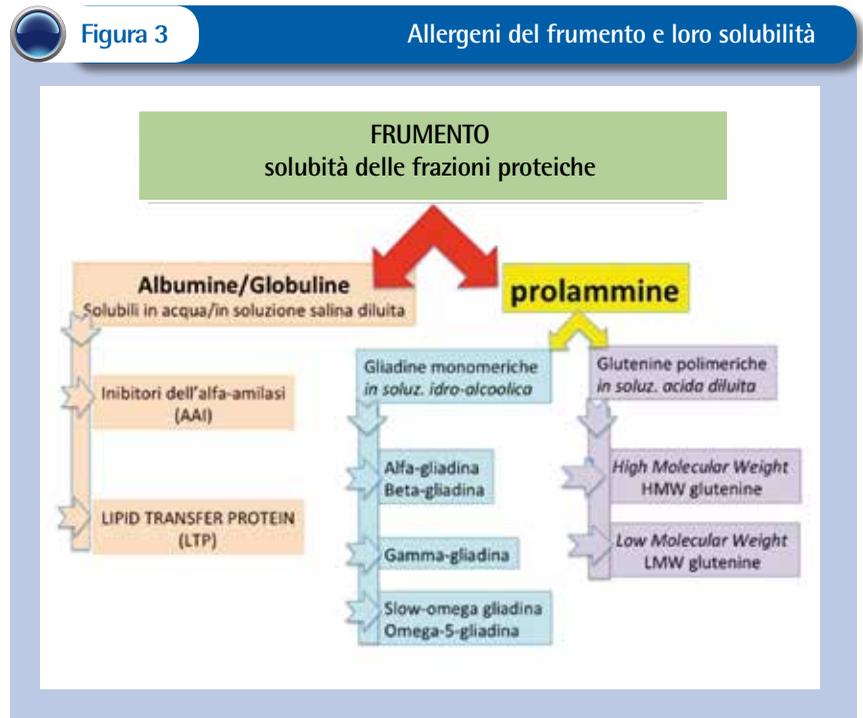




Tabella 1

Test diagnostici delle reazioni avverse al frumento

|                       | Esami di screening   | Esami di conferma  | Esami complementari   |
|-----------------------|--|--|---|
| IgE mediate           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• PT/RAST</li> <li>• RAST <math>\omega</math>5 gliadina</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dieta di esclusione</li> <li>• Challenge (aperto, singolo cieco controllato contro placebo, doppio cieco controllato contro placebo)</li> </ul> |   |
| IgE + non IgE mediate | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Emocromo con formula</li> <li>• Sangue occulto nelle feci</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esofagogastroduodenoscopia</li> <li>• Colonscopia</li> <li>• Dieta di eliminazione e reintroduzione</li> <li>• Challenge</li> </ul>             |   |
| Malattia celiaca      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• IgA totali</li> <li>• Anticorpi anti-transglutaminasi IgA</li> <li>• Anticorpi anti-transglutaminasi IgG</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Biopsia del digiuno</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• HLA DQ2 e DQ8</li> </ul> |

maggior parte dei pazienti con allergia al frumento e non dovrebbero essere eliminati dalla dieta. Nella popolazione pediatrica l'allergia all'avena è estremamente rara, mentre più comune può essere l'allergia alla segale ed all'orzo. Gli studi ad oggi eseguiti hanno evidenziato come tutte le specie di frumento sembrano possedere la stessa allergenicità (41). Pertanto la dieta di esclusione dovrebbe riguardare tutte le forme di frumento. Ai pazienti con allergia al frumento andrebbe anche sconsigliata l'assunzione di alimenti "gluten free", in quanto, pur essendo a base di altre farine come tapioca, sorgo, miglio e mais, questi possono contenere amido di frumento. L'amido di frumento, infatti, potrebbe non essere sufficientemente puro e contenere contaminanti proteiche che possono rappresentare un rischio per il paziente allergico(42).

Nel caso dei pazienti con allergia agli idrolizzati di proteine del frumento, l'interruzione dell'uso di saponi contenenti l'idrolizzato favorisce la progressiva remissione della malattia che può avvenire a distanza di 5 anni nel 50% dei soggetti (43).

I pazienti con allergia alimentare IgE mediata al frumento dovrebbero anche evitare sia di maneggiare che di esporsi alle polveri di farina. Dovrebbero quindi evitare locali dove vengono utilizzate farine, quali pizzerie, laboratori di pasticceria, forni. Questo non solo per evitare eventuali contaminazioni degli alimenti, ma anche perché sovente la farina di frumento in questi soggetti può causare asma (7). I soggetti con asma professionale dovrebbero essere allontanati dagli ambienti lavorativi contaminati da polveri di frumento e da altre farine, ma non do-

rappresentare dei capisaldi per la diagnosi delle patologie correlate al frumento. Nell'ipersensibilità non celiaca al glutine, infatti, non vi sono test od alterazioni istopatologiche caratteristiche che possono far sospettare la diagnosi. I vari test e studi endoscopici più sopra menzionati servono solo ad escludere la presenza di altre forme cliniche e solo l'eliminazione dalla dieta del frumento e la conseguente scomparsa della sintomatologia consente di ipotizzare la presenza di una sensibilità al glutine non celiaca. La dieta di esclusione può avere un ruolo anche nell'identificare l'alimento nelle esofagiti eosinofile. È stato infatti documentato che l'eliminazione di 6 alimenti (latte, frumento, soia, uovo, nocciola e pesce) consente di ridurre significativamente l'infiltrato eosino-

filo esofageo nel 74% dei soggetti. La successiva reintroduzione degli alimenti può consentire di identificare l'alimento responsabile che, ricordiamo, è spesso il frumento (40).

In tabella 1 sono elencati gli esami di screening, di conferma e complementari relativi alle diverse forme di allergie alimentari al frumento (Tabella 1).

### TERAPIA

Il cardine della terapia delle malattie allergiche consiste nell'evitare l'esposizione all'allergene. Nelle allergie alimentari IgE mediate la reazione è in genere causata solo dalle proteine del frumento. Gli altri cereali contenenti prolamine, quali segale, orzo e avena sono tollerati dalla



vrebbero evitare l'assunzione di alimenti contenenti frumento. I soggetti con allergia respiratoria da sensibilizzazione al frumento, infatti, salvo rare eccezioni, non manifestano sintomi all'ingestione di farina(7). La ragione per la quale i soggetti con sensibilizzazione alimentare presentano sintomi sia all'ingestione che all'inalazione del frumento, e i soggetti con sensibilizzazione respiratoria presentano sintomi solo all'inalazione e non all'ingestione di frumento potrebbe essere spiegata da una reattività ad epitopi diversi. L'osservazione che alcuni allergeni sono coinvolti sia nell'allergia respiratoria che nell'allergia alimentare rende plausibile l'ipotesi che la sensibilizzazione per via ae-

rea avvenga per epitopi conformazionali, ovvero per quei determinanti antigenici che vengono alterati dalla denaturazione delle proteine, mentre la sensibilizzazione per via alimentare si realizzerebbe nei confronti di epitopi non conformazionali o lineari. Questi ultimi sono costituiti da sequenze continue di aminoacidi e il loro legame con le IgE non viene modificato da condizioni denaturanti quali cottura, acidità e esposizione ad enzimi proteolitici. I determinanti lineari, al contrario dei determinanti conformazionali, sono presenti sulla farina cruda e permangono inalterati dopo cottura e digestione (7). Nelle esofagiti eosinofile accanto alla dieta di eliminazione trova spazio la terapia

steroidica. Gli steroidi per via orale sono un trattamento efficace nel breve periodo. In alternativa possono essere impiegate polveri steroidee inalatorie o soluzioni steroidee viscosche che vengono deglutite (44).

Nella malattia celiaca la terapia è rappresentata dalla dieta di esclusione che non riguarda solo il frumento, ma anche altri cereali contenenti prolamine, quali orzo, farro, segale. Per lungo tempo si è dibattuto sull'estensione della dieta di eliminazione all'avena, ma studi recenti sembrano indicare che nel lungo periodo il consumo di avena è sicuro e che, anzi, può addirittura migliorare la qualità di vita(45).



## Bibliografia

1. Jones SM, Magnolfi CF, Cooke SK, et al. Immunologic cross-reactivity among cereal grains and grasses in children with food hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:341-51.
2. Fasano A, Sapone A, Zevallos V, et al. D. Non-celiac gluten sensitivity. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1195-204.
3. Palosuo K. Update on wheat hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:205-9.
4. Keet CA, Matsui EC, Dhillon G, et al. The natural history of wheat allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009;102(5):410-5.
5. Sampson HA. Food allergy: Past, present and future. *Allergol Int*. 2016;65:363-9.
6. Scibilia J, Pastorello EA, Zisa G, et al. Wheat allergy: a double-blind, placebo-controlled study in adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:433-9.
7. Salvatori N, Reccardini F, Convento M, et al. Asthma induced by inhalation of flour in adults with food allergy to wheat. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:1349-56.
8. Pravettoni V, Incorvaia C. Diagnosis of exercise-induced anaphylaxis: current insights. *J Asthma Allergy*. 2016;9:191-198.
9. Scherf KA, Brockow K, Biedermann T, et al. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2016 Jan;46(1):10-20.
10. Harada S, Horikawa T, Ashida M, et al. Aspirin enhances the induction of type I allergic symptoms when combined with food and exercise in patients with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Br J Dermatol*. 2001;145:336-9.
11. Kobayashi T, Ito T, Kawakami H, et al. Eighteen cases of wheat allergy and wheat-dependent exercise-induced urticaria/anaphylaxis sensitized by hydrolyzed wheat protein in soap. *Int J Dermatol*. 2015;54:e302-5.
12. Chinuki Y, Takahashi H, Dekio I, et al. Higher allergenicity of high molecular weight hydrolysed wheat protein in cosmetics for percutaneous sensitization. *Contact Dermatitis*. 2012;68:86-9.
13. Laurière M, Pecquet C, Bouchez-Mahiou I, et al. Hydrolysed wheat proteins present in cosmetics can induce immediate hypersensitivities. *Contact Dermatitis*. 2006;54:283-9.
14. Day L, Xu M, Lundin L, et al. Interfacial properties of deamidated wheat protein in relation to its ability to stabilise oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids* 2009;23:2158-67.
15. Denery-Papini S, Bodinier M, Larré C, et al. E. Allergy to deamidated gluten in patients tolerant to wheat: specific epitopes linked to deamidation. *Allergy*. 2012;67:1023-32.
16. Yu W, Freeland DMH, Nadeau KC. Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2016 Dec;16(12):751-65.
17. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, et al. Eosi-



## Bibliografia

- nophilic esophagitis: Updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128:3-20.
18. Gonsalves N, Yang GY, Doerfler B, et al. Elimination diet effectively treats eosinophilic esophagitis in adults; food reintroduction identifies causative factors. *Gastroenterology*. 2012;142:1451-9.
19. Kagalwalla AF, Shah A, LiBu, et al. Identification of specific foods responsible for inflammation in children with eosinophilic esophagitis successfully treated with empiric elimination diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2011;53:145-9.
20. Abou Rached A, El Hajj W. Eosinophilic gastroenteritis: Approach to diagnosis and management. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2016;7:513-23.
21. Oh HE, Chetty R. Eosinophilic gastroenteritis: a review. *J Gastroenterol*. 2008;43:741-50.
22. Mazzarella G. Effector and suppressor T cells in celiac disease. *World J Gastroenterol* 2015;21:7349-56.
23. Parzanese I, Qehajaj D, Patrinicola F, et al.. Celiac disease: from pathophysiology to treatment. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2017;8:27-38.
24. Troncone R, Greco L, Mayer M, et al.. Latent and potential coeliac disease. *Acta Paediatr Suppl* 1996;412:10-4.
25. Lionetti E, Castellaneta S, Pulvirenti A, et al.. Prevalence and natural history of potential celiac disease in at-family-risk infants prospectively investigated from birth. *J Pediatr*. 2012;161:908-14.
26. Rubio-Tapia A, Murray JA. Classification and management of refractory coeliac disease. *Gut*. 2010;59:547-57.
27. Bickle K, Roark TR, Hsu S. Autoimmune bullous dermatoses: a review. *Am Fam Physician*. 2002;65:1861-70.
28. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, et al. The Oslo definitions for celiac disease and related terms. *Gut* 2013;62(1):43-52.
29. Watkins RD, Zawahir S. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity. *Pediatr Clin N Am* 2017; 64: 563-76.
30. Mastrototaro L, Castellaneta S, Gentile A, et al. Gluten sensitivity in children: clinical, serological, genetic and histological description of the first paediatric series. *Dig Liver Dis* 2012;44:S254-5.
31. Cianferoni A: Wheat allergy: diagnosis and management. *Journal of asthma and allergy* 2016;9:13-25.
32. Elli L, Branchi F, Tomba C, et al. Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. *World J Gastroenterol*. 2015;21:7110-9.
33. Sander I, Raulf-Heimsoth M, Düser M, et al.. Differentiation between cosensitization and cross-reactivity in wheat flour and grass pollen-sensitized subjects. *Int Arch Allergy Immunol*. 1997;112:378-85.
34. Venter C, Maslin K, Arshad SH, et al. Very low prevalence of IgE mediated wheat allergy and high levels of cross-sensitisation between grass and wheat in a UK birth cohort. *Clin Transl Allergy*. 2016;6:22.
35. Matsuo H, Dahlström J, Tanaka A, et al. Sensitivity and specificity of recombinant omega-5 gliadin-specific IgE measurement for the diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergy*. 2008;63:233-6.
36. Sander I, Rihs HP, Doekes G, et al. Component-resolved diagnosis of baker's allergy based on specific IgE to recombinant wheat flour proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:1529-37.
37. Scherf KA, Brockow K, Biedermann T, et al. Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy*. 2016;46:10-20.
38. Salcedo G, Quirce S, Diaz-Perales A. Wheat allergens associated with Baker's asthma. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2011;21:81-92.
39. Sterk PJ, Fabbri LM, Quanjer PH, et al. Standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. *Eur Respir J*. 1993;6 Suppl 16:53-83.
40. Kliewer KL, Venter C, Cassin AM, et al. Should wheat, barley, rye, and/or gluten be avoided in a 6-food elimination diet? *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137:1011-4.
41. Lombardo C, Bolla M, Chignola R, et al. Study on the Immunoreactivity of Triticum monococcum (Einkorn) Wheat in Patients with Wheat-Dependent Exercise-Induced Anaphylaxis for the Production of Hypoallergenic Foods. *J Agric Food Chem*. 2015;63:8299-306.
42. Czaja-Bulsa G, Bulsa M. What Do We Know Now about IgE-Mediated Wheat Allergy in Children? *Nutrients*. 2017;9:1-9.
43. Hiragun M, Ishii K, Yanase Y, et al. Remission rate of patients with wheat allergy sensitized to hydrolyzed wheat protein in facial soap. *Allergol Int*. 2016;65:109-11.
44. Tomizawa Y, Melek J, Komaki Y, et al. Efficacy of Pharmacologic Therapy for Eosinophilic Esophagitis: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *J Clin Gastroenterol*. 2017 Aug 4. doi: 10.1097/MCG.0000000000000878.
45. Aaltonen K, Laurikka P, Huhtala H, et al. The Long-Term Consumption of Oats in Celiac Disease Patients Is Safe: A Large Cross-Sectional Study. *Nutrients*. 2017;9(6). pii: E611. doi: 10.3390/nu9060611.



# Focus su: Progetto Mondiale Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)

Gaspare Marino

Direttore U.O.C Malattie  
dell'Apparato Respiratorio  
P.O. "S. Antonio Abate" ASP  
Trapani

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 71-78

### INTRODUZIONE

Il primo documento "Global Strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD" è stato pubblicato nel 2001. Nato per fornire un supporto scientifico, basato sulle evidenze, per la diagnosi, trattamento e prevenzione della Broncopneumopatia cronica ostruttiva, negli anni successivi è stato più volte sottoposto a revisioni. L'edizione 2011 è stata certamente molto significativa perché ha introdotto lo strumento di valutazione ABCD che oltre alla valutazione spirometrica ha

### RIASSUNTO

#### Parole chiave e sigle

- BPCO (malattia polmonare cronica ostruttiva)
- GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease)
- FEV1 • volume espiratorio massimo nel primo secondo • FVC (capacità vitale forzata)
- Comorbidità • CAT (test di valutazione della BPCO)
- LAMA (long-acting muscarinic antagonists) • LABA (long-acting beta antagonists)
- SAMA (short-acting muscarinic antagonists) • SABA (short-acting beta-antagonists)

La malattia polmonare cronica ostruttiva (BPCO) rappresenta un'importante sfida per la salute pubblica ed è una delle principali cause di morbidità e mortalità cronica in tutto il mondo. La prime linee guida GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) sono state pubblicate nel 2001 e da allora sono state sottoposte a diversi aggiornamenti, con una revisione importante nel 2011 che ha introdotto lo strumento di valutazione ABCD per guidare la terapia iniziale. Le linee guida GOLD 2017 sono una preziosa fonte di informazioni per guidare la terapia. Ogni capitolo delle linee guida GOLD 2017 è stato rivisto. La definizione della BPCO, è stata semplificata a: "La BPCO è una malattia comune, prevenibile e curabile caratterizzata da sintomi respiratori persistenti e limitazione del flusso d'aria dovuta ad anomalie delle vie aeree e/o alveolari solitamente causati da una significativa esposizione a particelle nocive o gas. La discussione sui fattori di rischio è stata ampiamente aggiornata. Le nuove GOLD 2017 separano la severità della spirometria dallo strumento di valutazione ABCD.

Nel capitolo sulla terapia sono state rivedute e rivalutate le raccomandazioni per varie terapie farmacologiche e non farmacologiche per la gestione della malattia stabile, basandosi su nuovi dati di sperimentazione clinica. C'è stato un piccolo cambiamento nella sezione sulle esacerbazioni. La definizione è stata semplificata a "peggioramento dei sintomi respiratori che comportano terapie aggiuntive". La sezione sulle comorbidità è stata ampliata in considerazione del loro impatto sul decorso della BPCO e della sua gestione.





Figura 1

Immagine di BPCO che mostra il danno polmonare causato dalla malattia



inserito i sintomi (dispnea) e le riacutizzazioni per una migliore gestione della BPCO. La nuova edizione delle linee guida GOLD del 2017 fornisce una revisione non condizionata delle evidenze attuali con un ampio aggiornamento di tutti i capitoli.

### EPIDEMIOLOGIA

Nel 2010 sono stati stimati 384 milioni di casi di BPCO nel mondo con una prevalenza globale del 11.7%. La BPCO è attualmente la quarta causa di morte nel mondo (oltre 3 milioni di persone sono decedute nel 2012) e si prevede che entro

il 2020 diventi la terza causa.

Le riacutizzazioni di BPCO sono responsabili dei maggiori costi attribuibili a tale patologia. Nell'Unione Europea i costi diretti delle malattie respiratorie sono circa il 6% del bilancio sanitario totale e la BPCO assorbe il 56% (38.6 miliardi di euro) di tali costi.

### OBIETTIVI DELLE LINEE GUIDA GOLD

- Fornire una revisione non viziata delle prove in corso per la valutazione, la diagnosi e il trattamento dei pazienti con BPCO.

- Evidenziare gli obiettivi di trattamento a breve termine (alleviare e ridurre l'impatto dei sintomi) e a lungo termine (ridurre il rischio di riacutizzazioni che possono riflettersi, nel futuro, sulla salute del paziente).
- Guidare la valutazione dei sintomi e la misurazione dello stato di salute.

### DEFINIZIONE

La Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) è una malattia comune, prevenibile e curabile caratterizzata da sintomi respiratori persistenti e limitazione al flusso aereo (Figura1) ed è dovuta a delle anomalie delle vie aeree e/o alveolari di solito causati da una significativa esposizione a particelle nocive o gas.

Questa definizione ora include in particolare i sintomi persistenti. Nei fumatori attuali di sigaretta, i sintomi (misurati dal test di valutazione della BPCO, CAT) e le esacerbazioni, possono verificarsi senza limitazione del flusso d'aria misurato con il rapporto FEV1/FVC. Questi individui non soddisfano i criteri normali per la BPCO perché non hanno una ostruzione evidente delle vie aeree all'esame spirometrico. Tuttavia, è molto probabile che possano avere ostruzione iniziale delle vie aeree e rappresentare una fase precedente della malattia e potrebbero essere necessari trattamenti. Infatti, un recente studio longitudinale ha rilevato che i fumatori con ipersecrezione mucosa (bronchite cronica) sono a rischio di sviluppare ostruzione delle vie aeree. Questa scoperta mette in evidenza la necessità di studiare la malattia nelle fasi più precoci e l'inadeguatezza



della spirometria nella definizione della diagnosi e la necessità di migliori test per valutare piccole ostruzioni delle vie aeree.

### FATTORINI DI RISCHIO

La discussione sui fattori di rischio è stata ampiamente aggiornata. Ora è riconosciuto che la scarsa crescita polmonare è un fattore di rischio per la BPCO e che qualsiasi fattore che colpisce la crescita polmonare durante la gestazione e l'infanzia, come l'esposizione al fumo di tabacco, la dieta povera e le infezioni, possono essere determinanti importanti della futura funzione polmonare.

Nelle GOLD 217 maggiore enfasi è data ai fattori di rischio ambientali diversi dal fumo di sigaretta, quali l'esposizione al fumo di biomassa, l'inquinamento atmosferico e le esposizioni professionali, che possono essere particolarmente rilevanti nei paesi a basso e medio reddito.

### DIAGNOSI

#### E VALUTAZIONE INIZIALE

La BPCO dovrebbe essere considerata in tutti i pazienti che hanno dispnea, tosse cronica o produzione di escreato, e/o una storia di esposizione a fattori di rischio per la patologia.

La spirometria è necessaria per fare diagnosi; la presenza di un FEV1 / FVC <0.70 post broncodilatatore conferma la presenza di ostruzione bronchiale persistente (Figura 2).

