

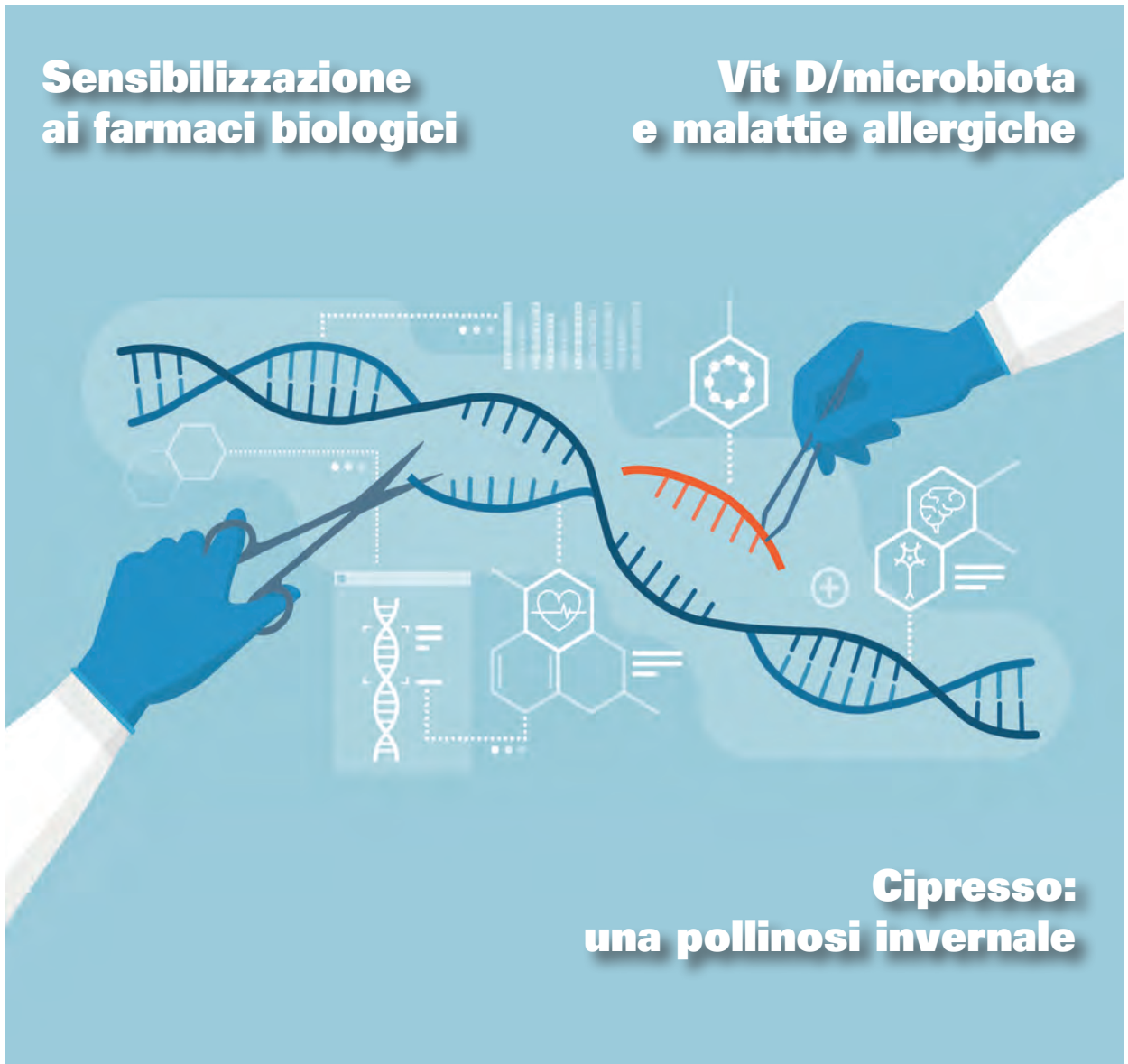
ISSN 2038-2553

Anno 41 - 2022 • Volume 40, n.3

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

**Sensibilizzazione
ai farmaci biologici**

**Vit D/microbiota
e malattie allergiche**



**Cipresso:
una pollinosi invernale**

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

ERRATA CORRIGE

Per un errore, nell'articolo di Gianni Mistrello: Evoluzione nel tempo della immunoterapia allergene specifica in pazienti affetti da pollinosi, pubblicato sul numero 1-2, Volume 40 è stata inserita una bibliografia errata. Pubblichiamo su questo numero, a pagina 99, la bibliografia corretta.