Gli obiettivi della valutazione BPCO sono quello di determinare il livello di limitazione del flusso aereo, l'impatto della malattia sullo stato di sa-

lute del paziente, e il rischio di eventi futuri (come le riacutizzazioni, ricoveri ospedalieri, o morte), al fine di aggiustare la terapia (Figura 3).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità raccomanda che tutti i pazienti con BPCO vadano sottoposti a screening almeno una volta soprattutto quelli provenienti da zone ad alta prevalenza del deficit di alfa-1 antitripsina. Malattie croniche concomitanti si verificano di frequente nei

pazienti con BPCO, tra cui malattie cardiovascolari, disfunzioni muscoloscheletriche, sindrome metabolica, osteoporosi, depressione, ansia, e il cancro ai polmoni.

Queste comorbidità dovrebbero essere attivamente ricercate e trattate in modo appropriato quando presenti in quanto possono influenzare la mortalità e ricoveri in modo indipendente.



Figura 2

Esecuzione spirometria

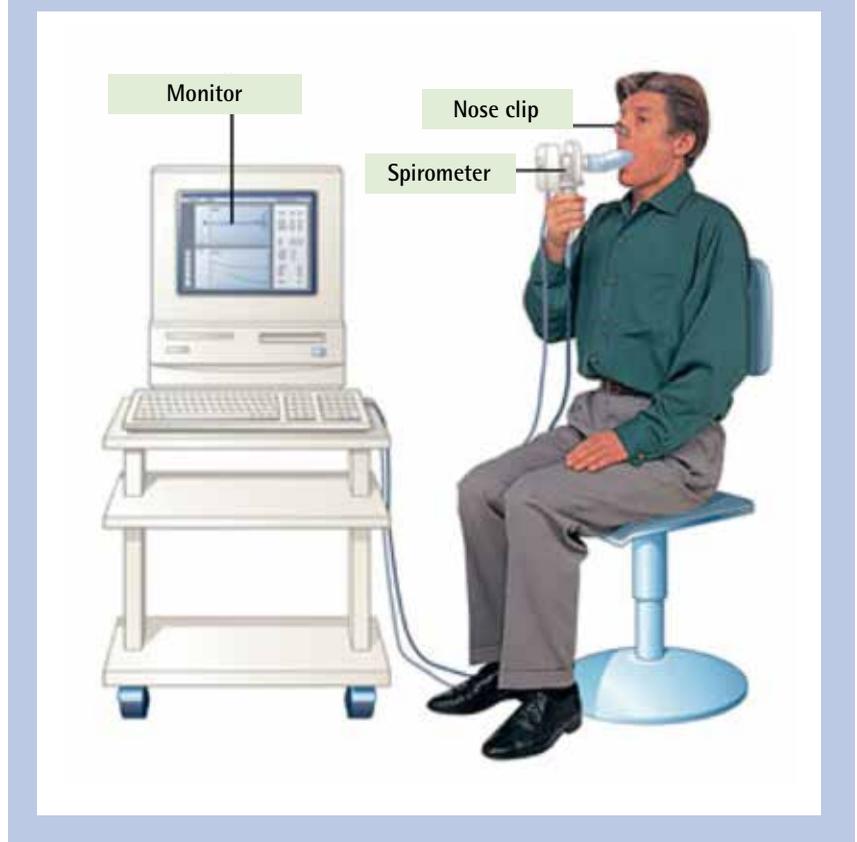
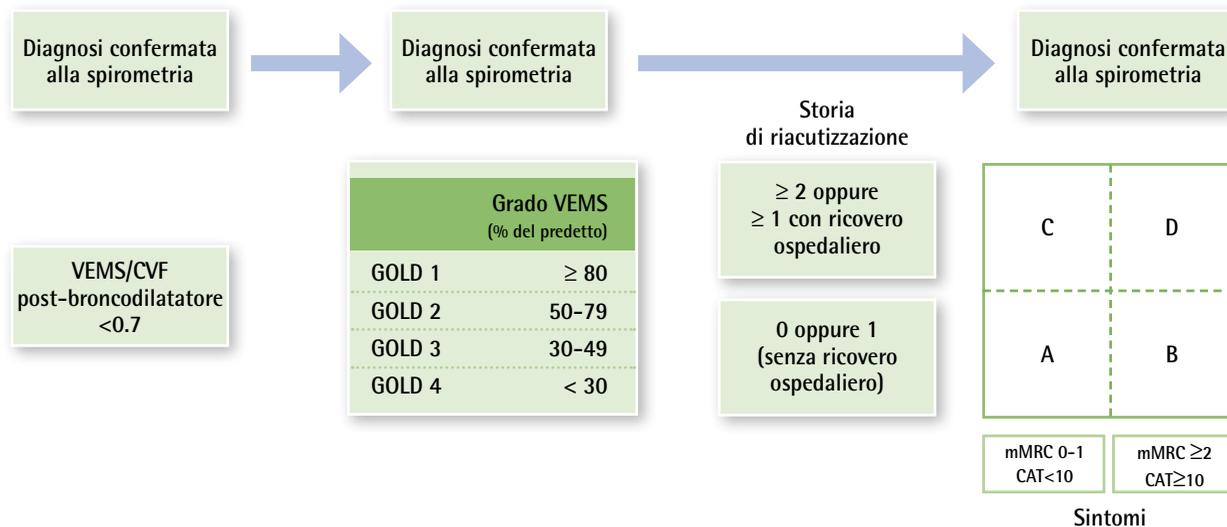




Figura 3

Strumento di valutazione ABCD



### PUNTI CHIAVE DELLA TERAPIA

Nel capitolo sulla terapia, nelle nuove linee guida, sono state rivedute e rivalutate le raccomandazioni per varie terapie farmacologiche e non farmacologiche per la gestione della malattia stabile, basandosi su nuovi dati di sperimentazione clinica. Smettere di fumare è la chiave del trattamento. La farmacoterapia e i sostituti della nicotina possono aumentare in modo significativo i tassi di astinenza dal fumo a lungo termine.

L'efficacia e la sicurezza delle sigarette elettroniche, come aiuto per smettere di fumare, sono al momento non comprovate.

### Punti chiave per l'utilizzo dei broncodilatatori

L'importanza di utilizzare correttamente i dispositivi per la terapia inalatoria e come affrontare la cattiva adesione è ora enfatizzata perché prima di concludere che una terapia è inefficace bisogna valutarne la corretta somministrazione. Il valore dei broncodilatatori a lunga durata è evidenziato con la raccomandazione di iniziare con un antagonista muscarinico a lunga durata o con un β2-agonista a lunga durata d'azione e quindi utilizzare una combinazione se i sintomi o le esacerbazioni persistono.

Le combinazioni di SABA e SAMA sono superiori rispetto ai singoli farmaci nel migliorare VEMS e sintomi (evidenza

A). I LABA ed i LAMA migliorano significativamente la funzione respiratoria, la dispnea, lo stato di salute e riducono il tasso di riacutizzazioni (evidenza A). I LAMA presentano un maggiore effetto nel ridurre le riacutizzazioni rispetto ai LABA (evidenza A) e riducono i ricoveri (evidenza B). Il trattamento di combinazione con un LABA e un LAMA aumenta il VEMS e riduce i sintomi rispetto alla monoterapia (evidenza A).

Il trattamento di combinazione LABA-LAMA riduce le riacutizzazioni rispetto alla monoterapia (evidenza B) o a una combinazione ICS/LABA (evidenza B). Il tiotropio migliora l'efficacia della riabilitazione respiratoria aumentando la per-



formance fisica (evidenza B) (Figura 4). La teofillina esercita un modesto effetto broncodilatatore nella BPCO stabile (evidenza A) che si associa a modesto beneficio sintomatologico (evidenza B). Ogni regime di trattamento farmacologico deve essere personalizzato e guidato dalla gravità dei sintomi, da rischio di riacutizzazioni, dalla comparsa di effetti collaterali, dalle comorbidità, dalla disponibilità e dal costo dei farmaci, dalla

risposta del paziente e dalle preferenze e dalla capacità di utilizzare i vari dispositivi di somministrazione dei farmaci.

**Punti chiave per l'uso dei corticosteroidi nella BPCO**

Nelle GOLD 2017 viene dichiarata una crescente incertezza del valore dei corticosteroidi inalatori ad alta dose (ICS), in considerazione delle evidenze crescenti sui loro effetti collaterali. Le analisi post

hoc hanno suggerito che i conteggi degli eosinofili nel sangue possano prevedere l'efficacia dell'ICS nel prevenire le esacerbazioni nei pazienti con BPCO, ma questo test non è ancora raccomandato nella pratica clinica di routine. Nei pazienti con più basso numero di eosinofili di sangue (<2%) vi sono prove di una scarsa risposta all'ICA e un rischio aumentato di polmonite. Ne conseguono le seguenti raccomandazioni:

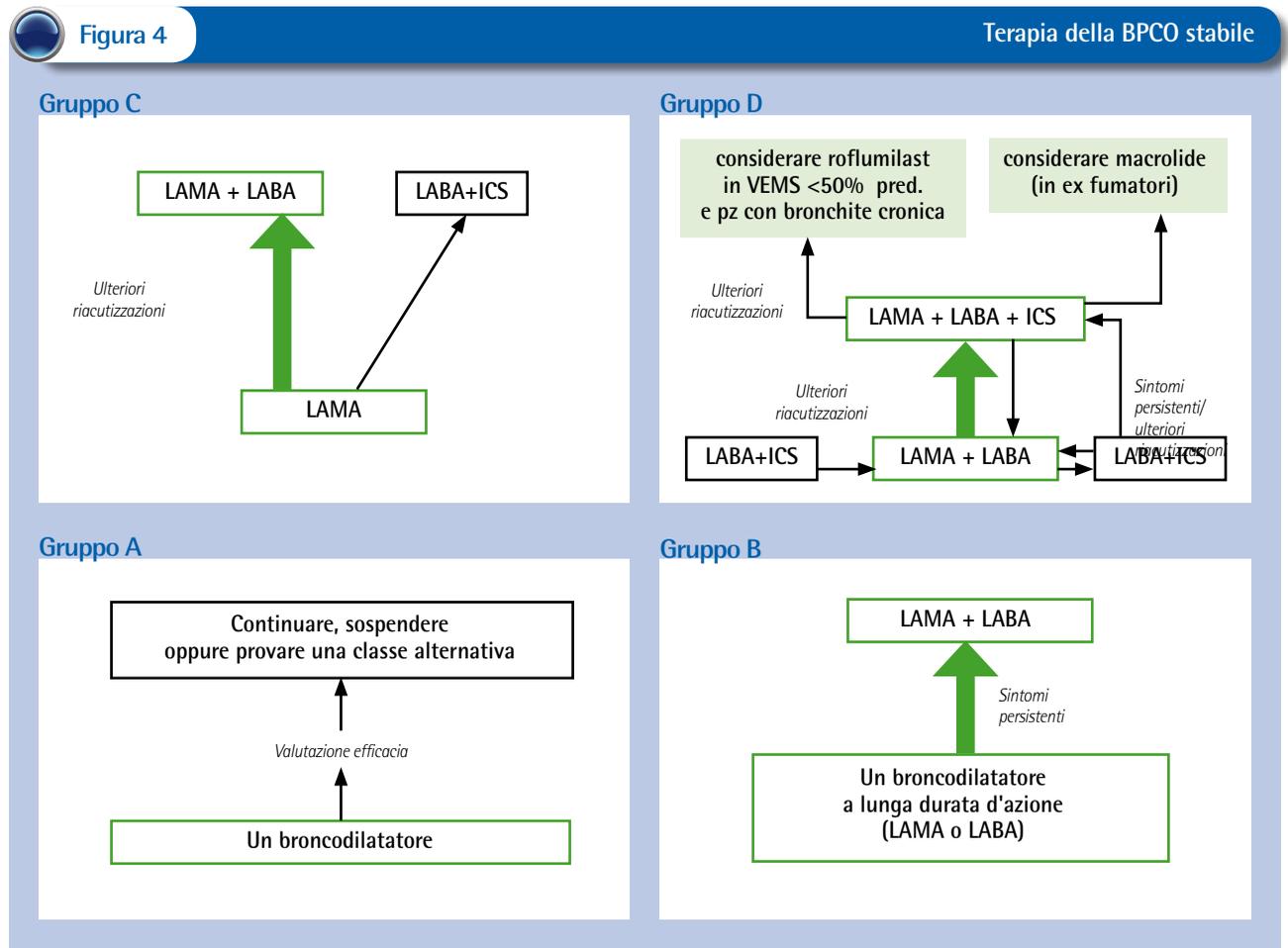




Figura 5

Trattamento non farmacologico  
Ossigenoterapia

Ipossiemia arteriosa definita come:  
 $PaO_2 < 55$  mmHg (8kPa) o  $SpO_2 < 88$  %  
oppure  
 $PaO_2 > 55$  mmHg ma  $< 60$  mmHg ( $>8$  ma  $<8.5$  kPa)  
con insufficienza cardiaca destra oppure eritrocitosi

Prescrivere ossigenoterapia e aggiustare fino a  $SpO_2 \geq 90\%$

Rivalutazione a 60 - 90 giorni per determinare se:  
l'ossigenoterapia è ancora indicata  
l'ossigenoterapia è efficace

La terapia a lungo termine con corticosteroidi inalatori non è raccomandata (evidenza A)

La terapia a lungo termine con ICS può essere considerata in associazione a LABA nei pz con storia di riacutizzazioni nonostante la terapia appropriata con broncodilatatori a lunga durata di azione (Evidenza A).

La terapia a lungo termine con corticosteroidi orali non è raccomandata (evidenza A)

### Vaccinazioni

La vaccinazione contro l'influenza è stata

precedentemente raccomandata per tutti i pazienti con BPCO, ora è raccomandata anche la vaccinazione antipneumococcica (vaccino polisaccaridico 23-valente anti-pneumococcico (PPSV23) ed il vaccino coniugato 13-valente anti-pneumococcico (PCV13) in tutti i pazienti di età  $> 65$  anni e pazienti più giovani con comorbidità significativa.

Sono state presentate ulteriori prove sul valore della riabilitazione polmonare, ma c'è ancora incertezza circa il beneficio dei programmi di assistenza integrata, che potrebbero essere più individualizzati.

### Ossigenoterapia

Per quanto riguarda l'ossigenoterapia, nei pazienti con grave ipossiemia cronica a riposo, l'ossigenoterapia a lungo termine migliora la sopravvivenza.

Nei pazienti con BPCO stabile e desaturazione moderata a riposo o da sforzo, l'ossigenoterapia a lungo termine non deve essere prescritta di routine. Tuttavia, i fattori individuali del paziente devono essere considerati quando si valuta la necessità di ossigeno supplementare (Figura 5).

### Altri farmaci

Nei pz con riacutizzazioni nonostante la terapia LABA/ICS oppure LABA/LAMA/ICS l'aggiunta di un farmaco inibitore della fosfodiesterasi-4 (PDE4) può essere considerata (evidenza B).

In ex fumatori con riacutizzazioni malgrado la terapia appropriata, possono essere presi in considerazione i macrolidi (evidenza B).

La terapia con statine non è raccomandata per prevenire le riacutizzazioni (evidenza A).

I farmaci mucolitici anti-ossidanti sono raccomandati solo in pazienti selezionati (evidenza A).

I farmaci anti-tussigeni non possono essere raccomandati (evidenza C).

I farmaci approvati nell'ipertensione polmonare primitiva non sono raccomandati nell'ipertensione secondaria a BPCO (evidenza B).

### Altre tecniche

Sono state riesaminate diverse tecniche di riduzione del volume del polmone per via endoscopica e, sebbene queste possano migliorare la funzionalità polmonare



e i sintomi nei pazienti selezionati, l'efficacia a lungo termine, le complicanze e la selezione del paziente richiedono ulteriori studi.

### Gestione delle riacutizzazioni

C'è stato un piccolo cambiamento nella sezione sulle esacerbazioni. La definizione è stata semplificata a "peggioramento acuto dei sintomi respiratori che richiede una terapia aggiuntiva".

Sono classificate come:

- a) lievi (trattate solamente con broncodilatatori a breve durata).
- b) moderate (trattate con broncodilatatori a breve durata associati ad antibiotici e/o corticosteroidi orali).
- c) gravi (i pazienti richiedono ospedalizzazioni o visite al pronto soccorso). Le riacutizzazioni gravi possono essere associate a insufficienza respiratoria acuta.

Lo scopo del trattamento delle riacutizzazioni di BPCO è minimizzare l'impatto negativo della riacutizzazione in corso, così come prevenire eventi successivi.

I beta-2 agonisti a breve durata d'azione, con o senza anticolinergici a breve durata d'azione, sono raccomandati come prima terapia per trattare una riacutizzazione.

La terapia di mantenimento con broncodilatatori a lunga durata dovrebbe essere iniziata il prima possibile, prima della dimissione dall'ospedale.

I corticosteroidi sistemici possono migliorare la funzionalità polmonare (VEMS), l'ossigenazione e ridurre il tempo di ricovero e la durata di ospedalizzazione. La durata della terapia non dovrebbe essere più di 5-7 giorni. Gli antibiotici, quando indicati, dovrebbero ridurre il tempo di recupero, ridurre il rischio di ricadute precoci, inefficacia del trattamento e durata dell'ospedalizzazione. La durata della terapia dovrebbe essere 5-7 giorni. Le metilxatine non sono raccomandate, a causa del profilo farmacologico con elevati effetti collaterali. La ventilazione meccanica non invasiva dovrebbe essere il primo modo di ventilazione utilizzato nei pazienti

con BPCO e insufficienza respiratoria acuta, che non hanno controindicazioni assolute, poiché migliora gli scambi respiratori, riduce il lavoro dei muscoli respiratori, la necessità di intubazione, riduce la durata dell'ospedalizzazione e migliora la sopravvivenza. Dopo una riacutizzazione, dovrebbero essere iniziate misure appropriate per la prevenzione di nuove riacutizzazioni.

### CONCLUSIONI

Le linee Guida GOLD 2017 rappresentano una preziosa fonte di informazioni per la gestione della Broncopneumopatia cronica ostruttiva e per l'ottimizzazione della sua terapia. Il documento, comunque, evidenzia la necessità di ulteriori ricerche e studi clinici, perché ottenuto il miglioramento della qualità della vita è opportuno esplorare nel prossimo futuro aspetti della malattia non ancora risolti e cioè la progressione della malattia e la mortalità.



## Bibliografia

1. Mathers CD, Loncar D-Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006;3(11):e442
2. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD):global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD. [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org). Accessed December 19, 2016.
3. Lange P, Celli B, Agustí A et al.-Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 2015;373(2):111-22.
4. Stern DA, Morgan WJ, Wright AL-et al.-Poor airway function in early infancy and lung function by age 22 years:a non-selective longitudinal cohort study. *Lancet* 2007;370(9589):758-64.
5. Tashkin DP, Altose MD, Bleecker E et al.-The lung health study: airway responsiveness to inhaled methacholine in smokers with mild to moderate airflow limitation. *The Lung Health Study Research Group. Am Rev Respir Dis* 1992;145:301-10.
6. De Marco R, Accordini S, Marcon A et al.-Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(7):891-7.
7. Eisner MD, Anthonisen N, Coultas D et al.-An official American Thoracic Society public policy statement: Novel risk factors and the global burden of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;182(5):693-718.
8. Salvi SS, Barnes PJ-Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009;374(9691):733-43.
9. Paulin LM, Diette GB, Blanc PD et al.-Occu-



## Bibliografia

- pational exposures are associated with worse morbidity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;191(5):557-65.
10. Gershon AS, Warner L, Cascagnette P- Lifetime risk of developing chronic obstructive pulmonary disease: a longitudinal population study. *Lancet* 2011;378(9795):991-6.
11. Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM et al.-International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Lancet* 2007;370(9589):741-50.
12. Jackson H, Hubbard R. Detecting chronic obstructive pulmonary disease using peak flow rate: cross sectional survey. *BMJ* 2003; 327(7416): 653-4.
13. Jones PW-Health status and the spiral of decline. *COPD* 2009;6(1):59-63.
14. Han MK, Muellerova H, Curran-Everett D, et al.-GOLD 2011 disease severity classification in COPD Gene: a prospective cohort study. *The Lancet Respiratory medicine* 2013;1(1):43-50.
15. Fletcher CM-Standardised questionnaire on respiratory symptoms: a statement prepared and approved by the MRC Committee on the Aetiology of Chronic Bronchitis (MRC breathlessness score). *BMJ* 1960;2:1662.
16. Sundh J, Janson C, Lisspers K et al.-The Dyspnoea, Obstruction, Smoking, Exacerbation (DOSE) index is predictive of mortality in COPD. *Prim Care Respir J* 2012;21(3):295-301.
17. Nishimura K, Izumi T, Tsukino M et al.-Dyspnea is a better predictor of 5-year survival than airway obstruction in patients with COPD. *Chest* 2002;121(5):1434-40.
18. Jones PW-Health status measurement in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001;56(11):880-7.
19. Stoller JK, Aboussouan LS-Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet* 2005; 365(9478): 2225-36.
20. WHO meeting participants. Alpha 1-antitrypsin deficiency: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1997;75(5):397-415.
21. Van Eerd EA, van der Meer RM, van Schayck OC et al.-Smoking cessation for people with chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2016;(8):CD010744.
22. The Tobacco Use and Dependence Clinical Practice Guideline Panel. A clinical practice guideline for treating tobacco use and dependence: A US Public Health Service report. *JAMA* 2000; 283(24):3244-54.
23. U.S. Public Health Service. A clinical practice guideline for treating tobacco use and dependence: 2008 update. A U.S. Public Health Service report. *American journal of preventive medicine* 2008;35(2):158-76.
24. Gross N, Tashkin D, Miller R et al.-Inhalation by nebulization of albuterol/ipratropium combination (Dey combination) is superior to either agent alone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Dey Combination Solution Study Group. Respiration* 1998;65(5):354-62.
25. Vogelmeier C, Hederer B, Glaab T et al. Tiotropium versus salmeterol for the prevention of exacerbations of COPD. *N Engl J Med* 2011;364(12):1093-103.
26. Decramer ML, Chapman KR, Dahl R et al.-Once-daily indacaterol versus tiotropium for patients with severe chronic obstructive pulmonary disease (INVIGORATE): a randomized, blinded, parallel-group study. *The Lancet Respiratory medicine* 2013;1(7):524-33.
27. Appleton S, Jones T, Poole P et al.-Ipratropium bromide versus long-acting beta-2 agonists for stable chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(3):CD006101.
28. Ram FS, Jones PW, Castro AA et al.-Oral theophylline for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;(4):CD003902.
29. Yang IA, Clarke MS, Sim EH et al.-Inhaled corticosteroids for stable chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;7(7):CD00299.
30. Manson SC, Brown RE, Cerulli A et al.-The cumulative burden of oral corticosteroid side effects and the economic implications of steroid use. *Respir Med* 2009;103(7):975-94.
31. Wongsurakiat P, Maranetra KN, Wasi C, et al.-Acute respiratory illness in patients with COPD and the effectiveness of influenza vaccination: a randomized controlled study. *Chest* 2004;125(6):2011-2015.
32. Tomczyk S, Bennett NM, Stoecker C et al.-Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among adults aged  $\geq 65$  years: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014;63(37):822-5.
33. Alfageme I, Vazquez R, Reyes N et al.-Clinical efficacy of anti-pneumococcal vaccination in patients with COPD. *Thorax* 2006;61(3):189-95.
34. Cranston JM, Crockett AJ, Moss JR et al.-Domiciliary oxygen for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(4):CD001744.



# Endocitosi del recettore ad alta affinità per le IgE sui mastociti: conseguenze funzionali

Mario Lecce,  
Rosa Molfetta,  
Rossella Paolini

Dipartimento di Medicina Molecolare  
Sapienza Università di Roma.

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 79-87

**I**l recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) è un complesso multimerico espresso costitutivamente sulla superficie dei mastociti, cellule residenti a livello dei tessuti connettivi e delle mucose implicati in numerose risposte immunitarie che includono le risposte difensive nei confronti di alcuni parassiti e le reazioni di ipersensibilità di tipo I. (FcεRI) è formato da una catena α responsabile del legame con l'IgE e dalle catene β e γ deputate alla trasduzione del segnale (1).

Le IgE prodotte dai linfociti B in risposta a parassiti o nei soggetti atopici in risposta ad allergeni, si legano in forma monomerica al recettore (FcεRI); questo legame ad elevata affinità stabilizza l'espressione del complesso in membrana, promuove sopravvivenza e proliferazione, ma non è in grado di indurre il rilascio di mediatori pro-infiammatori (1). In seguito ad un successivo riconoscimento tra le IgE legate al recettore e l'antigene multivalente si assiste ad aggregazione recettoriale con l'innesco di una serie di eventi biochimici che si basano su eventi di fosforilazione responsabili della propagazione del segnale intracellulare. L'aggrega-

### RIASSUNTO

#### Parole chiave e acronimi

- Mastociti • IgE • Recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) • Endocitosi • Ubiquitinazione • Esosomi
- Antigen Presenting Cell, APC • Adaptor protein-2, AP-2
- Bone Marrow-Derived Mast Cell, BMMC
- Dendritic Cell, DC; Endosomal Sorting Complex Required for Transport, ESCRT
- Hepatocyte growth factor-Regulated tyrosine kinase Substrate, Hrs
- Mast cells, MCs • MultiVesicular Bodies, MVBs • Ubiquitin Interactive Motif, UIM

*I mastociti sono i principali mediatori cellulari delle risposte immunitarie mediate da IgE che includono le reazioni allergiche e alcune risposte protettive ai parassiti.*

*I mastociti sono localizzati in siti anatomici strategici (in prossimità dei vasi del microcircolo a livello di cute e mucose) e in seguito alla loro attivazione, promossa dall'aggregazione del recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI), partecipano alla risposta immunitaria innata e regolano quella acquisita mediante il rilascio di mediatori proinfiammatori preformati e di nuova sintesi.*

*I meccanismi molecolari responsabili dell'attivazione funzionale dei mastociti sono controbilanciati da una serie altrettanto complessa e sofisticata di meccanismi inibitori.*

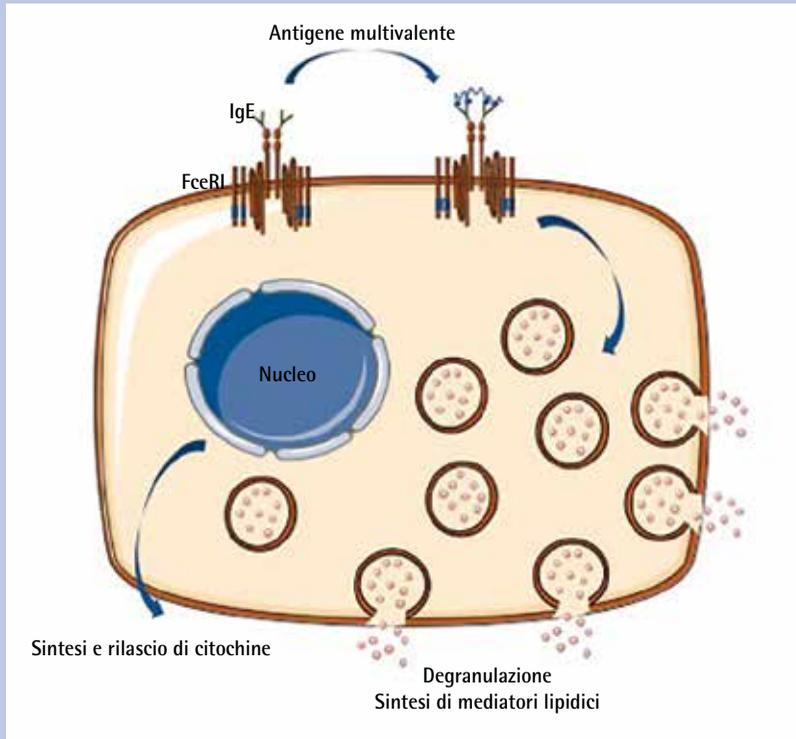
*Uno dei meccanismi deputati allo spegnimento della risposta, prevede la rimozione dei complessi recettoriali aggregati dalla superficie cellulare mediante endocitosi clatrina- e ubiquitina-dipendente.*

*Questo articolo fornisce una panoramica dei principali adattatori molecolari ed enzimi che contribuiscono a modulare la risposta immunitaria IgE dipendente perchè direttamente implicati nell'endocitosi del recettore FcεRI, ma anche perchè coinvolti nel rilascio dei complessi recettoriali aggregati in nanovesicole secrete dai mastociti, gli esosomi.*



Figura 1

Attivazione antigene-dipendente dei mastociti sensibilizzati



*Le IgE prodotte dai linfociti B in risposta a parassiti o nei soggetti atopici in risposta ad allergeni, si legano in forma monomerica al recettore (FcεRI). In seguito ad un successivo riconoscimento tra le IgE legate al recettore e l'antigene multivalente si assiste ad aggregazione recettoriale con l'innesco di una serie di eventi biochimici che culminano con il rilascio di mediatori pro-infiammatori preformati e di nuova sintesi.*

zione del recettore induce l'attivazione di una tirosina chinasi della famiglia Src, Lyn, associata costitutivamente alla catena  $\beta$  che nel giro di pochi secondi fosforila entrambe le catene  $\beta$  e  $\gamma$  creando siti di legame per la chinasi citoplasmatica Syk che viene reclutata in membrana e attivata a sua volta da eventi di fosforilazione (2,3). L'attività chi-

nasica di Syk è richiesta per la propagazione del segnale (4) che culmina con il rilascio di mediatori pro-infiammatori preformati e di nuova sintesi (Figura 1).

La complessa serie di eventi molecolari responsabili dell'attivazione funzionale dei mastociti è controbilanciata da meccanismi deputati allo spegnimento del segnale in-

tracellulare (5). Uno di essi consiste nella rimozione dei recettori ingaggiati dalla superficie cellulare mediante endocitosi.

L'endocitosi di recettori di membrana rappresenta un meccanismo generale di desensibilizzazione, ma può anche avere un'importante ricaduta sulla specificità del segnale in quanto altera la localizzazione e la composizione di complessi macromolecolari assemblati in prossimità dei recettori attivati (6).

Il recettore (FcεRI) e i complessi macromolecolari ad esso associati vengono rimossi dalla superficie cellulare preferenzialmente mediante endocitosi clatrina- ed ubiquitina-dipendente responsabile della degradazione lisosomiale del complesso internalizzato (7,8). Tale meccanismo richiede il contributo di numerosi enzimi e adattatori molecolari che, oltre a controllare il traffico endocitico del complesso recettoriale internalizzato, possono anche regolare il rilascio di piccole vescicole, chiamate esosomi. Gli esosomi si formano dagli stessi compartimenti endosomiali a livello dei quali il complesso recettoriale è trasportato e si ritiene siano in grado di mediare comunicazioni intercellulari in quanto veicolano al loro interno biomolecole provenienti dalle cellule di origine (9).

Infatti, tali molecole possono essere incorporate da cellule riceventi, anche di tipologia diversa dalla cellula di origine, modulandone positivamente o negativamente le funzioni.

Nell'ambito di tale problematica, i prossimi paragrafi descriveranno i principali enzimi e adattatori molecolari implicati sia nell'endocitosi del recettore (FcεRI) che nella biogenesi degli esosomi e quindi, in generale, nella regolazione della risposta immunitaria IgE dipendente.



## 1.1

### IL RECETTORE (FcεRI) È SOGGETTO AD ENDOCITOSI COSTITUTIVA E ANTIGENE DIPENDENTE

La densità di espressione dei recettori (FcεRI) sulla superficie cellulare dei mastociti e dei basofili controlla l'insnesco della risposta immunitaria IgE dipendente ed è a sua volta regolata da internalizzazione costitutiva o da endocitosi indotta in seguito ad aggregazione mediata da IgE e antigene multivalente (1,7).

In assenza di IgE i complessi recettoriali ricircolano continuamente tra la membrana plasmatica e compartimenti endocitici: una quota di recettori internalizzati in maniera costitutiva è soggetta ad eventi degradativi, ma la densità dei recettori espressa in membrana si mantiene costante nel tempo grazie alla contemporanea sintesi di nuove subunità recettoriali (1). Questo "turnover" è alterato in seguito al legame con le IgE: i complessi recettore/IgE non sono più soggetti ad internalizzazione e degradazione e rimangono stabilmente espressi in membrana. Inoltre, poiché il legame con l'IgE aumenta la sintesi di nuove catene recettoriali si assiste ad un progressivo accumulo del recettore sulla superficie del mastocita. Numerose evidenze hanno dimostrato che la densità dei recettori occupati dalle IgE aumenta in maniera proporzionale alla concentrazione di IgE totale presente in circolo (10-12). Quando l'IgE legata ai recettori (FcεRI) riconosce l'antigene multivalente, l'aggregazione recettoriale promuove sia segnali positivi che segnali negativi ed è il bilancio

di questi segnali a regolare l'entità e la durata della risposta funzionale dei mastociti (5). Nel corso degli anni è emerso che tirosino chinasi, tra cui Lyn e Syk, e adattatori molecolari, che includono Cbl, svolgono un ruolo cruciale nella propagazione del segnale positivo, ma anche nella rimozione dei recettori ingaggiati dalla superficie cellulare mediante endocitosi clatrina-dipendente (7,8,13) analogamente a quanto accade nella maggior parte degli immunorecettori in seguito al legame con i loro rispettivi ligandi.

L'endocitosi clatrina-dipendente prevede il reclutamento del cargo da internalizzare all'interno di fossette rivestite dalla proteina clatrina che successivamente maturano e si staccano dalla membrana plasmatica sotto forma di vescicole circondate da clatrina (CCV) (6,14). La formazione del nucleo di clatrina nei siti della membrana plasmatica che sono destinati ad essere internalizzati è coordinata da numerose proteine accessorie e adattatrici, tra cui AP-2. La scissione dalla membrana è invece guidata dalla dinamina, una GTPasi in grado di formare un polimero elicoidale intorno al collo della vescicola che si sta formando e, in seguito all'idrolisi del GTP, media il distacco dalla membrana plasmatica consentendo, infine, il rilascio della vescicola nel versante interno della cellula. Dopo il distacco dalla membrana, l'involucro di clatrina è rimosso da proteine specifiche in modo da formare una vescicola nuda con all'interno il cargo che verrà trasportato in compartimenti endocitici che sono deputati al suo smistamento, processazione e degradazione e che includono, rispettivamente, gli endosomi precoci, gli endosomi tardivi/corpi multivescicolari (MVB) e i

lisosomi (14).

Da quanto detto si evince come il processo di endocitosi abbia la capacità di regolare la trasduzione del segnale intracellulare: può interromperlo mediante l'internalizzazione dei recettori ingaggiati e la loro successiva degradazione lisosomiale, ma può anche favorire la propagazione del segnale facilitando il reclutamento e la successiva attivazione di molecole implicate nelle vie di segnalazione (6).

Nel caso del recettore (FcεRI) il nostro gruppo ha contribuito all'identificazione delle principali molecole adattatrici coinvolte nell'endocitosi antigene-dipendente del recettore aggregato e ha dimostrato come l'ubiquitinazione del recettore sia richiesta per l'internalizzazione del complesso recettoriale e per il suo trasporto nei diversi compartimenti endosomiali (8).

## 1.2

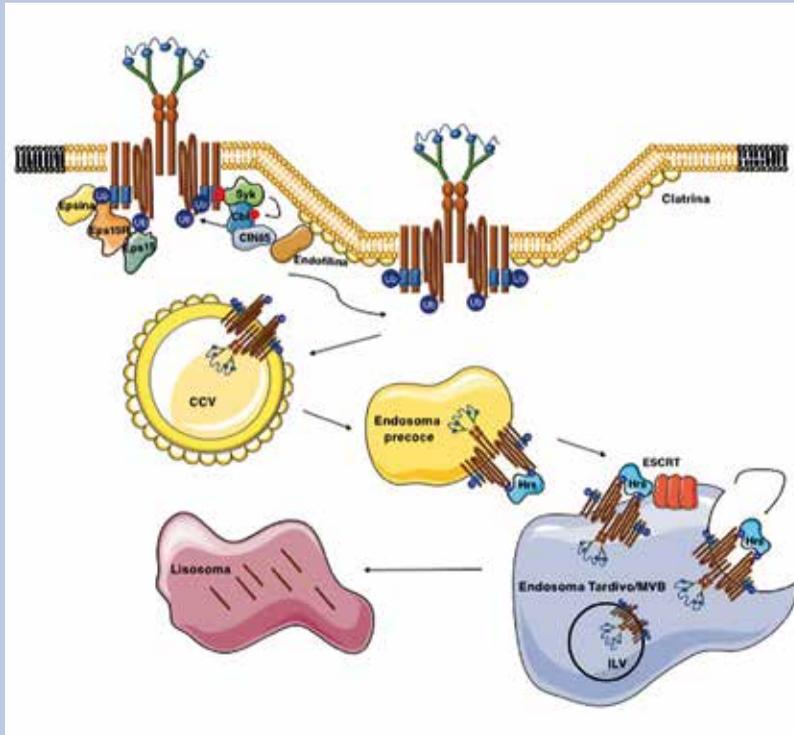
### MECCANISMI MOLECOLARI IMPLICATI NELL'ENDOCITOSI IGE/ANTIGENE DIPENDENTE

L'ubiquitinazione è una modificazione post-traduzionale reversibile in cui l'ubiquitina, un piccolo peptide conservato, viene legato ad una proteina bersaglio che verrà poi riconosciuta e degradata dal proteasoma (15). In realtà, il grado e il tipo di ubiquitinazione possono controllare il destino delle proteine modificate: mentre proteine poliubiquitinate, ossia modificate dall'aggiunta di una catena di almeno quattro molecole di ubiquitina, sono soggette a degradazione operata dal proteasoma, l'aggiunta di una sola molecola di ubiquitina (monoubiquitina-



Figura 2

Endocitosi clatrina- e ubiquitina-dipendente del recettore (FcεRI) dopo aggregazione indotta da IgE e antigene multivalente.



Dopo aggregazione recettoriale la chinasi Syk lega le subunità recettoriali fosforilate e viene reclutata in membrana come complesso preconstituito Syk/Cbl. Syk fosforila la quota di Cbl ad essa associata che si attiva e ubiquitina il recettore. Cbl svolge un duplice ruolo promuovendo anche l'assemblaggio di un complesso di proteine adattatrici, direttamente implicate nell'endocitosi clatrina-dipendente del recettore, che includono la proteina CIN85 e l'endofilina, un componente delle fossette rivestite di clatrina. Il complesso c-Cbl/CIN85/endofilina guida l'internalizzazione dei recettoriali ingaggiati e il loro smistamento nei compartimenti endocitici. Contemporaneamente il recettore ubiquitinato da Cbl può essere riconosciuto da proteine adattatrici contenenti un dominio in grado di legare l'ubiquitina: Eps15, Eps15R, Epsina e Hrs. I primi tre adattatori controllano la fase di entrata del cargo ubiquitinato, mentre l'adattatore Hrs, insieme ad altre proteine del complesso ESCRT, regola il trasporto del recettore all'interno degli endosomi tardivi/corpi multivescicolari (MVB) e nei lisosomi.

zione) a livello di proteine di membrana funziona da segnale di internalizzazione e guida il trasporto dei recettori internalizzati in vescicole endocitiche fino ai lisosomi (16). Ciò avviene grazie al legame del recettore ubiquitinato con adattatori endocitici muniti di motivi capaci di interagire con l'ubiquitina (Ubiquitin-Interacting Motif, UIM) e contemporaneamente in grado di legare anche la clatrina (17).

A tale riguardo il nostro gruppo ha dimostrato che in seguito ad aggregazione antigene-dipendente le subunità recettoriali  $\beta$  e  $\gamma$  sono soggette ad ubiquitinazione e ha identificato gli enzimi responsabili di questa modificazione covalente (13). In particolare, mediante l'utilizzo di vettori virali ricombinanti abbiamo dimostrato che l'attività ligasica di Cbl è responsabile almeno in parte dell'ubiquitinazione del recettore e mediante esperimenti di silenziamento genico, che l'attività della chinasi Syk è richiesta per consentire a Cbl di funzionare da ligasi. Il modello da noi proposto prevede il reclutamento, dopo aggregazione recettoriale, della chinasi Syk che viene reclutata in membrana come complesso preconstituito Syk/Cbl. Syk fosforila la quota di Cbl ad essa associata che si attiva e ubiquitina il recettore (Figura 2).

Oltre a funzionare da E3 ligasi, Cbl promuove l'assemblaggio di un complesso di proteine adattatrici, direttamente implicate nell'endocitosi clatrina-dipendente del recettore, che include la proteina CIN85 (Cbl-INTERACTING PROTEIN OF 85 kDa) (18). CIN85 è un membro di una famiglia di adattatori che condividono la presenza di diversi domini strutturali



in grado di promuovere numerose interazioni con altre proteine tra cui l'endofilina, un componente delle fossette rivestite di clatrina. Il complesso c-Cbl/CIN85/endofilina guida l'internalizzazione dei complessi recettoriali attivati e il loro smistamento nei compartimenti endocitici (18).

Riguardo al ruolo dell'ubiquitinazione, abbiamo dimostrato che il recettore ubiquitinato da Cbl viene internalizzato e trasportato in compartimenti lisosomiali deputati alla sua degradazione (8). L'endocitosi del recettore avviene grazie al legame con adattatori contenenti un dominio UIM: Eps15, Eps15R e Epsina controllano la prima fase di entrata del cargo ubiquitinato, mentre successivamente l'adattatore Hrs (Hepatocyte growth factor-Regulated tyrosine kinase Substrate) riconosce il recettore ubiquitinato e ne regola l'ingresso all'interno dei corpi multivescicolari (MVB) e nei lisosomi.

Nel complesso i risultati ottenuti dimostrano che Cbl, costitutivamente associata a Syk, dopo aggregazione recettoriale viene reclutata in membrana dove svolge un duplice ruolo. Funziona da adattatore consentendo la formazione di un complesso multimerico che contiene CIN85 e che promuove l'endocitosi clatrina-dipendente del recettore. Contemporaneamente Cbl, grazie alla sua attività ligasica, induce l'ubiquitinazione delle subunità recettoriali  $\beta$  e  $\gamma$ . Tale modificazione promuove l'endocitosi antigene-dipendente del complesso recettoriale mediante interazioni specifiche e sequenziali con diversi adattatori endocitici in grado di legare selettivamente i recettori ubiquitinati e

di guidarne il trasporto fino all'interno di compartimenti lisosomiali.

In particolare, Hrs svolge un ruolo chiave controllando le ultime fasi del processo: la sua presenza è necessaria per garantire l'arrivo dei complessi nei corpi multivescicolari e nel compartimento lisosomiale dove essi verranno, infine, degradati.

Risultati ottenuti di recente e non ancora pubblicati dimostrano come Hrs sia anche in grado di regolare il rilascio, da parte di mastociti murini, di nanovesicole extracellulari che originano dal compartimento endo-lisosomiale, gli esosomi.

## 2.1

### ESOSOMI: BIOGENESI E RUOLO NELLA COMUNICAZIONE INTERCELLULARE

La biogenesi degli esosomi, che richiede l'intervento di numerose proteine, ha inizio quando gli endosomi precoci maturano in endosomi tardivi e in corpi multivescicolari (Multi Vesicular Bodies, MVBs). Durante la maturazione si formano delle vescicole intraluminari (Intra Luminal Vesiculars, ILVs) in seguito all'invaginazione della membrana interna degli endosomi tardivi. L'intero processo è regolato dall'azione sequenziale di quattro complessi macromolecolari chiamati "complessi di ordinamento endosomiale necessari per il trasporto" (complessi ESCRT, Endosomal Sorting Complex Required for Transport) (ESCRT-0, I, II e III) che si formano in seguito all'assemblaggio di numerose proteine (19). Il complesso ESCRT-0, di cui fa

parte anche la proteina adattatrice Hrs, riconosce e guida il trasporto di recettori di membrana ubiquitinati nei compartimenti endocitici; i complessi ESCRT-I e II sono responsabili della deformazione e invaginazione della membrana interna; il complesso ESCRT-III guida la scissione delle vescicole intraluminari.

Non sono ancora noti i meccanismi che regolano il destino di MVBs maturi che possono fondersi con la membrana plasmatica o con i lisosomi (Fig. 3A). Nel primo caso, in maniera analoga a quanto accade durante il processo di esocitosi dei granuli secretori, la fusione ha come conseguenza il rilascio nello spazio extracellulare delle vescicole intraluminari sotto forma di esosomi.

Considerata la loro origine, è stato inizialmente ipotizzato che gli esosomi rappresentassero depositi di proteine e molecole di scarto. Studi condotti sui reticulociti avevano, infatti, dimostrato che queste cellule rilasciano esosomi per eliminare selettivamente alcune proteine, come i recettori della transferrina, che diventano inutili nei globuli rossi maturi (20).

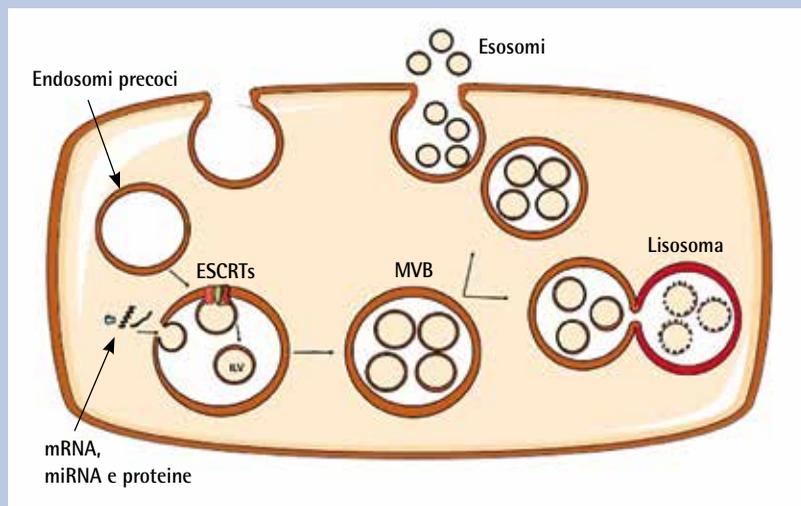
Evidenze successive hanno attribuito agli esosomi diversi ruoli sia fisiologici che patologici ed è oggi generalmente accettato il loro contributo nel regolare la trasformazione neoplastica e la risposta immunitaria (6,21,22).

Gli esosomi, infatti, sono secreti da una vasta gamma di cellule, che includono sia cellule del sistema immunitario che cellule tumorali, e si ritiene che essi funzionino da messaggeri intercellulari sia localmente che a distanza in quanto sono stati ritrovati nella maggior parte dei fluidi biologici tra cui sangue, urine, saliva,



Figura 3A

## Biogenesi degli esosomi



*I corpi multivesicolari (MVBs) possono fondersi con i lisosomi o con la membrana plasmatica determinando, rispettivamente, la degradazione delle proteine veicolate nei corpi intraluminari (ILV) o il rilascio di queste ultime sotto forma di esosomi nello spazio extracellulare.*

fluidi amniotico e fluidi dei lavaggi broncoalveolari.

Essi sono circondati da un doppio strato lipidico e contengono una grande varietà di biomolecole tra cui proteine, lipidi e RNAs (sia RNA messaggeri che micro RNA) che hanno incorporato dalla cellula che li ha rilasciati (23). La composizione molecolare degli esosomi non è, tuttavia, identica a quella della cellula di origine, suggerendo l'esistenza di meccanismi che controllano lo smistamento all'interno delle nanovesicole solo di specifiche biomolecole.

Una volta rilasciati, gli esosomi possono interagire, mediante molecole espresse sulla loro membrana, con recettori spe-

cifici presenti su una cellula bersaglio ed essere inglobati mediante fusione o endocitosi da tale cellula che pertanto acquisirà tutti i loro costituenti che potranno modificare l'espressione dei suoi geni, la modalità di trasmissione del segnale e quindi le sue funzioni(24-26).

Riguardo al ruolo svolto dagli esosomi nel contesto della risposta immunitaria, la maggior parte degli studi sono stati condotti su nanovesicole rilasciate da cellule presentanti l'antigene (APC). In particolare, è stato dimostrato che esosomi secreti da cellule dendritiche (DC) precedentemente esposte a peptidi tumorali, sono in grado di attivare linfociti T CD8+ e di promuovere in vivo la regressione del

tumore(24). Infatti, tali esosomi espongono sia molecole MHC di classe I e II che molecole costimolatorie, come CD80 e CD86 (25), indispensabili per promuovere la piena attivazione dei linfociti T e sono anche in grado di trasferire antigeni complessati alle molecole MHC ad altre cellule del sistema immunitario. In particolare, è stato dimostrato che esosomi rilasciati da DC mature espongono complessi MHC/peptide che possono essere catturati da cellule dendritiche immature che acquisiscono in tal modo la capacità di processare e presentare antigeni ai linfociti T (25).

Oltre a regolare positivamente la risposta immunitaria, gli esosomi possono anche promuovere immunosoppressione. Infatti, cellule tumorali di origine diversa sono in grado di rilasciare esosomi che esprimono diverse molecole coinvolte nell'evasione della risposta immunitaria attraverso le quali possono direttamente disattivare sotto popolazioni linfocitarie effettrici, attivare cellule immunoregolatriche in grado di sopprimere la risposta immunitaria, oppure bloccare la maturazione delle DC e quindi la loro funzione di APC (26).

## 2.2

### CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA E FUNZIONALE DEGLI ESOSOMI RILASCIATI DA MASTOCITI

Anche mastociti murini e umani sono in grado di rilasciare esosomi sia in maniera costitutiva che in seguito a stimolazione antigenica (27-29).



Gli esosomi rilasciati dai mastociti contengono dalle 200 alle 400 differenti proteine alcune delle quali hanno la potenziale capacità di regolare la risposta immunitaria. Esse, infatti, includono molecole MHC di classe II, proteine co-stimolatorie (CD86, CD40 e CD40L), molecole di adesione (LFA-1 e ICAM-1) e Tumor Necrosis Factor alpha (TNF $\alpha$ ) [29]. Inoltre all'interno di queste vescicole sono presenti sia RNA messengeri che micro RNA (23).

Gli esosomi rilasciati dai mastociti sono in grado di indurre la maturazione delle DC attraverso l'up-regolazione di varie molecole tra cui MHC di classe II, CD40, CD80 e CD86, rendendo tali cellule in grado di presentare gli antigeni ai linfociti T (30) attivano sia in vitro che in vivo linfociti T promuovendo una preferenziale risposta Th1 con produzione di IL-2 e IFN e inducono in vitro espansione e differenziamento di linfociti B (31).

Il nostro gruppo ha recentemente contribuito a caratterizzare fenotipicamente e funzionalmente gli esosomi rilasciati da mastociti murini utilizzando come modelli sperimentali una linea leucemica di mastociti di ratto, la linea RBL-2H3, e colture primarie di mastociti murini ottenute da precursori isolati dal midollo osseo (Bone Marrow-Derived Mast Cells, BMDCs). Le nanovesicole purificate dal soprannatante di coltura mediante centrifugazione differenziale hanno un diametro di circa 100 nm e contengono i tipici marcatori degli esosomi che includono tetraspannine e proteine endosomiali. Riguardo agli adattatori endocitici coinvolti nella loro biogenesi, mediante

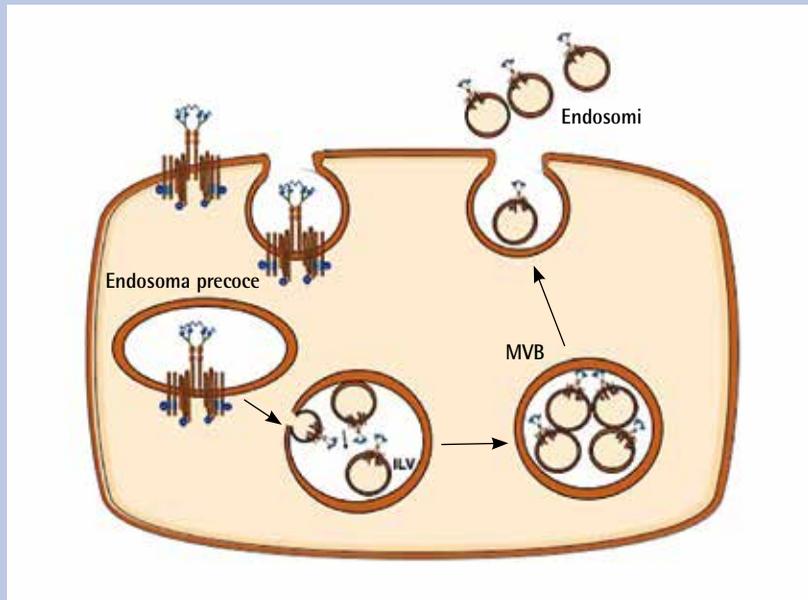
esperimenti di silenziamento genico abbiamo dimostrato che Hrs regola positivamente la produzione degli esosomi: la sua assenza non altera le dimensioni delle nanovesicole, ma compromette in maniera significativa la quantità di esosomi rilasciati dai mastociti. Inoltre, come già precedentemente riscontrato a livello della linea RBL-2H3 (29), abbiamo confermato in entrambi i modelli cellulari che gli esosomi rilasciati contengono le diverse subunità recettoriali. Il dato

sicuramente più interessante è che gli esosomi rilasciati dopo sensibilizzazione con IgE anti-dinitrofenile (DNP-HSA) e aggiunta nel terreno di DNP-HSA, oltre al complesso recettoriale espongono sulla loro superficie anche l'IgE e l'antigene multivalente.

Questi risultati suggeriscono che l'intero complesso (Fc $\epsilon$ RI)/IgE/antigene derivi dalla membrana plasmatica e venga acquisito dagli esosomi durante il processo di endocitosi. È possibile quindi ipotiz-

**Figura 3B**

**Modello che illustra la formazione e il rilascio di esosomi da parte di mastociti attivati**



*Gli esosomi rilasciati dai mastociti attivati da IgE e antigene multivalente espongono sulla loro superficie il recettore Fc RI, l'IgE e l'antigene. Ciò suggerisce che l'intero complesso venga acquisito dagli esosomi durante il processo di internalizzazione e trasporto endosomiale guidato da Hrs e dalle altre proteine del complesso ESCRT fino all'interno dei corpi multivesicolari (MVB).*



zare che una quota dei complessi recettoriali internalizzati dopo aggregazione e trasportata da Hrs nei corpi multivesicolari subisca un destino differente da quello degradativo e venga rilasciata negli esosomi (Figura 3B).

Abbiamo quindi confrontato la capacità di esosomi rilasciati costitivamente o dopo stimolazione antigenica di promuovere degranulazione di mastociti sensibilizzati dimostrando che solo gli esosomi che spongono il complesso recettore/IgE/antigene sono in grado di promuovere degranulazione in maniera dose dipendente e a livelli comparabili rispetto a quelli indotti dall'antigene multivalente.

I mastociti, a differenza delle altre cellule del sistema immunitario che dopo attivazione vanno incontro ad apoptosi, riformano i loro granuli e preservano la loro funzione effettrice. Tenuto conto di ciò è possibile ipotizzare che il rilascio di esosomi che spongono il complesso FcεRI/IgE/antigene e che possono agire anche a distanza rappresenta un potenziale stimolo autocrino finalizzato ad amplificare la risposta allergica.

Evidenze più recenti indicano come la presenza dell'intero complesso consenta la captazione degli esosomi da parte di mastociti sensibilizzati. Ciò suggerisce che anche cellule diverse dai mastociti positive per il recettore (FcεRI), come ad esempio i monociti e le cellule dendritiche di soggetti atopici (32,33), sono in grado di riconoscere esosomi rilasciati da mastociti attivati che spongono il complesso IgE/antigene. Inoltre, monociti e cellule dendritiche possono a loro volta contribuire a modulare la risposta immu-

nitaria generando nuove nanovesicole. A questo proposito, è stato dimostrato che cellule dendritiche, esposte all'allergene maggiore dell'epitelio di gatto, rilasciano esosomi in grado di stimolare la risposta allergica (34).

### CONCLUSIONE

Le patologie riconducibili a reazioni di ipersensibilità di I tipo sono sostenute da un complesso network molecolare e cellulare a livello del quale i mastociti rivestono un ruolo fondamentale. L'identificazione dei meccanismi molecolari capaci di modulare la funzione dei mastociti potrebbe favorire lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche.

Alla luce dei risultati ottenuti sul ruolo

dell'ubiquitinazione nella regolazione negativa dell'espressione del recettore (FcεRI), studi futuri potrebbero essere finalizzati a potenziare selettivamente l'attività degli enzimi coinvolti per "desensibilizzare" i mastociti di soggetti atopici.

Per quanto riguarda il contributo degli esosomi rilasciati dai mastociti attivati, i risultati ottenuti suggeriscono che tali nanovesicole possono essere utilizzate sia come marcatori di atopia sia come veicoli di farmaci in grado di inibire in modo specifico l'attivazione mastocitaria.

Sono in corso esperimenti per valutare in vivo la loro efficacia nel promuovere, in topi sensibilizzati con IgE specifiche nei confronti dello stesso antigene multivalente veicolato sulla loro superficie, la reazione allergica locale e/o sistemica.



### Bibliografia

1. Kraft S, Kinet JP-New developments in FcεRI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol.* 2007;7:365-378.
2. Field KA, Holowka D, Baird B-Compartmentalized activation of the high affinity immunoglobulin E receptor within membrane domains. *J Biol Chem.* 1997;272:4276-4280.
3. Kambayashi T, Koretzky GA-Proximal signaling events in FcεRI-mediated mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:544-552.
4. Zhang J, Berenstein EH, Evans RL et al-Transfection of Syk protein tyrosine kinase reconstitutes high affinity IgE receptor-mediated degranulation in a Syk-negative variant of rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *J Exp Med.* 1996;184:71-79.
5. Molfetta R, Peruzzi G, Santoni A, Paolini R- Negative signal from FcεRI engagement attenuate mast cell functions. *Arch Immunol Ther Exp. (Warsz)* 2007;55:219-229.
6. Doherty GJ, McMahon HT-Mechanisms of Endocytosis. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:857-902.
7. Santini F, Keen JH-Endocytosis of activated receptors and clathrin-coated pit formation: deciphering the chicken or egg relationship. *J Cell Biol.* 1996;132:1025-1036.
8. Molfetta R, Gasparrini F, Peruzzi G et al-Lipid raft-dependent FcεRI ubiquitination regulates receptor endocytosis through the action of ubiquitin binding adaptors. *PLoS One.* 2009;4:e5604.
9. Colombo M, Raposo G, Théry C-Biogenesis, Secretion, and Intercellular Interactions of Exosomes and other Extracellular Vesicles.



## Bibliografia

- Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30:255-289.
10. Malveaux FJ, Conroy MC, Adkinson NF et al.-IgE receptors on human basophils. Relationship to serum IgE concentration. *Journal Clin Invest.* 1978;62:176-181.
  11. Yamaguchi M, Lantz CS, Oettgen HC et al.-IgE enhances mouse mast cell Fc(epsilon)RI expression in vitro and in vivo: evidence for a novel amplification mechanism in IgE-dependent reactions. *J Exp Med.* 1997;185:663-72.
  12. Lantz CS, Yamaguchi M, Oettgen HC et al.-IgE regulates mouse basophil FcepsilonRI expression in vivo. *J Immunol.* 1997;158:2517-2521.
  13. Paolini R, Molfetta R, Beitz L et al-Activation of Syk tyrosine kinase is required for c-Cbl-mediated ubiquitination of FcεRI and Syk in RBL cells. *J. Biol. Chem.* 2002;277:36940-36947.
  14. Seaman MNJ-Membrane traffic in the secretory pathway: Endosome protein sorting: Motifs and machinery. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65:2842-2858.
  15. Ciechanover A, Orian A, Schwartz AL-The ubiquitin-mediated proteolytic pathway: mode of action and clinical implications. *J Cell Biochem Suppl.* 2000;34:40-51.
  16. Mukhopadhyay D, Riezman H-Proteasome-Independent Functions of Ubiquitin in Endocytosis and Signaling *Science* 2007;315:201-205.
  17. Husnjak K, Dikic I-Ubiquitin-Binding Proteins: Decoders of Ubiquitin-Mediated Cellular Functions. *Annu Rev Biochem.* 2012;81:291-322.
  18. Molfetta R, Belleudi F, Peruzzi G et al-CIN85 Regulates the Ligand-Dependent Endocytosis of the IgE Receptor: A New Molecular Mechanism to Dampen Mast Cell Function. *J Immunol.* 2005 175:4208-4216.
  19. Colombo M, Moita C, van Niel C et al-Analysis of ESCRT functions in exosome biogenesis, composition and secretion highlights the heterogeneity of extracellular vesicles. *J Cell Sci.* 2013;126:5553-5565.
  20. Johnstone RM, Adam M, Hammond JR et al-Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J Biol Chem.* 1987;262:9412-9420.
  21. Thery C, Zitvogel L, Amigorena S.-Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nature Rev. Immunol.* 2002;2:569-579.
  22. Robbins PD, Morelli AE-Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:195-208.
  23. Valadi H, Ekström K, Bossios A et al-Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9:654-659.
  24. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A et al-Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med.* 1998;4:594-600.
  25. André F, Chaput N, Scharz NE et al-Exosomes as potent cell-free peptide-based vaccine. I. Dendritic cell-derived exosomes transfer functional MHC class I/peptide complexes to dendritic cells. *J Immunol.* 2004;172:2126-2136.
  26. H Rashed M, Bayraktar E, K Helal G et al-Exosomes: From Garbage Bins to Promising Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci.* 2017;18:E538.
  27. Shefler I, Salamon P, Hershko AY et al. Mast cells as sources and targets of membrane vesicles. *Curr Pharm Des.* 2011;17:3797-804.
  28. Carroll-Portillo A, Surviladze Z, Cambi A et al-Mast cell synapses and exosomes: Membrane contacts for information exchange. *Front Immunol.* 2012;3:1-9.
  29. Groot Kormelink T, Arkesteijn GJ, van de Lest CH et al-Mast Cell Degranulation Is Accompanied by the Release of a Selective Subset of Extracellular Vesicles That Contain Mast Cell-Specific Proteases. *J Immunol.* 2016;197:3382-3392.
  30. Skokos D, Botros HG, Demeure C et al-Mast cell-derived exosomes induce phenotypic and functional maturation of dendritic cells and elicit specific immune responses in vivo. *J Immunol.* 2003;170:3037-3045.
  31. Skokos D, Le Panse S, Villa I et al-Mast cell-dependent B and T lymphocyte activation is mediated by the secretion of immunologically active exosomes. *J Immunol.* 2001;166:868-876.
  32. Maurer D, Fiebiger E, Reiningger B et al-Expression of functional high affinity immunoglobulin E receptors (Fc epsilon RI) on monocytes of atopic individuals. *J Exp Med.* 1994;179:745-750.
  33. Maurer D, Fiebiger S, Ebner C et al-Peripheral blood dendritic cells express FcepsilonRI as a complex composed of FcepsilonRI alpha- and FcepsilonRI gamma-chains and can use this receptor for IgE-mediated allergen presentation. *J Immunol.* 1996;157:607-616.
  34. Vallhov H, Gutzeit C, Hultenby K et al-Dendritic cell-derived exosomes carry the major cat allergen Fel d 1 and induce an allergic immune response. *Allergy.* 2015; 70:1651-1555.



# Immunoterapia specifica in pazienti con allergia alla Lipid Transfer Protein (LTP) della pesca

Eleonora Nucera,

Unità di Allergologia,  
Università Cattolica del Sacro Cuore  
Policlinico "A. Gemelli",  
Roma, Italia.

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 88-93

**L'**allergia agli alimenti di origine vegetale è la forma di allergia alimentare più frequente negli adolescenti ed adulti e la famiglia di alimenti maggiormente coinvolta è quella delle Rosaceae che comprende pesca, mela, albicocca, prugna, ciliegia, pera (1) (Figura 1). Gli allergeni alla base del fenomeno sono le cosiddette non specific lipid-transfer proteins (nsLTP), una famiglia di proteine monomeriche di 9-10 kDa, altamente conservate, ampiamente presenti nel regno vegetale. Il nome deriva dalla loro capacità di legare e migliorare il trasferimento di una moltitudine di differenti tipi di molecole lipidiche tra le membrane cellulari. I più alti livelli di espressione di queste molecole sono presenti nelle cellule periferiche associate alla parete batterica e con la cuticola dei tessuti epidermici. Nel caso della pesca sono localizzate principalmente negli strati esterni del frutto (buccia) anche se comunque presenti nella polpa, e svolgono una funzione di difesa verso agenti microbici e fungini.

## RIASSUNTO

### Parole chiave e sigle

- Immunoterapia specifica sublinguale (SLIT)
- Allergia alimentare • Rosaceae • Lipid Transfer Protein (LTP)
- Pru p3 • Pan-allergeni

*Le non specific lipid-transfer proteins (nsLTPs), famiglia di proteine di monomeriche di 9-10 kDa, sono presenti in molti vegetali. Per la distribuzione ubiquitaria, vengono considerate pan-allergeni e sono responsabili di reazioni a più alimenti appartenenti a famiglie botaniche differenti. Ad oggi il trattamento è ancora basato sulla dieta di eliminazione degli alimenti a cui il soggetto si è sensibilizzato. Poiché i pazienti risultano spesso poli-sensibilizzati, tali diete risultano talvolta difficili da instaurare e possono determinare gravi restrizioni dietetiche con sbilanci metabolici. Per tali motivi si rende necessario sviluppare un'immunoterapia per l'allergia alle nsLTPs*

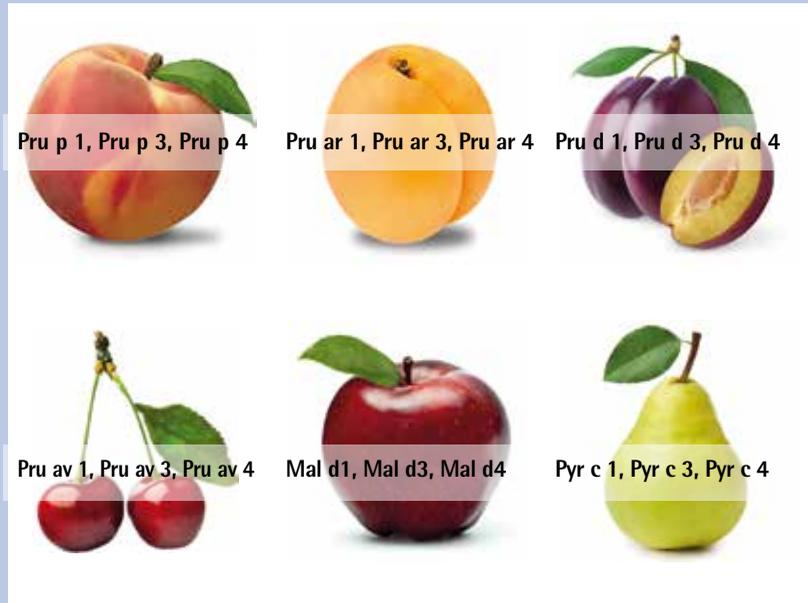
*Il nostro gruppo si è proposto di effettuare il trattamento desensibilizzante con un follow-up di almeno 2 anni per verificare l'efficacia clinica, la sicurezza, la tolleranza di un vaccino da somministrare per via sublinguale. Lo studio è un trial clinico in singolo cieco randomizzato controllato con placebo della durata di 2 anni. Sono stati inclusi nello studio 12 pazienti con reazioni avverse dopo ingestione di pesca o di altri alimenti vegetali cross-reagenti con LTP di pesca (Pru p3). Dopo due anni di trattamento il test di provocazione orale con la pesca disidratata (equivalente ad una pesca intera) è risultato negativo in 6/7 pazienti. Non sono stati riportati eventi avversi gravi durante il trattamento. Nonostante la piccola dimensione del campione abbia influenzato statisticamente i nostri risultati, i dati di questo studio esplorativo dimostrano che la SLIT per tale pan-allergene può essere un'opzione terapeutica promettente, sicura e ben tollerata.*



Successivamente è stata riscontrata la presenza di LTPs anche in specie botaniche non correlate come ad es. frutta guscio, castagna, pomodoro, frumento, mais, riso, uva (4). Per la distribuzione ubiquitaria e per l'elevata omologia delle sequenze aminoacidiche, fortemente conservate nella filogenesi di piante tassonomicamente differenti, vengono considerate pan-allergeni e sono responsabili di reazioni a più alimenti appartenenti a famiglie botaniche differenti, con una frequenza di sensibilizzazione del 70 % (2). La loro struttura tridimensionale classica viene chiamata "saxophone like" rappresentata da un cuore formato da 4 alfa-eliche stabilizzate da 4 ponti disolfuri (da qui la resistenza al calore e alla proteolisi digestiva) da cui deriva una cavità idrofoba a tunnel, in cui si verificano le interazioni con i lipidi (3) (Figure 2a/b).

La pesca sembra rappresentare il frutto più frequentemente responsabile di una sensibilizzazione allergica. Mentre nel Nord Europa spesso l'allergia è associata all'allergia al polline di Betulla, dovuta alla cross-reattività tra Bet v1 e Pru p1, note come Pathogenesis related proteins (PR-10), nell'area del Mediterraneo prevale in genere l'allergia alle Rosacee; in particolare la molecola allergenica nota come Pru p3, la prima nsLTP identificata che costituisce l'allergene sensibilizzante primario della pesca (2). Le nsLTP si trovano nella buccia della frutta in proporzione maggiore rispetto alla polpa (5) e queste osservazioni potrebbero spiegare perché alcuni individui sensibiliz-

**Figura 1** Famiglia delle rosacee e relativi allergeni



**Pru p3 (LTP):** La positività si associa al rischio di reazioni severe alla frutta.

**Pru p1 (PR-10):** la positività si associa al rischio di reazioni locali.  
Cross-reattività con Bev v1 del polline di Betulla.

**Pru p4 (profilina):** la positività si associa ad un ampio spettro di cross-reattività tra pollini e alimenti vegetali.

zati possono più facilmente tollerare i frutti senza buccia e perché si possono verificare reazioni anafilattiche dopo il contatto cutaneo con la buccia della pesca e soprattutto con la peluria che ne contiene molto di più rispetto alla buccia stessa. È stato dimostrato che l'eliminazione della peluria dalla pesca, attraverso i trattamenti effettuati prima della commercializzazione da parte dei paesi mediterranei produttori

verso i mercati per es. Nord-Europei, diminuisce l'allergenicità della pesca stessa. Allergia agli alimenti legati alla LTP sono stati descritti principalmente in Italia, Spagna e Grecia (6) e solo eccezionalmente in Europa centrale e settentrionale, dove la sensibilizzazione alla componente Prup3 è limitata (4). La loro resistenza alla digestione peptica e al calore rende le nsLTP potenzialmente capaci di indurre gravi



reazioni sistemiche fino allo shock anafilattico dopo ingestione di cibi freschi o sottoposti a processi industriali (es. succhi di frutta, birra, vino, nocciole e arachidi)(5,7). Diversi studi descrivono la forte associazione tra positività per Prup3 e la gravità delle reazioni che in genere si manifestano con sintomi

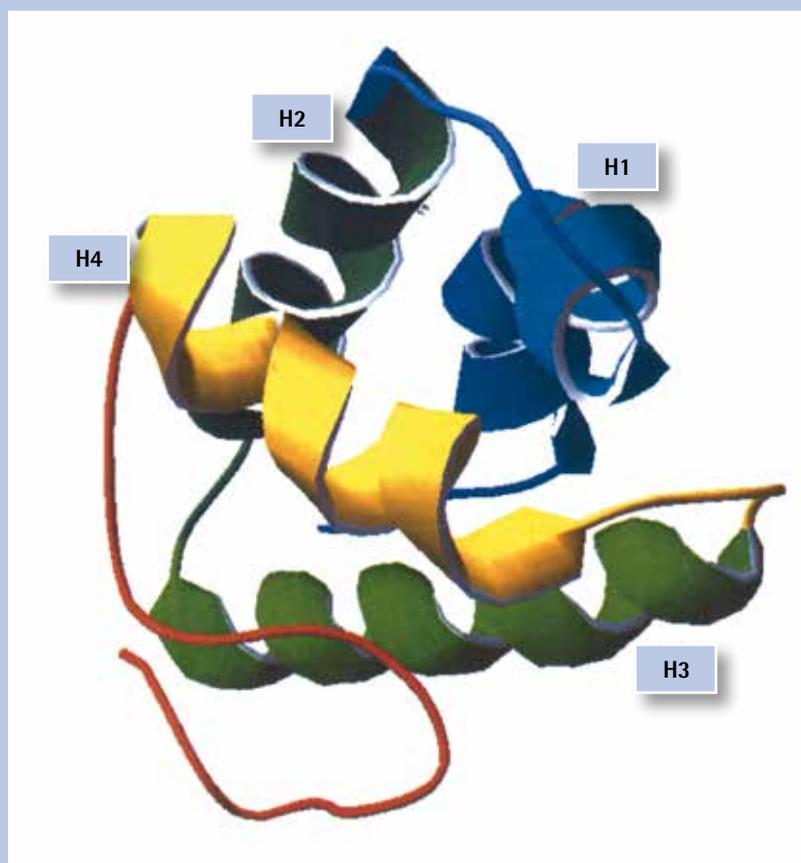
sistemici (8) (Figura 3).

Tali dati sono stati confermati da un nostro studio in cui abbiamo evidenziato un'incidenza di reazioni anafilattiche nell'84 % di tali pazienti. Inoltre abbiamo trovato un'associazione statisticamente significativa tra sensibilizzazione a nsLTP e test cutanei positivi

per mandorle, arachidi, riso, cipolla, girasole e soia (9). La pesca usualmente è il primo alimento responsabile di reazioni avverse. La CR clinica può essere attribuita ad una primaria sensibilizzazione alla Prup3 e ad una CR sierologica con nsLTPs omologhe degli altri alimenti vegetali. In base al numero di LTPs riconosciute dalle loro IgE, si possono distinguere differenti tipi di pazienti. Alcuni pazienti riconoscono soltanto LTPs delle Rosacee, altri, allergici alla castagna per una sensibilizzazione alla Cas s 8, sono sensibili al polline dell'artemisia. Analogamente, pazienti con allergia alla lattuga sono sensibilizzati al polline del platano. Esiste poi una categoria di pazienti sensibilizzati a numerose LTPs, non tutte però responsabili di manifestazioni cliniche. Alcuni di tali pazienti che riconoscono anche LTPs dei pollini di artemisia e platano, presentano una CR clinica ad un numero più ampio di alimenti (8, 10). I pazienti sensibilizzati a più LTPs hanno spesso reazioni gravi con numerosi alimenti, il cui numero tende progressivamente ad aumentare. Purtroppo, sulla base della somiglianza delle sequenze delle LTPs, non è prevedibile il rischio futuro di reazioni avverse ad alimenti responsabili di sensibilità cutanea o sierologica, ma ancora tollerati.

Questi pazienti costituiscono un gruppo ad alto rischio di anafilassi, difficile da gestire. Ad oggi il trattamento è ancora basato sulla dieta di eliminazione degli alimenti a cui si è sensibilizzati. Poiché i pazienti risultano spesso polisensibilizzati a più alimenti di origine

**Figura 2a** Struttura tridimensionale dell'allergene Pru p3 (LTP della pesca). In evidenza le 4 alfa eliche H1-H4



Tratto da: *J. Mol Biol* 2006, 356, 684-94 Pasquato N. et al.

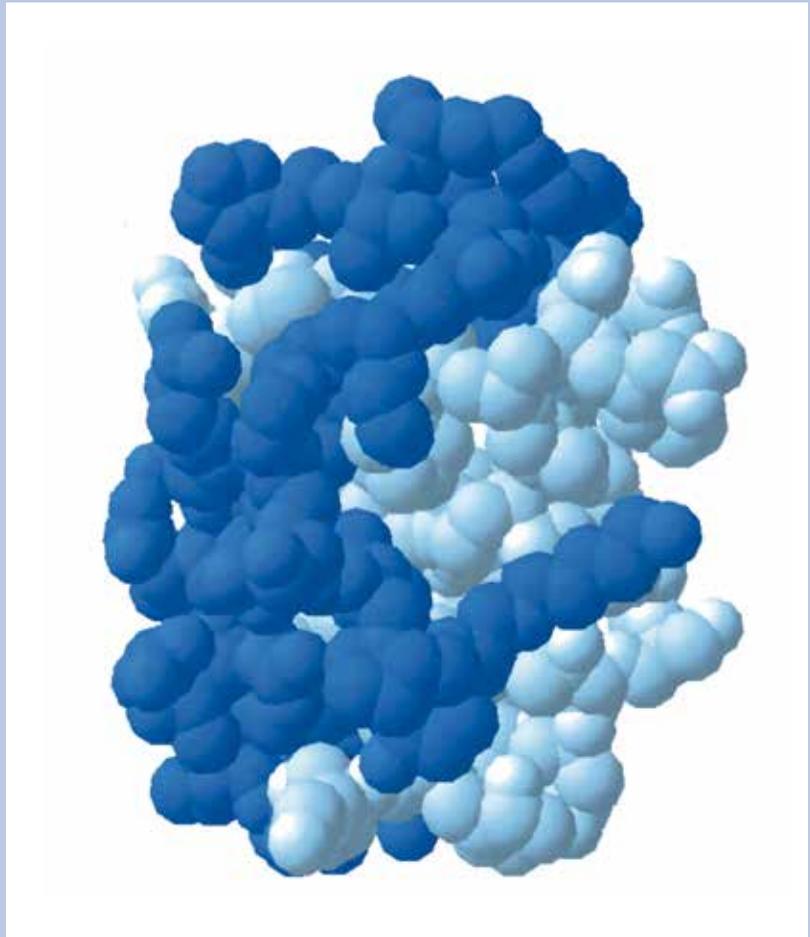


vegetale ed hanno un'alta probabilità di aumentare con il tempo lo spettro di alimenti a cui sono allergici, tali diete risultano talvolta difficili da instaurare e possono determinare gravi restrizioni dietetiche con sbilanci metabolici. Per tali motivi si rende necessario sviluppare un'immunoterapia per l'allergia alle nsLTPs. Pochi sono gli studi riportati in letteratura. Fernandez- Rivas et al. (11) ha condotto il primo trial clinico su 74 pazienti con allergia alla pesca sottoposti a trattamento iposensibilizzante specifico sub-linguale (SLIT) per 6 mesi. Tale studio ha mostrato la SLIT come un'opzione terapeutica promettente nel trattamento di tali pazienti. Pereira C. et al. (12) hanno pubblicato un case report di una donna con esame allergologico positivo per LTP e per gli alimenti cross-reagenti per essa. La paziente è stata sottoposta a SLIT per un anno e nel lavoro si è dimostrata l'efficacia e la sicurezza di tale terapia. Dato il breve follow-up (6 mesi) del primo lavoro e l'esiguità (un paziente) del campione del secondo studio, il nostro gruppo si è proposto di effettuare lo stesso trattamento con un follow-up di almeno 2 anni per verificarne l'efficacia clinica, la sicurezza, la tolleranza e le eventuali modificazioni immunologiche da essa determinate così come dimostrato per la SLIT utilizzata nel trattare l'allergia respiratoria (13, 14). Lo studio è un trial clinico in singolo cieco randomizzato controllato con placebo della durata di 2 anni. Sono stati inclusi nello studio 12 pazienti con un'età compresa tra 18 e 60 anni che hanno presentato reazioni avverse



Figura 2b

Struttura tridimensionale dell'allergene Pru p3. In blu scuro sono evidenziati i probabili epitopi IgE-binding



Tratto da: *J. Mol Biol* 2006, 356, 684-94 Pasquato N. et al.

di tipo immediato dopo ingestione di pesca o di altri alimenti vegetali cross-reagenti con LTP, con esame allergologico positivo per l'estratto di pesca titolato in LTP (skin prick test) o dosaggio delle IgE specifiche positivo (>

0.35 kU/l) per Pru p 3 e con positività al challenge test in singolo cieco per la pesca.

I pazienti sono stati randomizzati a ricevere rispettivamente un trattamento attivo (estratto di pesca titolato in



LTP) o placebo in una proporzione 2:1. Il protocollo terapeutico prevedeva la somministrazione sublinguale (SLIT) di dosi progressivamente crescenti della soluzione contenente la forma nativa di Pru p 3 (LTP) fino alla dose massima di 10 gocce che i pazienti hanno continuato ad assumere 3 volte la settimana, nella fase di mantenimento. L'efficacia della terapia è stata valutata sottoponendo tutti i soggetti a test di provocazione orale in singolo cieco con pesca disidratata prima e dopo 24 mesi dall'inizio dell'immunoterapia. La sicurezza e la tolleranza sono state valutate sulla base della comparsa di eventuali reazioni avverse da mettere in correlazione con l'assunzione della SLIT. Sette pazienti sono stati inclusi nel gruppo attivo e 5 nel gruppo placebo.

Tutti i pazienti del gruppo attivo hanno concluso il trattamento, mentre 2 dei pazienti inseriti nel gruppo placebo hanno sospeso il protocollo di studio per motivi non correlati con la sperimentazione. Dopo 24 mesi, 6 pazienti hanno ingerito una pesca intera senza reazioni avverse. L'ultimo paziente attivo ha presentato una reazione più lieve a una dose più alta rispetto alla precedente, effettuata prima dell'immunoterapia. Nel gruppo placebo, 2 pazienti hanno presentato le stesse reazioni alla stessa dose dopo il trattamento, mentre nel terzo paziente (che presentava solo sintomi orali) il test è risultato negativo. Non sono stati riportati eventi avversi gravi durante il trattamento. Per quanto riguarda le modificazioni immunologiche, i nostri risultati con-

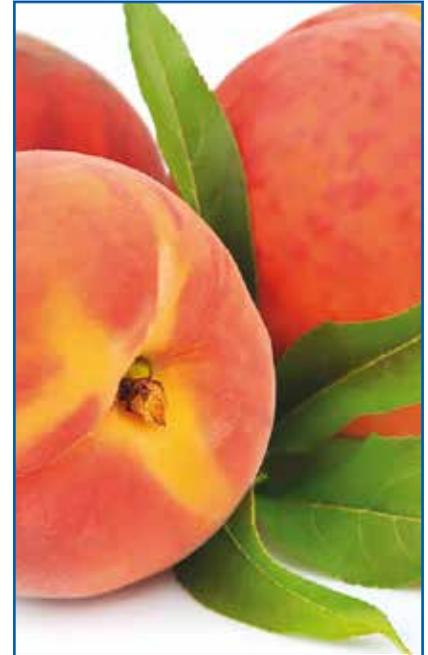
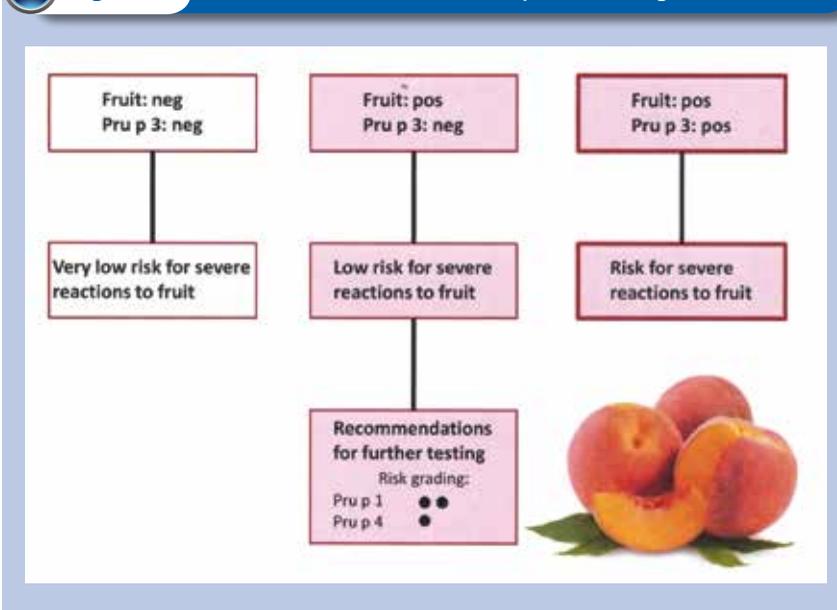


Figura 3

### Sospetto di allergia alla frutta



fermano i dati della letteratura, evidenziando una riduzione del diametro del pomfo ed un incremento delle IgE specifiche senza variazioni del valore delle IgG4 (9-11). Anche se crediamo che la piccola dimensione del campione abbia influenzato statisticamente i nostri risultati, i dati di questo studio esplorativo dimostrano che la SLIT per tale pan-allergene può essere un'opzione terapeutica promettente, sicura e ben tollerata. Infatti, dopo due anni di trattamento il test di provocazione orale con la pesca disidratata (equivalente ad una pesca intera) è risultato negativo in 6/7 pazienti. Sono però necessari ulteriori studi con un campione di pazienti più ampio per identificare il corretto dosaggio e la durata ottimale di somministrazione.



## Bibliografia

1. Osterballe M, Hansen TK, Mortz CG et al.- The prevalence of food hypersensitivity in a unselected population of children and adults. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16:567-573.
2. Fernandez-Rivas M, Bolhaar S, Gonzales-Mancebo E et al.-Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of plant food allergies. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 481-488.
3. Pastorello EA, Pompei C, Pravettoni V et al.-Lipid transfer proteins and 2 S albumins as allergens. *Allergy* 2001; 56 (Suppl 67): 45-47.
4. Rodrigues-Alves R, Lopez A, Pereira-Santos MC et al. Clinical, anamnestic and serological features of peach allergy in Portugal. *Int Arch Allergy Immunol* 2009; 149 (I): 65-73.
5. Duffort OA, Polo F, Lombardero M et al.-Immunoassay to quantify the major peach allergen Pru p 3 in foodstuffs. Differential allergen release and stability under physiological conditions. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 7738-7741.
6. Fernandez-Rivas M, Gonzales-Mancebo E, Rodriguez Perez R et al.- Clinically relevant peach lipid transfer protein, Pru p 3, in the Spanish population. *J Allergy Immunol* 2003; 112: 789-795.
7. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D et al.-Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 122: 20-32.
8. Lombardero M1, Garcia-Sellés FJ, Polo F et al.-Prevalence of sensitization to Artemisia allergens Art v 1, Art v 3 and Art v 60 kDa. Cross-reactivity among Art v 3 and other relevant lipid-transfer protein allergens. *Clin Exp Allergy* 2004;34(9):1415-21.
9. Nucera E, Mezzacappa S, Aruanno A et al.-Hypersensitivity to major panallergens in a population of 120 patients. *Postepy Dermatol Allergol*. 2015 ;32(4):255-61
10. García-Sellés FJ, Díaz-Perales A, Sánchez-Monge R et al.-Patterns of reactivity to lipid transfer proteins of plant foods and Artemisia pollen: an in vivo study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;128(2):115-22.
11. Fernández-Rivas M, Garrido Fernández S, Nadal JA. Randomized double-blind, placebo-controlled trial of sublingual immunotherapy with a Pru p 3 quantified peach extract. *Allergy*. 2009;64(6):876-83.
12. Pereira C, Bartolomé B, Asturias JA et al.-Specific sublingual immunotherapy with peach LTP (Pru p 3). One year treatment: a case report. *Cases Journal* 2009, 2: 6553.
13. Durham SR, Emminger W, Kapp A et al.-Long-term clinical efficacy in grass pollen-induced rhinoconjunctivitis after treatment with SQ-standardized grass allergy immunotherapy tablet. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125 (1): 131-138.
14. Pajno GB, Morabito L, Barberio G et al.-Clinical and immunologic effects of long-term sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mites: a double-blind, placebo-controlled study. *Allergy* 2000;55 (9): 842-9.

## FOLLOW ME



Vi trasferite e volete continuare a ricevere il **Notiziario Allergologico?** Comunicateci il **vostro nuovo indirizzo.**



per telefono

02 581981



per fax

02 8322 512



per e-mail [redazione@lofarma.it](mailto:redazione@lofarma.it) [commer@lofarma.it](mailto:commer@lofarma.it)



per posta

v.le Cassala 40, 20143 Milano



# La Sindrome da LTP esiste?

Roberto Bernardini

Direttore  
Struttura Organizzativa  
Complessa Pediatria San Giuseppe,  
Empoli, Azienda USL  
Toscana Centro

Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 94-100.

**L**e non specific Lipid Transfer Proteins (nsLTPs) sono coinvolte nella difesa delle piante contro funghi e batteri (1), sono presenti nel mondo vegetale e in forma omologa nell'ambito della famiglia delle Rosacee (in particolare negli strati interni della buccia di pesca, mela, pera, susina, ciliegia, albicocca, ecc...) ma anche in specie botaniche non correlate quali frutta da guscio, frumento, mais, riso oltre che in alcuni pollini (Olivo, Artemisia, Ambrosia, Platano). Per tale motivo queste molecole sono considerate un "pan-allergene". Hanno struttura tridimensionale con 4  $\alpha$ -eliche unite da 4 ponti disolfuro (2). Le nsLTPs sono stabili al calore e alla digestione, sono presenti negli alimenti di origine vegetale e nei pollini, principalmente in Europa del Sud, quindi anche in Italia.

Le ns-LTPs possono essere responsabili, quando presenti nei pollini e/o negli alimenti rispettivamente inalati o ingeriti da soggetti a esse allergici, della comparsa di sintomi respira-

**RIASSUNTO**

**Parole chiave**

- Non specific Lipid Transfer Proteins (nsLTP)
- Rosacee • Pesca • Pollini • Alimenti vegetali • Omologia • Allergia

*Le non specific Lipid Transfer Proteins (nsLTPs) sono proteine presenti negli alimenti vegetali (come frutta, verdura e cereali) e in alcuni pollini. Essi svolgono una funzione di difesa, rappresentando una sorta di "antibiotici naturali" che proteggono la pianta dall'infestazione da microrganismi parassiti. Vista la loro importante funzione difensiva, le LTP sono spesso contenute negli strati esterni, ad esempio nella buccia del frutto. Esse hanno struttura tridimensionale con 4  $\alpha$ -eliche unite da 4 ponti disolfuro che le rendono stabili al calore, lo sono anche alla digestione. Possono essere responsabili, quando presenti nei pollini e/o negli alimenti rispettivamente inalati o ingeriti da soggetti a esse allergici, della comparsa di sintomi respiratori e/o di quadri clinici di allergia alimentare IgE mediate. La Sindrome da LTP è dovuta a possibile omologia tra le nsLTPs di pollini e alimenti con manifestazioni cliniche dopo inalazione o ingestione di tali molecole presenti in contenitori (pollini, alimenti) diversi tra loro. Nella pratica quotidiana vengono altresì osservate situazioni nelle quali anche se presenti ns-LTP in alcuni alimenti, tali alimenti sono assunti e tollerati dal paziente, lo stesso per quanto riguarda i pollini. Pertanto è necessaria una valutazione personalizzata per quel particolare paziente e non generalizzata.*

tori e/o di quadri clinici di allergia alimentare IgE mediate anche gravi (anafilassi, anafilassi da sforzo cibo dipendente), anche se possono esse-

re presenti altri quadri clinici sempre IgE mediati quali sindrome orale allergica, orticaria da contatto, asma, orticaria/angioedema (3, 4). Si può



Figura 1

Omologia di struttura



Plant nsLTP as food and pollen allergens Saiedo G et al Clin Exp Allergy 2004, 34

riscontrare un certo livello di una omologia strutturale (Figura 1) tra le ns-LTPs di pollini e alimenti; omologia tra molecole presenti nei vari pollini, nei vari alimenti e tra molecole presenti in pollini e alimenti e vice versa: tale omologia è ritenuta potenzialmente responsabile di manifestazioni cliniche dopo inalazione o ingestione di tali molecole presenti in contenitori (pollini, alimenti) diversi tra loro; per tale motivo è stato coniato il termine di Sindrome da LTP. La sindrome da LTP è rilevabile soprattutto nel bacino del Mediterraneo e il sensibilizzante primario sembra essere l'allergene Pru p3 della pesca, mentre in Cina il sensibilizzante pri-

mario sembra essere l'allergene Art v3 del polline di Artemisia, ancora da valutare l'importanza del Can s3 (LTP presente nel fumo della cannabis sativa) (5, 6).

### SINDROME DA LTP: CARATTERISTICHE (7)

- a) potenziale gravità nelle manifestazioni cliniche da allergia alimentare IgE mediata,
- b) distribuzione geografica (più frequente nell'Europa del Sud, bacino del Mediterraneo, che nell'Europa del Nord),
- c) diversità tassonomica dei vegetali implicati,

- d) alta frequenza di sensibilizzazione con assenza di sintomi,
- e) frequente necessità di cofattori (ad esempio antinfiammatori, esercizio fisico, alcolici, infezioni) per avere manifestazioni cliniche, e questo in particolare nell'adolescente,
- d) gravità variabile, aumentata se coesiste allergia ai pollini.

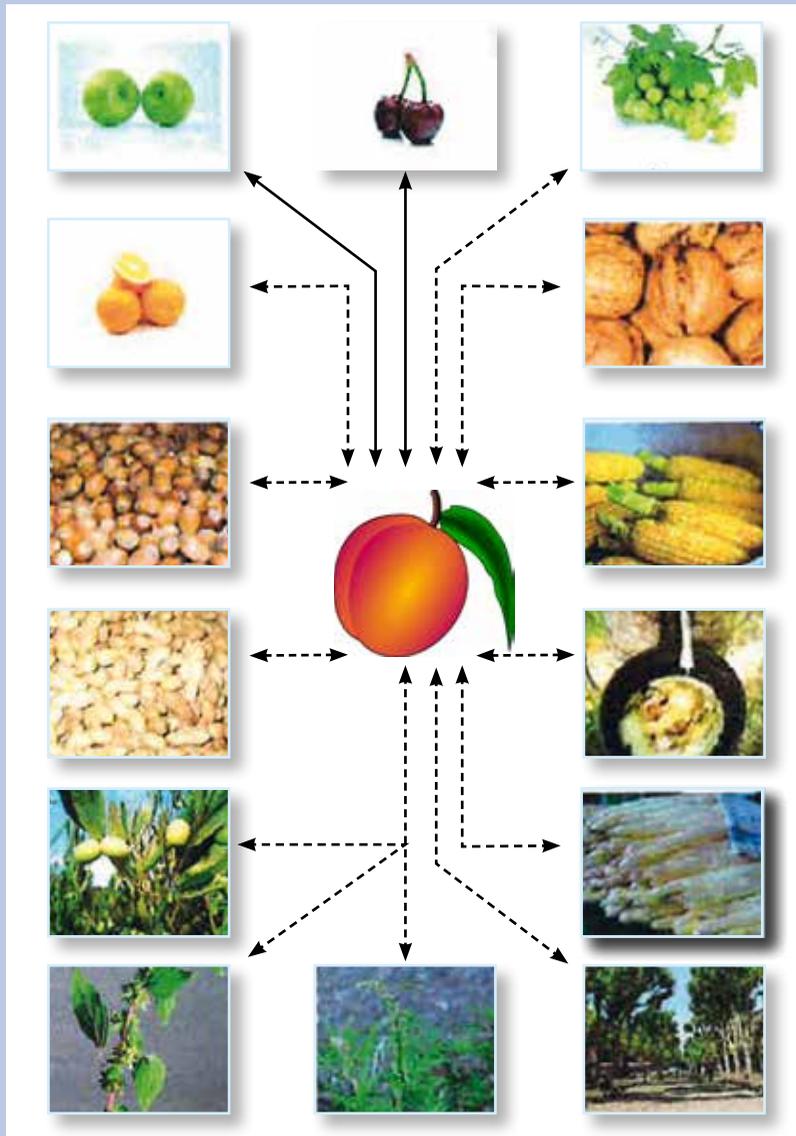
### SINDROME DA LTP: ESPRESSIONI (8)

- a) sensibilizzazione primaria verso una LTP in un alimento senza allergia IgE mediata concomitante ai pollini;



Figura 2

Ns LTP da varie fonti



Cross-reattività di molecole di nsLTP tra differenti fonti allergiche: la linea continua indica livelli elevati di cross-reattività mentre quella tratteggiata indica cross-reattività parziale

da Pastorello E. and Barder D-EAACI Molecular Allergy User's Guide 2017.

b) sensibilizzazione primaria verso una LTP in un alimento con presenza di allergia IgE mediata a uno o più pollini;

c) sensibilizzazione primaria verso una LTP di un polline.

In tutti e tre i casi, il paziente può soffrire di allergie alimentari (sia in forma primaria o come risultato di sensibilizzazione crociata), ma i sintomi possono essere molto diversi, dipendenti anche dall'avidità degli anticorpi IgE coinvolti.

In altre parole è stata prospettata la possibilità che un soggetto con sintomi, un quadro clinico allergico, legato alla presenza di una nsLTP presente in un determinato polline o in un determinato alimento, presenti sintomi, quadri clinici di tipo allergico dovuti ad altre molecole appartenenti alle nsLTP contenute in altri pollini-alimenti diversi da quelli primitivamente responsabili dei sintomi (Figura 2).

Nonostante tale omologia tra le nsLTP e quanto sopra prospettato, nella pratica quotidiana vengono altresì osservate situazioni nelle quali tali condizioni non si realizzano e in particolare situazioni nelle quali, anche se presenti nsLTP in alcuni alimenti, tali alimenti sono assunti e tollerati dal paziente.

Tutto questo ha quindi determinato una rivalutazione, nella pratica quotidiana, dell'importanza della Sindrome da LTP e a tal proposito, nella pratica quotidiana allergologica, possono presentarsi due possibili evenienze la cui analisi può aiutarci a indirizzare in modo corretto il nostro comportamento.



## PRIMA EVENIENZA

Bambino con dimostrate (tramite storia clinica e risultati dei prick test) manifestazioni cliniche (ad esempio oculorinite, asma bronchiale) o sintomi scatenati da una “fonte” (ad esempio un polline).

In seguito viene dimostrata la presenza in tale “fonte” di una nsLTP che è la molecola responsabile di tale manifestazione clinica e quindi è considerata il sensibilizzante “primario”.

A questo punto il comportamento da adottare è quello, ovviamente nel caso specifico, di una prescrizione di un’immunoterapia specifica e, per la gestione delle fasi acute, di una terapia farmacologica. Inoltre è necessario comunicare informazioni concernenti i comportamenti da adottare per limitare, nei limiti del possibile, l’esposizione al polline in questione. Altri possibili provvedimenti da adottare, dal punto di vista di una possibile presenza di una Sindrome da LTP possono essere:

- 1) ricercare nsLTPs in altre “fonti” (pollini-alimenti), anche in assenza, da un punto visto anamnestico, di manifestazioni cliniche dovute a tali “fonti”?
- 2) in seguito, se tali nsLTPs che abbiamo ricercato sono presenti in altre “fonti”, attuare provvedimenti “preventivi farmacologici-dietetici” verso tali “fonti”, anche se il paziente è al momento asintomatico per tali “fonti”?

Nella pratica quotidiana possiamo ricercare e dosare nei “pollini” solo quattro

nsLTPs, in particolare: Par j2 (Parietaria judaica; dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112), Art v3 (Artemisia vulgaris; dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112), Ole e7 (Olea europea; dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112) e Pla a3 (Platanus acerifolia; dosabile tramite ISAC 112). Sei invece sono le nsLTPs presenti e dosabili nella pratica quotidiana in “alimenti”, in particolare: Pru p3 (pesca, dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112, considerato come sensibilizzante primario in quanto contiene, a differenza delle altre LTP presenti in altre “fonti”, tutti gli epitopi leganti le IgE) (9, 10), Mal d3 (mela, dosabile tramite ImmunoCAP), Cor a8 (nocciola, dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112), Jug r3 (noce, dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112), Ara h9 (arachide, dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112), Tri a14 (grano, dosabile tramite ImmunoCAP e ISAC 112).

Omologie, come di seguito indicato tra parentesi, tra varie nsLTPs sono state analizzate da Tordesillas e collaboratori (11). Si sono rilevate molte basse tra Par j1 e Ole e7 (19%), Par j1 e Art v3 (32%), Art v3 e Ole e7 (29%), Par j1 e Pru p3 (29%), Par j1 e Mal d3 (27%), Par j1 e Tri a14 (31%), Ole e7 e Pru p3 (19%), Ole e7 e Mal d3 (24%), Ole e7 e Tri a14 (24%), Art v3 e Pru p3 (46%), Art v3 e Mal d3 (46%), Art v3 e Tri a14 (43%). Pertanto, sulla base di queste osservazioni, non sembrerebbe necessario ricercare tali molecole a meno che, ovviamente, non vi siano sintomi, manifestazioni cliniche suggestive per essere scatenate da tali molecole.

Mastrorilli e collaboratori (12) hanno dimostrato che in 1271 bambini con oculorinite allergica stagionale, 214 bambini presentavano IgE sieriche specifiche per Pru p3 >0.35 kU/l ma con assenza di sintomi da allergia alimentare evidenziando come la presenza di IgE sieriche per tale alimento non significa necessariamente presenza di sintomi dopo assunzione dell’alimento stesso. Pertanto questi 2 lavori evidenziano come, in pazienti con sintomi, quadri clinici di allergia a un polline (con presenza di una nsLTP, responsabile di tali sintomi):

- 1) non è consequenziale la presenza di sintomi, quadri clinici allergici ad altri pollini contenenti nsLTP, pertanto la ricerca di tali nsLTP deve essere guidata dalla storia clinica, dal sospetto clinico, confermato da una positività del test cutaneo, della presenza di sintomi, quadri clinici allergici;
- 2) non sono consequenziali la presenza di sintomi, quadri clinici allergici ad alimenti contenenti nsLTP;
- 3) vi possono essere nsLTPs elevate per un alimento con assenza di sintomi a tale alimento (Pru p3 >0.35 kU/l in 214 bambini asintomatici per pesca su un totale di 1271 bambini con oculorinite primaverile) come pure ad altri alimenti contenenti nsLTP.

In conclusione, in soggetti “allergici” a un polline e in particolare a una nsLTP presente in tale polline, purché non vi sia una storia clinica altamente suggestiva di comparsa di sintomi dopo esposizione ad altri pollini o assunzione



ne di altri alimenti contenenti nsLTP, non appare giustificata una loro ricerca, come del resto una dieta di esclusione solo sulla base della presenza di tali molecole in alimenti.

Tutto questo, appare mettere in discussione l'importanza e la valenza di una Sindrome da LTP.

### SECONDA EVENIENZA

Bambino con storia clinica fortemente suggestiva per manifestazioni cliniche/sintomi di tipo "allergico" scatenati da una "fonte" (ad esempio un alimento), confermate dalla positività di un prick test e/o, secondo i casi, di un prick by prick per tale alimento.

In seguito, tramite prelievo, è ricercata e dimostrata la presenza di una ns-LTP in tale alimento considerata responsabile delle manifestazioni cliniche/sintomi insorte dopo assunzione dell'alimento. A questo punto, nel sospetto di una possibile Sindrome da LTP, cosa fare nella pratica quotidiana:

- 1) ricercare nsLTPs in altre "fonti" alimentari, indipendentemente dalla storia clinica, anche in altri alimenti contenenti nsLTPs ma ingeriti e tollerati dal paziente?
- 2) se sono presenti molecole appartenenti a nsLTP, attuare provvedimenti "dietetici" verso tali "fonti", anche se il paziente assume e tollera tali alimenti?

Tordesillas e collaboratori (11) hanno dimostrato una diversità di omologie tra ns-LTPs presenti tra i vari alimenti pari tra Pru p3 (pesca) e Tri a14 (grano) al 45%, tra Pru p3 e Mal d3 (mela)

all'81% e tra Mal d3 e Tri a14 al 45%. Inoltre in 12 bambini (8 F, 4 M, età media 6.8 anni  $\pm$  5.9) che presentavano comparsa immediata di sintomi/manifestazioni cliniche (cutanee, respiratorie, apparato digerente) dopo assunzione di pesca (Pru p3 > 0.1 kU/l) afferiti presso l'ambulatorio di Allergologia della SOC Pediatria San Giuseppe (dati personali), è stato evidenziato quanto di seguito specificato:

- 1) nsLTP, Mal d3:> 0.1 kU/l in 8/12 (66.6%), sintomatici per mela 6/8 (75%);
- 2) nsLTP, Cor a8:> 0.1 kU/l in 5/12 (41.6%), sintomatici per nocciola 2/5 (40%);
- 3) nsLTP, Jug r3:> 0.1 kU/l in 4/12 (33.3%), sintomatici per noce 3/4 (75%);
- 4) nsLTP, Ara h9:> 0.1 kU/l in 6/12 (50%), sintomatici per rachide 3/6 (50%);
- 5) nsLTP, Tri a14:> 0.1 kU/l in 2/12 (16.6%), sintomatici per grano 0/2.

Pertanto anche in base alla nostra esperienza non esiste equazione tra presenza di nsLTP e presenza di sintomi, inoltre la ricerca delle nsLTPs deve essere fatta solo in caso di un sospetto clinico di allergia.

Del resto Novembre e collaboratori (13) hanno evidenziato in una popolazione pediatrica come la presenza di IgE specifiche per Pru p4 e Pru p1 è significativamente più frequente nei pazienti con sindrome orale allergica, mentre IgE specifiche per Pru p3 non sono state trovate significativamente più frequenti nei pazienti con sintomi

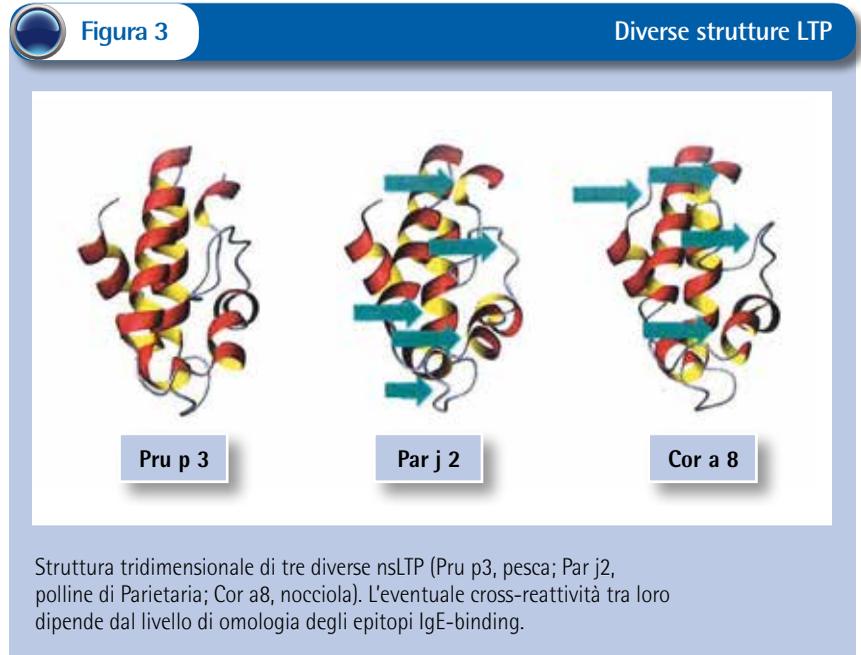
sistemici (SS). Pascal e collaboratori (14) hanno evidenziato, sempre in una popolazione pediatrica, come la sensibilizzazione nei confronti di una specifica nsLTP vegetale non sempre si associa alla comparsa di sintomi dopo ingestione dell'alimento: infatti il 69% e il 63% dei soggetti che tolleravano pesca e noce, erano sensibilizzati rispettivamente a Pru p3 e Jug r3. E' utile ricordare che la LTP è presente in maggiore quantità nella buccia e negli strati superficiali degli alimenti e in misura minore nella polpa, mentre per quanto riguarda pomodoro, kiwi e arancia le LTP sono presenti nella polpa e anche nei semi.

In altre parole, in pazienti con sintomi/manifestazioni cliniche da allergia IgE mediata a un alimento confermata dalla presenza di un test cutaneo positivo e con presenza di nsLTP in tale alimento, non è consequenziale la presenza di allergia ad altri alimenti contenenti nsLTPs, perché vi possono essere nsLTPs elevate per altri alimenti con assenza di sintomi a tali alimenti. Pertanto ciò che deve sempre guidare nella ricerca delle molecole allergeniche e in questo caso delle nsLTPs è la storia clinica che deve essere molto suggestiva di un sospetto di "allergia". Inoltre non appare corretto porre a dieta rigorosa o trattare un paziente, anche se asintomatico, solo perché presenta una nsLTP. In altre parole non è sufficiente essere sensibilizzato, e quindi essere IgE positivo, ad una LTP (per es. Pru p3) per avere IgE specifiche nei confronti di altre nsLTP.

Per es. non è stata finora evidenziata



una cross-reattività tra la positività al Pru p3 e la positività al Par j2. Non c'è da stupirsi visto lo scarso livello di omologia tra le due nsLTP (Figura 3). Inoltre in un bambino con storia clinica grave (ad esempio anafilassi) dopo assunzione di un alimento positivo poi al prick test (con confermata poi che la molecola scatenante è stata una nsLTP) e che assume e tollera altri alimenti deve ovviamente evitare l'assunzione dell'alimento responsabile di anafilassi oltre che avere a disposizione adrenalina auto iniettabile. In tal caso appare utile eseguire test cutanei (prick test con estratti del commercio, prick by prick con alimenti freschi) per altri alimenti contenenti LTP (ad esempio arachide, noce, nocciola, mandorla, pesca, kiwi, mela, grano, sedano) e ricercare le LTP di tali alimenti (ImmunoCAP o ISAC). Se i test sono negativi si può consigliare di continuare dieta libera per tali alimenti. Anche se i test risultano positivi il paziente può continuare ad assumerli in quanto è noto che non è corretto porre a dieta soggetti che siano solo sensibili, però in tal caso sono utili alcune raccomandazioni quali evitarne l'assunzione prima di sforzi fisici o in concomitanza alla assunzione di antiinfiammatori non steroidei in quanto cofattori che potrebbero "slatentizzare" un quadro di allergia alimentare. Auspicabile sarebbe anche evitarne l'assunzione in maniera combinata e sbucciarli. Se invece il bambino ha presentato solo una reazione locale (orticaria da contatto, sindrome orale allergica) ed è stata accertata la presenza di IgE



sieriche specifiche per tale alimento come di una LTP responsabile del quadro clinico, se ne può continuare l'assunzione anche se non abbiamo la certezza che dopo la sua assunzione, non compaiano in seguito reazioni gravi. Del resto però sappiamo anche che una continua assunzione dell'alimento ne potrebbe favorire la tolleranza.

Del resto se un paziente è solo sensibile a una LTP presente in un certo alimento, non è consigliabile una dieta di esclusione, al limite se presenti elevati livelli di IgE sieriche specifiche per nsLTP è utile evitare i fattori "slatentizzanti" un'allergia alimentare (sforzi fisici, assunzione di antinfiammatori non steroidei).

Può anche esser utile, per scrupolo,

masticare e tenere per 1-2 minuti in bocca piccole quantità di alimenti potenzialmente sospetti prima di ingerirli al fine di evidenziare l'insorgenza di un'eventuale sindrome orale che però non è predittiva di reazione grave

### CONCLUSIONI

Varie sono le situazioni che si possono verificare in ambito allergologico riguardo alla presenza di nsLTP e ciascuna di queste deve essere valutata singolarmente, prospettando al genitore del bambino le varie eventualità che si possono verificare, per evitare di amplificare e creare nella famiglia un problema che molto spesso non è presente.



### Bibliografia

1. Douliez JP, Michon T, Marion D-Steady-state tyrosine fluorescence to study the lipid-binding properties of a wheat non-specific lipid-transfer protein (nsLTP1). *Biochim Biophys Acta* 2000;1467:65-72.
2. Breiteneder H, Mills C-Nonspecific lipid-transfer proteins in plant foods and pollens: an important allergen class. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:275-9.
3. Romano A, Scala E, Rumi G-Lipid transfer proteins: the most frequent sensitizer in Italian subjects with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1643-53.
4. Pastorello EA, Farioli L, Stafylaraki C et al.-Wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis caused by a lipid transfer protein and not by omega-5 gliadin. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;112:386-7.
5. Van Gasse AL et al. *Handbook of Cannabis and Related Pathologies* 2017,cap 54,pp. 517-5.
6. Ebo DG, Swerts S, Sabato V et al.-New food allergies in a European non-Mediterranean region: is Cannabis sativa to blame? *Int Arch Allergy Immunol* 2013;161(3):220-8.
7. Muñoz-García E, Luengo-Sánchez O, Moreno-Pérez N et al-Lettuce Allergy Is a Lipid Transfer Syndrome-Related Food Allergy With a High Risk of Severe Reactions. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2017;27(2):98-103.
8. Zuidmeer L, van Ree R-Lipid transfer protein allergy: primary food allergy or pollen/food syndrome in some cases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007;7(3):269-73.
9. Schulten V, Nagl B, Scala E et al.-Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein from peach, dominates the immune response to its homolog in hazelnut. *Allergy* 2011;66:1005-13.
10. Egger M, Hauser M, Mari A et al.-The Role of Lipid Transfer Proteins in Allergic Diseases. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010;10:326-35.
11. Tordesillas L, Sirvent S, Díaz-Perales A et al. Plant Lipid Transfer Protein Allergens: No Cross-Reactivity between Those from Foods and Olive and Parietaria Pollen. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;156:291-296.
12. Mastrorilli C, Tripodi S, C. Caffarelli et al.-Italian Pediatric Allergy Network (I-PAN). *Allergy* 2016;71(8):1181-91.
13. Novembre E, Mori F, Contestabile S et al.-Correlation of anti-Pru p 3 IgE levels with severity of peach allergy reactions in children *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;108(4):271-4.
14. Pascal M, Vazquez-Ortiz M, Folque MM et al.-Asymptomatic LTP sensitisation is common in plant-food allergic children from the Northeast of Spain. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2016;44:351-8.

**Lofarma**  
è social

seguici su:



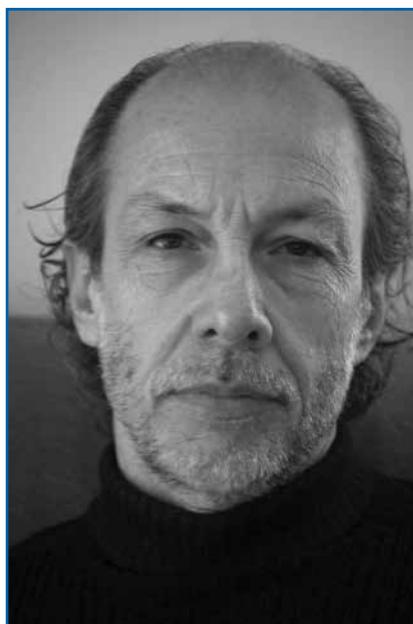


## INTERVISTA

Dr. Musarra



# Perché è nato il progetto "AllergicaMente"?



Not Allergol 2017; vol. 35: n. 2-3: 101-105.

a cura di Gianni Mistrello

italiano, ma finora mai realizzata per una serie di motivazioni che riassumei in questi concetti: difficoltà a condividere un progetto tra attori diversi, insufficiente percezione della grave crisi che la Specialità sta attraversando, necessità di investimenti economici significativi ed infine una sorta di immobilismo misto a rassegnazione.

Sono da sempre convinto che per porre all'attenzione dei decisori pubblici il problema dell'Allergologia in Italia (insufficiente numero di strutture in relazione alla prevalenza della patologia, futuro della specialità e dei giovani specialisti, accesso alle cure dei pazienti allergici, in particolare quelli con allergie gravi) fosse necessario creare dapprima un grande movimento di opinione sull'argomento, basato su conoscenza e corrette informazione e conoscenza.

Ovviamente la realizzazione di tale obiettivo presuppone un sapiente uso di tutti i mezzi di comunicazione on line e off line per chiarire le reali dimensioni del problema, i corretti per-

corsi diagnostico-terapeutici, le possibili azioni preventive, il ruolo specifico ed insostituibile dell'allergologo.

Sulla base di queste considerazioni l'AAIITO ha deciso di promuovere un ambizioso e coraggioso progetto, il cui nome è "AllergicaMente: piano d'azione per una allergologia sociale", che ha come simbolo una pianta con cinque foglie, ognuna delle quali rappresenta un gruppo di allergie (da inalanti, da alimenti, da farmaci, da imenoterici, cutanee).



 **Chiediamo al Dr. Musarra, Presidente dell'Associazione Allergologi e Immunologi Italiani territoriali e Ospedalieri (AAIITO), perché è nato il progetto "AllergicaMente"?**

 L'idea di una grande campagna di sensibilizzazione sulle malattie allergiche nasce da una esigenza indubbiamente avvertita da tempo da tutte le componenti del mondo allergologico



Ad ogni “foglia” lavora una task force di allergologi che spiega, aggiorna, distingue ciò che è attendibile da ciò che non lo è, focalizzando l’attenzione sui punti di particolare interesse e criticità.

Tutto questo attraverso il sito Allergicamente.it, la relativa pagina facebook, twitter, youtube, flyer illustrativi per i pazienti e la popolazione generale ed una campagna stampa, avviata nel mese di ottobre 2017, con articoli richiesti o proposti, e che ha già superato le 100 uscite tra quotidiani, settimanali e riviste on line.

Prevediamo inoltre molte iniziative per portare “AllergicaMente” tra la gente attraverso incontri con la popolazione organizzati in collaborazione con Associazioni, Club Service ed Amministrazioni locali. Tali iniziative sono già partite a Bergamo con una serie di incontri denominati “Bergamo pensa Allergicamente” ed a breve saranno realizzate in numerose altre Città e Comuni.

Ad ulteriore sostegno della campagna, che contiamo di portare avanti fino a tutto il 2019, è stata inoltrata richiesta di patrocinio al Ministero della Salute ed ai Segretariati sociali delle principali reti televisive.

### Cosa prevede “AllergicaMente” oltre l’informazione?

 Oltre all’azione di informazione e di diffusione dei percorsi di conoscenza per opinione pubblica, pazienti, classe medica e decisori pubblici il progetto prevede per il 2018 alcuni eventi speciali di sensibilizzazione. Tra questi le giornate di screening allergo-

logico dedicato ai parlamentari italiani, una giornata di screening allergologico in piazza per i cittadini, un evento istituzionale AAIIITO in Senato, la realizzazione di spot sulle gravi allergie per il pubblico televisivo attraverso il canale dei segretariati sociali dei principali gruppi televisivi italiani.

Queste attività mirano a promuovere la sensibilizzazione e la responsabilità sociale, consolidare ed espandere le alleanze con i principali stakeholders, primi tra tutti le Associazioni dei pazienti e le principali Aziende del settore, a compiere ove possibile delle vere e proprie azioni di lobbying per sostenere la prevenzione, la diagnosi e la cura delle malattie allergiche, con particolare riguardo alle forme gravi, per ribadire la necessità di una uniformità di accesso alle cure per i pazienti residenti nelle diverse regioni italiane e per riaffermare la unitarietà culturale e trasversale della disciplina Allergologica.

### Quali sono i principali obiettivi che vorreste vedere realizzati?

 Quando, molto tempo fa, iniziai a fare l’allergologo ricordo che bastava possedere un paio di valigette di allergeni e qualche scatola di lancette per prick test per sentirsi padroni della situazione e pronti ad affrontare qualunque potenziale allergico ci trovassimo di fronte.

Oggi l’allergologia è una scienza complessa ed anche i quadri clinici sono spesso complessi. I test diagnostici, sempre più sensibili e specifici, consentono di definire il profilo allergologico

dei nostri pazienti e, di conseguenza, la terapia diventa uno strumento di sempre maggiore precisione. Se una volta l’approccio alle malattie allergiche, più semplice per quelle che erano le conoscenze dell’epoca, era anche appannaggio di altre branche della medicina, oggi ciò non è più possibile se non si vuol correre il rischio di prestazioni ad elevato livello di inappropriata o adeguata soltanto alle allergie più frequenti o ritenute più “facili”.

Per principio, ogni paziente con il sospetto di una determinata patologia deve potersi rivolgere allo specialista con specifica formazione e conoscenza in quel settore della medicina. Questo, nel caso delle malattie allergiche, non può che essere l’allergologo che non è uno specialista d’organo ma è lo specialista delle malattie allergiche in tutte le loro espressioni cliniche. La scarsa conoscenza di tale peculiarità spinge spesso i pazienti a peregrinare tra vari specialisti prima di giungere ad una diagnosi e terapia corretta, con conseguente incremento dell’onere economico da essi sostenuto. Si calcola infatti che circa il 50% degli allergici non riceve tuttora una diagnosi adeguata e di conseguenza una terapia idonea. Questo dato è facilmente spiegabile se si considera che, non solo a livello mediatico ma anche nella pratica clinica, ormai molti medici, indipendentemente dalla loro specializzazione, si occupano impropriamente di allergologia.

Ma se da un lato appare fondamentale il ruolo dell’Allergologo, dall’altro si segnalano poche strutture pubbliche, pochi specialisti territoriali e lunghe



liste d'attesa. Purtroppo ad allungare ulteriormente le liste ci pensa quel 30% circa di richieste di visite allergologiche di pazienti che di allergico non hanno nulla ma che sono convinti, ed a volte lo sono anche i loro medici, del contrario.

A rendere ulteriormente paradossale la situazione contribuisce il nuovo Decreto sui Livelli Essenziali di Assistenza il quale presenta delle importanti novità che vanno verso una completa valorizzazione della figura dell'allergologo. Infatti per la prima volta lo specialista allergologo è l'attore principale e, per le prestazioni a maggior impatto assistenziale, esclusivo del percorso assistenziale in campo allergologico. Ma questa esclusività rischia di diventare un fatto puramente teorico se l'impiego degli allergologi nelle strutture pubbliche continua ad essere un fatto quasi incidentale, fuori da qualsivoglia sistema di programmazione.

Questo contesto di stentato sviluppo organizzativo che mette in discussione l'utilità della figura professionale dell'allergologo, vanifica il progresso delle conoscenze scientifiche e non riflette l'impatto epidemiologico delle malattie allergiche.

Quindi uno degli obiettivi principali che AAIITO e AllergicaMente si prefiggono è far conoscere i punti di forza della Specializzazione in Allergologia che sono, tra gli altri, i dati epidemiologici e l'impatto socio-economico, l'interessamento di tutte le fasce di età, le patologie potenzialmente fatali, la prevalenza di impiego di un setting a bassa intensità tecnologica nel quale



il fattore determinante è rappresentato dallo specialista con le sue competenze specifiche.

E' dunque improrogabile la programmazione di un piano assistenziale per le malattie allergiche che preveda strutture allergologiche e specialisti ambulatoriali sul territorio per rispondere ad una domanda di cure alla quale, attualmente, non si sta provvedendo a dare alcuna risposta, nemmeno inadeguata.

Non abbiamo la presunzione e tanto meno la certezza di ottenere i risultati sperati, in particolare in un momento difficile qual è quello attuale, ma la convinzione di doverci provare, con l'aiuto di tutti coloro che vorranno darcelo, quella sì.

**Si tratta senza dubbio di un progetto atto a sostenere il ruolo dei giovani specialisti. Chiediamo a Maria Beatrice Bilò, Past-President dell'AAIITO, qual è la si-**

**tuazione dei giovani allergologi al momento attuale?**

Una recente indagine eseguita dalla "Sezione Giovani Specialisti AAIITO" ha confermato una situazione già nota e molto allarmante. Su 180 giovani medici che si sono specializzati in Allergologia ed Immunologia Clinica negli ultimi 5 anni, più del 50% NON si occupa di Malattie Allergiche, ma opera in altri ambiti (come ad esempio Pronto Soccorso, Medicina Interna, Medicina Trasmfusionale). Questo fatto non sembra dipendere dal tipo di formazione universitaria, in quanto l'80% degli specialisti in oggetto riferisce di essersi formato in queste branche solo dopo aver concluso la specialità.

Se poi andiamo a valutare i giovani che si occupano di Allergologia, la maggior parte di questi lavora con contratti libero-professionali o borse di studio in Aziende Ospedaliere, con contrat-



ti libero-professionali per sostituzioni SUMAI sul territorio (con ridotto numero di ore). Meno di 4 giovani su 10 ha quindi un contratto di assunzione (a tempo determinato o indeterminato) che nella stragrande maggioranza dei casi prevede assegnazione principale in Medicina o PS e solo secondariamente l'attività allergologica. Questo comporta che la pratica allergologica sia per lo più subordinata alle esigenze di reparto e delle turnazioni, rendendo impossibile in molte realtà mantenere un Day Hospital di Allergologia che consenta di proseguire attività caratterizzanti la disciplina come test di provocazione/tolleranza con farmaci e test diagnostici e immunoterapia per veleno di imenotteri.

Dall'indagine eseguita da AAIITO la quasi totalità dei giovani allergologi intervistati ha riferito che nella propria realtà i pazienti allergici non sono routinariamente gestiti dall'allergologo e che la prassi è invece demandare ad altri specialisti la gestione sintomatica della singola manifestazione allergica (i.e. dermatologo per dermatite, otorino per rinite, pneumologo per asma, ecc.), venendo a mancare lo specialista in grado di avere una visione di insieme, con il paradosso che a volte i pazienti stessi ignorano la figura dell'allergologo.

A tutto questo si aggiunge anche la constatazione che l'esiguità degli specialisti disponibili e la mancata sensibilità dei dirigenti verso la gestione delle malattie allergiche in molte realtà italiane hanno determinato la mancanza di turnover, con la conseguenza che gli allergologi pensionati sono stati sostituiti da me-

dici internisti senza specifica formazione allergologica, nella convinzione che qualunque medico possa improvvisarsi Allergologo. Sul territorio la situazione è altrettanto critica, dal momento che le ore di specialistica allergologica sono state per lo più eliminate in caso di pensionamento.

 **Dr.ssa Bilò, oltre ad Allergica-Mente, che cosa sta facendo AAIITO di concreto per la formazione dei giovani specialisti?**

 Mi preme sottolineare innanzitutto che la Sezione Giovani Specialisti AAIITO è nata nell'ottobre 2016 a Reggio Calabria in occasione del nostro Congresso Annuale dopo più di un anno di lavoro, in cui abbiamo cercato di identificare su scala nazionale e regionale i giovani Allergologi under 40 e di conoscerne i bisogni, al fine di individuare le migliori opportunità per rispondere alla loro domanda di crescita. A poco più di un anno della nascita della Sezione, nel settembre 2017 AAIITO ha organizzato ed offerto gratuitamente a 25 giovani la partecipazione al Primo Masterclass AAIITO per Giovani Specialisti su "La CRD: dalla teoria alla pratica clinica", un corso, soprattutto pratico, con i principali esperti italiani del settore.

Oltre alla partecipazione a studi e/o progetti di ricerca AAIITO, alla partecipazione ai congressi Nazionali mediante travel grants ed iscrizioni gratuite, alla collaborazione con la nostra rivista *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, sta partendo un

progetto formativo denominato "AAIITO Mentorship Programme" con possibilità di scegliere uno o più mentor ospedalieri e/o territoriali per stage su specifici settori della Allergologia, con il supporto economico di AAIITO.

E' stata inoltre data ai giovani la possibilità di creare uno spazio nell'ambito del sito dell'Associazione ("Job Corner Online") come area di incontro di domanda ed offerta di lavoro rivolta ai Giovani Allergologi e dedicata alla pubblicazione di annunci a livello nazionale e regionale (es. posizioni lavorative, bandi di concorso, borse di studio e qualsiasi opportunità professionale finalizzata alla crescita della specialità).

 **Dr.ssa Bilò, a proposito di formazione, in Italia non tutte le Scuole di Specializzazione sono ad indirizzo Immuno-Allergologico. Questo può rendere meno efficace la formazione in alcuni aspetti peculiari, come l'immunoterapia specifica?**

 Secondo i position statements della WAO (World Allergy Organization) e dell'EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology), lo specialista in Allergologia ed Immunologia Clinica deve acquisire specifiche competenze sulla prevenzione e diagnosi di tutte le malattie allergiche nonché sulla loro terapia, inclusa la terapia immunologica. Il raggiungimento di questi obiettivi è previsto anche nei piani formativi delle Scuole di Specializzazione italiane. Di fatto però si assiste ad una disparità del livello formativo degli specializzandi



(come segnalato dagli stessi), legata sia al tipo di formazione universitaria ricevuta sia alla tipologia di pazienti afferenti nella clinica universitaria di riferimento (es. prevalenza di pazienti con patologie dermatologiche, oppure prevalenza di pazienti con patologie reumatologiche ecc.). Ovviamente di questo risente anche l'immunoterapia specifica, pur rappresentando uno degli strumenti più peculiari dell'armamentario terapeutico dell'allergologo. Non dimentichiamo inoltre che tuttora nel corso di laurea in Medicina sono poche le tematiche immunologiche affrontate e del tutto assenti quelle di tipo allergologico.

Infine oltre a registrare un numero ridotto di contratti di formazione specialistica in Allergologia ed Immunologia Clinica coperti da fondi statali e regionali (basti verificare quelli relativi agli a.a. 2016-2017), stiamo assistendo ad una ulteriore riduzione del numero delle Scuole di

Specializzazione e quindi ad un ridotto numero di specialisti, a dispetto del peso epidemiologico crescente anche delle patologie allergiche più gravi.

**▶ Dr. Musarra, tornando ai decisori pubblici, c'è in particolare qualche richiesta precisa ed avete pensato a qualche forma di petizione?**

**▶** La principale richiesta che abbiamo intenzione di formulare è quella della creazione di Reti Cliniche Integrate. Questo progetto dovrebbe comprendere ambulatori territoriali di allergologia di primo livello per l'inquadramento diagnostico e un filtro per l'eventuale invio alle strutture ospedaliere di secondo livello. Queste ultime avrebbero il compito di farsi carico delle prestazioni più complesse come asma grave

e reazioni allergiche gravi, allergie da alimenti, farmaci e punture di imenotteri.

Tale soluzione coniugherebbe un equilibrato e appropriato uso delle risorse attraverso l'applicazione di specifici percorsi assistenziali.

Stiamo pensando anche alla possibilità di formulare le nostre richieste attraverso qualche strumento che possa coinvolgere il maggior numero possibile di persone, di cui in questa fase ritengo prematuro parlare, da far giungere direttamente ai principali soggetti istituzionali nel campo della salute pubblica nazionale e regionale. Ribadisco ancora una volta che tutte queste azioni, avviate da AAITO, necessitano dello sforzo congiunto e concreto di tutti coloro che in Italia hanno a cuore il futuro dell'Allergologia ed in particolare il diritto alla salute dei pazienti allergici.



**Lofarma**

**IN THE WORLD**

Headquarters  
**ITALY**

Affiliates

**GERMANY**

**PORTUGAL**

**GREECE**

**HUNGARY**

**ALBANIA**

**KOREA**

**RUSSIA**

**MEXICO**

**SWITZERLAND**





## RECENSIONI

### La vita agreste come difesa verso le malattie allergiche ?

Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children.

Stein M.M, Vercelli D, Ober C et al  
*N Engl J Med* 2016, 375, 411-421.

È noto che fattori genetici possono contribuire allo sviluppo di asma e malattie allergiche. L'incremento drammatico nella prevalenza di queste patologie che si è verificato negli ultimi 50 anni nei paesi sviluppati sembra però suggerire che l'ambiente giochi un ruolo determinante. Questa ipotesi trova conferma in una serie di studi epidemiologici condotti in particolare in Europa secondo cui i bambini cresciuti in un ambiente rurale (farmers) mostrano un livello significativo di protezione verso l'insorgenza di malattie quali l'asma e le allergie rispetto alla popolazione che vive nelle metropoli (non farmers). Si è ipotizzato che questa protezione nei confronti delle suddette patologie sia da attribuire al contatto di questi bambini con gli animali della fattoria, se non in qualche



modo associato ad una loro continua esposizione ad agenti microbici di vario genere. I reali effetti del "traditional farming environment" non sono però stati ancora ben definiti. Per colmare questo gap di conoscenza, gli autori di questo interessante articolo descrivono uno studio di confronto tra due distinte farming populations degli Stati Uniti (la popolazione Amish dell'Indiana e la popolazione Hutteriti del Sud Dakota), scelte in virtù del fatto che esse in piccolo, riassumono le differenze in termini di prevalenza di asma e allergia osservata tra agricoltori (farmers) e non, in Europa

Gli Amish americani sono un gruppo religioso (fondato alla fine del 1600 dallo svizzero Jacob Amman) che si scisse dal Protestantismo ai tempi della Riforma: perseguitati come eretici sia dai Cattolici che dai Protestanti furono costretti a rifugiarsi sulle Alpi Svizzere nel Sud della Germania e qui si sviluppò la tradizione degli Amish che basa la propria fede religiosa sul rigido rispetto della Bibbia, sulla comunanza dei beni, sul pacifismo e sul rifiuto della modernità, soprattutto nell'abbigliamento, nello stile di vita (molto semplice e austero; infatti vivono di pastorizia e di agricoltura, quest'ultima attuata secondo pratiche tradizionali che non prevedono l'impiego di mezzi motorizzati ma di cavalli sia per il lavoro nei campi che per il trasporto), nei consumi alimentari, nella esposizione al fumo di sigaretta e alla air pollution, al prolun-





gamento della durata dell'allattamento.

Gli Hutteriti costituiscono anch'essi una comunità religiosa, fondata nel Sud Tirolo da Jacob Hutter, predicatore tirolese bruciato vivo nel 1536. A seguito delle repressioni cattoliche scatenate dalla rivolta dei contadini si trasferirono prima in Moravia e successivamente a seguito di un'ondata di altre persecuzioni per il loro rifiuto alla chiamata di leva militare in contrasto con i loro ideali pacifisti, trovarono rifugio in Ucraina. Questi due particolari gruppi di agricoltori emigrarono poi negli Stati Uniti tra il 1700 e il 1800, continuando a mantenere il loro stile di vita distinto dal resto della popolazione, basato sull'osservanza dei principi della Bibbia, sulla vita in comunità, sulla autosufficienza e sulla comunanza dei beni. Pur avendo gli Hutteriti uno stile di vita molto simile a quello degli Amish, a differenza di questi ultimi non rifiutano in toto la tecnologia, soprattutto in agricoltura per la cui pratica si avvalgono di mezzi motorizzati.

L'attenzione degli studiosi sulle due comunità religiose degli Stati Uniti, si è manifestata a seguito della marcata prevalenza di asma osservata tra i ragazzi in età scolare nei due gruppi: 5.2% tra gli Amish, contro 21.3% tra gli Hutteriti. Anche la prevalenza della sensibilizzazione allergica è significativamente diversa: 7.2% tra gli Amish contro il 33.3% tra gli Hutteriti. Avendo entrambe le popolazioni la stessa ascendenza

europea, gli autori si sono chiesti quali fattori, molto probabilmente non genetici e indipendenti dallo stile di vite, possono aver determinato una simile differenza. A questo scopo sono stati arruolati 30 ragazzi/e Amish abitanti nell'Indiana e 30 ragazzi/e Hutteriti abitanti nel Sud Dakota, compresi tra 7 e 14 anni, e si sono presi in considerazione una serie di fattori quali l'esposizione ambientale, i livelli di allergene e endotossine, di IgE specifiche nel siero e della composizione del microbioma in campioni di polvere domestica e profili di espressione genica dei linfociti da sangue periferico. Si è così osservato che rispetto agli Hutteriti, gli Hamish che praticano una agricoltura tradizionale e sono esposti ad un ambiente più ricco di microbi come dimostrato dal maggiore livello di endotossine, mostrano in particolare una profonda differenza nella proporzione dei fenotipi e delle funzioni delle cellule della risposta immunitaria innata.

Questi risultati secondo gli autori possono quindi spiegare la ragione per cui la popolazione Hamish mostra una ridotta prevalenza della sensibilizzazione allergica e dell'asma rispetto a quanto osservato negli Hutteriti. Tutto ciò in accordo con i dati generati in modelli sperimentali in cui si è osservato che una maggiore attivazione della immunità innata (come osservato nei soggetti Hamish) si accompagna ad un minor suscettibilità a sviluppare l'asma.

**G.M.**





## Pacemaker e dermatite da contatto

An unusual case of Contact Dermatitis  
by a pacemaker implanted for neurostimulation.

Perez Gonzales et al.

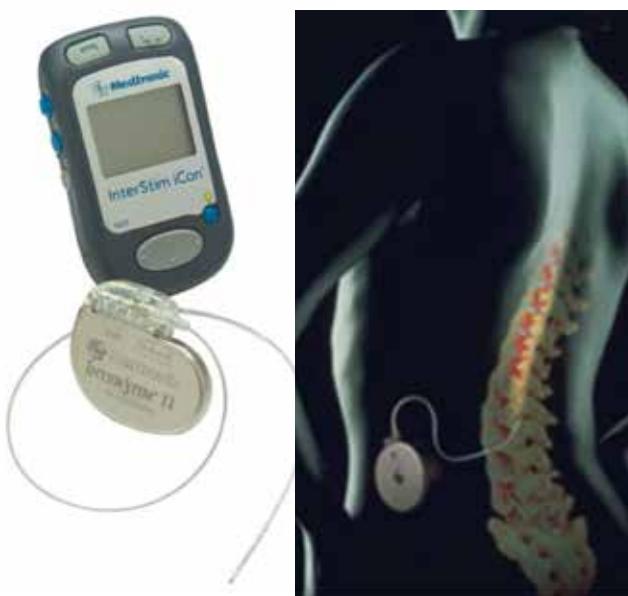
*J Investig Allergolo Clin Immunol* 2017;27: 272-273

La neurostimolazione è il trattamento più specifico e sicuro per il trattamento di un dolore cronico. Con la neurostimolazione si introduce un segnale che va a collidere con i segnali dolorosi, nel loro tragitto lungo il sistema nervoso, eliminandoli o riducendoli o modificandoli in modo che quando arrivano al cervello non vengono percepiti come segnali dolorosi. Un sistema di neurostimolazione è fatto da 2 parti: la prima è l'elettrodo che deve essere messo sulla parte del sistema nervoso che è il bersaglio; il secondo è il pacemaker cioè l'unità che contiene sia la pila (il generatore dell'energia) che la parte vera e propria del pacemaker, cioè la chip che contiene l'elettronica che manda il segnale all'elettrodo.

Per prevenire eventuali reazioni allergiche al materiale di cui sono costituiti elettrodo e generatore, questi ultimi sono ricoperti da silicone, il cui potenziale allergenico è ritenuto trascurabile. In questo articolo si descrive il caso di un soggetto che ha manifestato un dolore al sito di inserzione del pacemaker dopo circa tre mesi dal suo impianto nell'addome dello stesso. Non è nota la ragione per cui il pacemaker è stato impiantato. Il dolore non era accompagnato da reazioni infiammatorie né tanto meno da lesioni cutanee. Colture effettuate con prelievi della zona interessata risultarono negative, escludendo quindi che la causa potesse attribuirsi ad infezioni locali. Una approfondita analisi del sangue rilevò la presenza di una neutrofilia mentre la tomografia computerizzata e l'ecografia del tessuto molle risultarono nella norma. Il pacemaker fu comunque rimosso per il sospetto di possibili infezioni ed il soggetto fu sottoposto empiricamente ad un trattamento con antibiotici. Successivamente un nuovo pacemaker fu impiantato ma dopo un mese il paziente manifestò un dolore persistente, eritema e un ca-

lore superficiale. A questo punto il pacemaker fu rimosso definitivamente determinando un netto miglioramento del paziente. Il paziente fu quindi sottoposto ad una serie di patch test, che mise in evidenza una positività verso il rodio e verso alcuni tipi di silicone. Il rodio un metallo di transizione appartenente al gruppo del platino e viene usato principalmente come catalizzatore di diverse leghe di platino. Reazioni di ipersensibilità al rodio risultano molto rare e finora riscontrabili solo nell'ambiente di lavoro, tra gli operatori addetti all'uso di tale metallo. I siliconi sono polimeri dello silossano mediante una complessa procedura chimica che può comportare l'impiego del platino, palladio o rodio come catalizzatori.

Sulla base di questi dati, gli autori dell'articolo hanno concluso che il suddetto caso è da considerare come il primo caso di dermatite da contatto di natura non professionale attribuibile al contatto con il silicone e il rodio, invitando gli operatori sanitari a prendere in considerazione l'eventualità che il pacemaker o suoi componenti possano essere la causa di reazioni allergiche, soprattutto nei casi di assenza di infezioni o reazioni infiammatorie nel sito di inserzione dello stesso. **G.M.**





## Galectin 3: è un bio-marker predittivo?

**Galectin-3: an early predictive biomarker of modulation of airway remodeling in patients with severe asthma treated with omalizumab for 36 months.**

Riccio AM, Mauri P, De Ferrari L, Rossi R, Di Silvestre D, Benazzi L, Chiappori A, Dal Negro RW, Micheletto C, Canonica GW

*Clin Transl Allergy. 2017;7:6*

Una delle maggiori sfide della ricerca biomedica riguarda lo sviluppo di terapie personalizzate per migliorare la specificità e l'efficacia dei trattamenti. Per esempio, un gran numero di anticorpi monoclonali è stato sviluppato contro molecole di superficie preferenzialmente espresse sulle cellule tumorali, mentre altri anticorpi sono stati usati con successo nel trattamento dell'artrite reumatoide e di altre patologie infiammatorie, incluse allergie e malattie autoimmuni. L'allergia mediata dalle IgE come causa di asma è un processo ben noto e l'anticorpo monoclonale anti-IgE umane (Omalizumab) è stato approvato per il trattamento dell'asma severo allergico dopo che diversi studi ne hanno verificato l'efficacia (Figura 1).

L'obiettivo di tali approcci è quello di plasmare le terapie in base alla soggettività dei pazienti, e allo stesso tempo evitare la somministrazione di farmaci la cui efficacia, su determinati soggetti, risulterebbe scarsa o insufficiente. Il raggiungimento di tali obiettivi passa attraverso l'esecuzione di test molecolari adeguati, e le tecnologie omiche, in particolare genomica e proteomica, ne rappresentano un elemento chiave. In questo scenario, applicando un sofisticato approccio proteomico, gli autori hanno dimostrato come la Galectina-3 (Figura 2) rappresenti un reale ed importante marcatore predittivo del trattamento dell'asma severo Omalizumab. La valutazione istologica del rimodellamento dei bronchi dopo 12 mesi dal trattamento ha rivelato la presenza di due tipi di pazienti: i responsivi, che mostrano una riduzione nello spessore della membrana basale reticolare (RBM), e i non responsivi, che non mostrano tale

riduzione, ma a volte un leggero inspessimento. Dato che tale variazione può avere un grande impatto sull'evoluzione della funzione polmonare, l'identificazione di potenziali biomarker di risposta alla terapia appare come particolarmente rilevante. A questo scopo, in un primo lavoro, gli autori hanno applicato allo studio delle biopsie polmonari l'approccio MudPIT (Multidimensional Protein Identification Technology), che permette la rapida identificazione e quantificazione di centinaia di proteine per campione.

L'analisi comparativa dei profili proteici dei pazienti responsivi e non responsivi, ha messo in evidenza alcune sostanziali differenze. Nei pazienti responsivi è stata osservata la diminuzione di actine e miosine dimostrando l'influenza della terapia sull'espressione delle componenti muscolari associate al rimodellamento dell'asma. Ed è plausibile che questa riduzione possa impattare sul recupero della funzionalità polmonare. Rilevanti differenze sono state osservate anche a livello delle proteine appartenenti alla matrice extracellulare (ECM). In particola-

**Figura 1** Anti IgE: Omalizumab

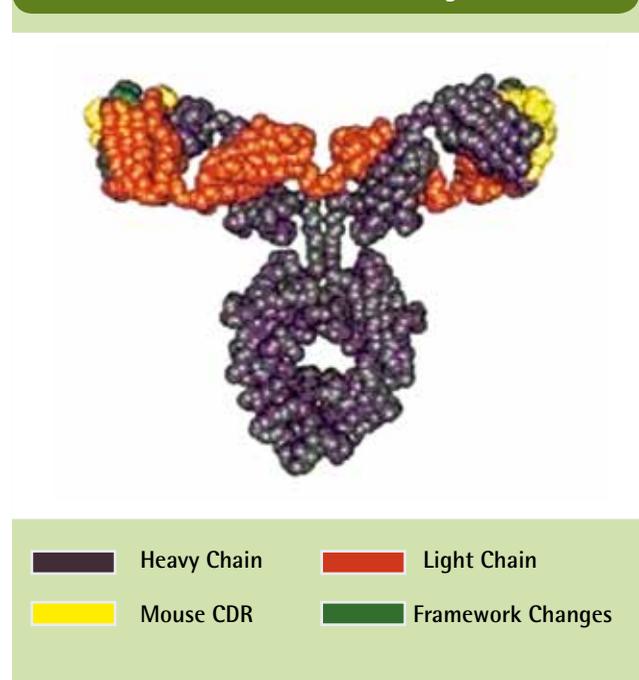
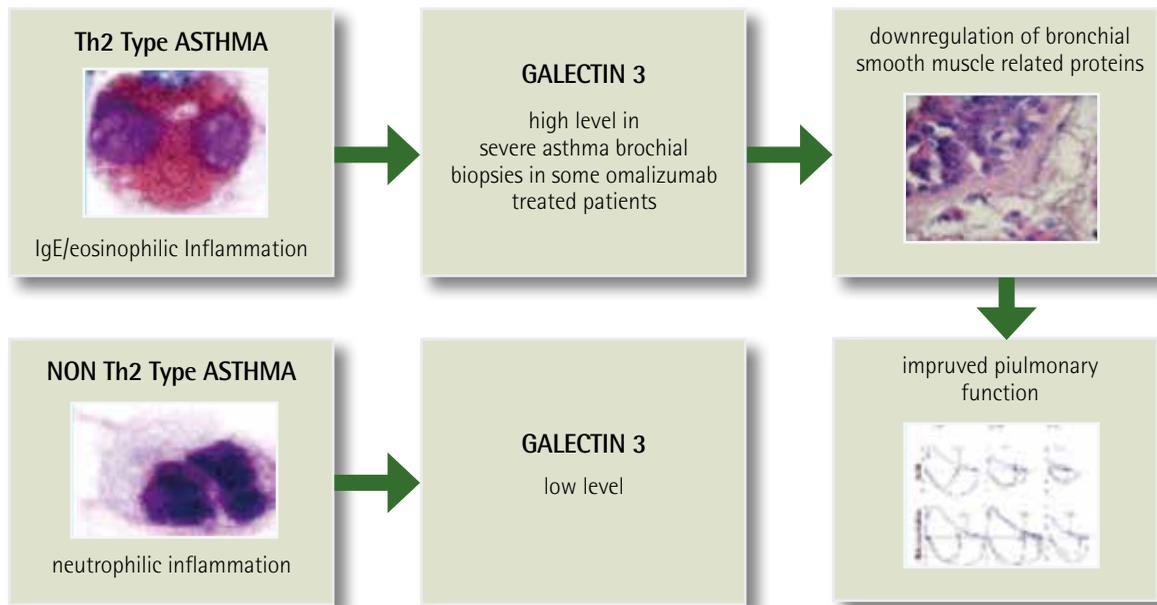




Figura 2

## Possibile significato clinico della galectina 3 nell'asma severo



da: Biomarkers and severe asthma: a critical appraisal. Chiappori A. et al.- *Clinical and Molecular Allergy*,2015;13:20

re, la presenza della Galectina-3 nei soli campioni di pazienti responsivi, in quantità stabili prima e dopo il trattamento con Omalizumab, ha indicato tale proteina come reale marker predittivo dell'effetto del trattamento anti-IgE permettendo così l'identificazione dei pazienti responsivi.

Gli autori hanno suggerito che la Galectina-3, promuovendo la dissociazione dell'interazione ad alta affinità tra IgE e il suo recettore FcεRI, facilita la dissociazione del complesso e porta al miglioramento dell'efficacia del anticorpo anti-IgE.

Con un secondo studio, dopo 36 mesi di trattamento con omalizumab, gli autori hanno confermato la riduzione dello spessore della membrana basale reticolare (RBM) nei pazienti Galectina-3 positivi. L'analisi dei profili proteici ha inoltre rivelato una riduzione del livello di espressione di Galectina-3, cheratine e proteine correlate a fibrosi e infiammazione. Inol-

tre, i livelli di eosinofili sono risultati coerenti con i dati molecolari mostrando una diminuzione di circa dieci volte nei responsivi e un aumento nei non responsivi.

In conclusione, i due studi hanno dimostrato come la Galectina-3 potrebbe rappresentare un marcatore utile all'identificazione dei pazienti che risponderanno al trattamento con anti-IgE, con modulazione del rimodellamento bronchiale che coinvolge sia le proteine principali del muscolo liscio, che la deposizione di collagene e fibronectina. Poiché lo studio è incentrato su campioni bronchiali, è plausibile che la Gal-3, essendo una proteina della matrice, potrebbe essere rilevabile anche nel siero o nelle urine, così da permettere una più facile l'identificazione dei pazienti affetti da asma grave che potrebbero trarre vantaggio dalla terapia anti-IgE.

**D. Di S.**



## Sintesi del progetto di ricerca europeo Tollerant

Gianni Mistrello

### INTRODUZIONE

La risposta immunitaria innata (definita anche naturale o non-specifica) agisce come prima linea di difesa attiva nei confronti di un'ampia varietà di patogeni (batteri, funghi, protozoi e virus) e di sostanze estranee. Le cellule del sistema immunitario innato riconoscono strutture dei patogeni molto conservate chiamate "pathogen-associated molecular patterns" (PAMPs), e conseguentemente si attivano sia per neutralizzare "gli invasori" che per innescare la risposta immunitaria adattativa, altamente specifica e basata sulla comparsa di anticorpi (immunità umorale) e di cellule (immunità cellulare). Un ruolo determinante nel suddetto riconoscimento è svolto da particolari molecole proteiche con la funzione di recettori chiamati Toll-like receptors (TLR). Essi sono presenti sulla superficie di molte cellule come i neutrofili polimorfonucleati, i monociti/macrofagi, le cellule dendritiche (DC) e le cellule natural killer (NK), e costituiscono un elemento essenziale della risposta immunitaria innata, agendo come segnalatori della presenza di agenti estranei.

Lofarma fa parte di un network composto da 10 partners (8 Gruppi Universitari e 2 Industrie) in rappresentanza di 5 Paesi Europei, con la partecipazione di 13 giovani ricercatori assunti appositamente grazie ad un finanziamento della Comunità Europea nell'ambito del Programma Horizon 2020. Il progetto di ricerca finanziato dalla Comunità europea è focalizzato sullo studio dei meccanismi molecolari dell'immunità innata, in particolare sul Human Toll-like receptor 4 (TLR4).

Tra i diversi tipi di TLR, il TLR4 è il segnalatore specifico delle endotossine batteriche ed in particolare riconosce i lipopolisaccaridi (LPS) presenti sulla membrana esterna della parete dei batteri Gram-negativi o frammenti degli stessi (lipide A). Il TLR4 ha





dunque un ruolo protettivo importante per il nostro organismo. Numerose evidenze scientifiche hanno suggerito che una serie di malattie infiammatorie e autoimmuni potrebbero essere combattute efficacemente da terapie basate sulla modulazione del TLR4 (Figura 1).

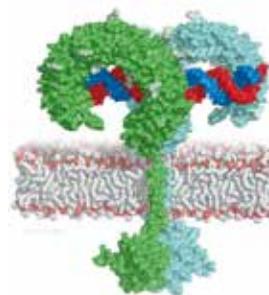
### LO SCOPO

Scopo del progetto TOLLerant è quello di sviluppare attraverso il miglioramento delle conoscenze del complesso meccanismo molecolare dell'attivazione del TLR4, nuove molecole sinte-

tiche in grado di attivare il recettore (agonisti) o di bloccarne l'attivazione (antagonisti). Il progetto è di natura interdisciplinare perché comporta competenze diverse e complementari negli ambiti della chimica, della biochimica, dell'immunologia, della biofisica e della medicina.

In particolare Lofarma è coinvolta nello studio di molecole sintetiche ad attività agonista in una prospettiva di impiego delle stesse in associazione con i vaccini anti-allergici (sia iniettivi che sublinguali) nella terapia delle malattie allergiche.

**Figura 1** Struttura del TLR4



Tratta da  
<http://www.dottorblog.com/toll-like-receptor/>

# BUON 2018

## Auguri ai Lettori e agli Autori

*Con la speranza che ci seguano  
con lo stesso interesse anche il prossimo anno.*

*Gianni Mistrello,  
Fabrizio Ottoboni e Maura Fattorini*



## 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

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 "Lecture 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.

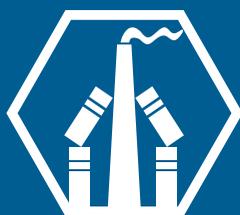
Una volta definiti, essi possono venire usati come tali nel corso del testo.

### 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](http://www.lofarma.it)