Ci scusiamo con i Lettori e con gli Autori per l'errore
La redazione

In copertina: Editing genomico



Nell'immagine di copertina è mostrata una rappresentazione schematica dell'Editing genomico. Con questo termine si intende una manipolazione del genoma mediante la quale modificare con grande precisione piccole parti della sequenza del DNA degli organismi viventi utilizzando diverse tecniche. Uno dei primi esempi di Editing genomico è quello che ha portato alla produzione degli organismi geneticamente modificati (OGM). Negli ultimi anni è balzata prepotentemente agli onori della cronaca una tecnologia decisamente rivoluzionaria che è valsa il premio Nobel per la chimica a Jennifer Doudna ed Emmanuelle Charpentier, nota come CRISPR-Cas 9. Tale tecnologia sfrutta il medesimo meccanismo scoperto nei batteri che lo utilizzano come sistema di difesa contro i virus. CRISPR è l'acronimo di "Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats", ovvero sequenze geniche che si ripetono a intervalli regolari; ad esso sono associati i geni Cas che codificano l'enzima CAS 9, una sorta di forbice molecolare. In grado di tagliare un punto preciso del DNA bersaglio come indicatogli da un RNA guida opportunamente prodotto. In questo modo è possibile correggere difetti genetici eliminando porzioni di sequenza del gene responsabili dello sviluppo di malattie gravi per sostituirle con una copia funzionale del gene corretto (knock-in) ovvero "silenziare" (knock-out) geni che codificano proteine "indesiderate". L'utilizzo di questa tecnologia ha un enorme potenziale in moltissimi campi. Infatti, spazia dalla pura ricerca per definire il ruolo di specifiche sequenze del DNA (fondamentale per individuare quelle che saranno poi oggetto di modifica), al trattamento di alcune malattie genetiche (beta-talassemia, anemia falciforme) e di alcuni tumori (leucemie in primis), in agricoltura con il conferimento alle colture agricole di nuove caratteristiche come la resistenza agli erbicidi ed aumentare la resa del raccolto ovvero con la disattivazione dei geni coinvolti nella sintesi del glutine per produrre un grano tollerabile dai celiaci, nel campo degli xenotrapianti, in particolare degli organi di suini, per poterli usare nei pazienti che necessitano di un trapianto. In campo allergologico che cosa possiamo aspettarci? Al momento sono in corso studi per definire la funzione biologica dell'allergene Fel d 1 (allergene maggiore della forfora di gatto verso cui la quasi totalità dei soggetti allergici si sensibilizza) per poi provvedere, una volta stabilito che questo non comporta problemi al benessere dell'animale, alla sua delezione mediante la strategia Crispr-Cas 9. Sarebbe il primo passo verso la "creazione" di "Fel d1 knockout cats" per la felicità degli amanti di questi animali che non correrebbero più il rischio di sensibilizzarsi alla loro forfora.

The CRISPR Journal Vol. 5, No. 2 Evolutionary Biology and Gene Editing of Cat Allergen, Fel d 1. Brackett N., Davis B.D., Adli M., Pomés A., and Chapman M.D.



SOMMARIO

Notiziario Allergologico, Anno 41 - 2022 - Volume 40, n. 3

EDITORIALE

54

Gianni Mistrello



AGGIORNAMENTI

Sensibilizzazione a farmaci biologici: il ruolo dell'allergologo

56

Alessandra Vultaggio

Vitamina D e microbiota: esiste un legame con le malattie allergiche?

65

Paladin Francesca

Il Cipresso: una pollinosi invernale

74

Renato Ariano



RECENSIONI

Gianni Mistrello

Allergeni da contatto e impatto sulla salute pubblica

84

Uter W et al.

Associazione dupilumab/ITS Acari nella dermatite atopica nei bambini

85

Ding B et al.

Un difficile caso di dermatite da contatto fotoallergica

86

Herzum et al.

Reazione allergica sistemica al tè verde

87

Kajita N. al.

Asma da temporale: quali individui corrono maggiori rischi?

89

Cecchi L. et al.



ERRATA CORRIGE

Bibliografia

Evoluzione nel tempo della immunoterapia allergene specifica in pazienti affetti da pollinosi

91

Gianni Mistrello

NOTIZIARIO
ALLERGOLOGICO



SONDAGGIO

« Fieri di oltre 40 anni di pubblicazione abbiamo scelto di rinnovarci e ci rivolgiamo a voi lettori per avere la vostra collaborazione. Sarà sufficiente un attimo del vostro tempo per rispondere al breve questionario che troverete attraverso questo QR code. »



EDITORIALE

a cura di Gianni Mistrello

Fino a qualche decennio fa gli unici farmaci usati a scopo terapeutico erano prodotti per sintesi chimica. Questa modalità di produzione consente di sviluppare molecole di piccole dimensioni con un elevato livello di controllo del processo produttivo a garanzia della cosiddetta “*batch to batch consistency*”. I formidabili progressi biotecnologici che si sono raggiunti negli ultimi anni hanno creato le premesse per lo sviluppo di una nuova categoria di prodotti terapeutici noti come farmaci biologici. Tra questi quelli che hanno mostrato le maggiori potenzialità terapeutiche in ambito clinico sono gli anticorpi monoclonali. Come noto gli anticorpi, in generale, sono prodotti dal sistema immunitario e rappresentano una linea di difesa nei confronti di agenti estranei (batteri, virus, cellule tumorali...). Essi sono caratterizzati da una struttura a forma di Y: la parte centrale rappresenta la porzione costante dell'anticorpo (Fc) che interagisce con un recettore specifico presente sulla membrana delle cellule immunitarie mentre le due braccia rappresentano la porzione variabile (Fab) che interagiscono con un antigene specifico (Figura 1). Con il termine monoclonali si identificano quegli anticorpi prodotti mediante una particolare tecnica (ibridomi) grazie alla quale si può immortalare una linea di linfociti B identici (clone) in grado di produrre anticorpi della stessa specificità. Inizialmente questi anticorpi sono stati sviluppati nel topo ed usati a scopo diagnostico. Essendo riconosciuti come estranei, l'uso terapeutico di questi anticorpi nell'uomo è stato abbandonato per il rischio di reazioni allergiche e non anche gravi che oltretutto ne ridurrebbero l'efficacia. Lo sviluppo di nuove tecniche sempre più sofisticate (DNA ricombinante) ha però consentito di produrre anticorpi monoclo-

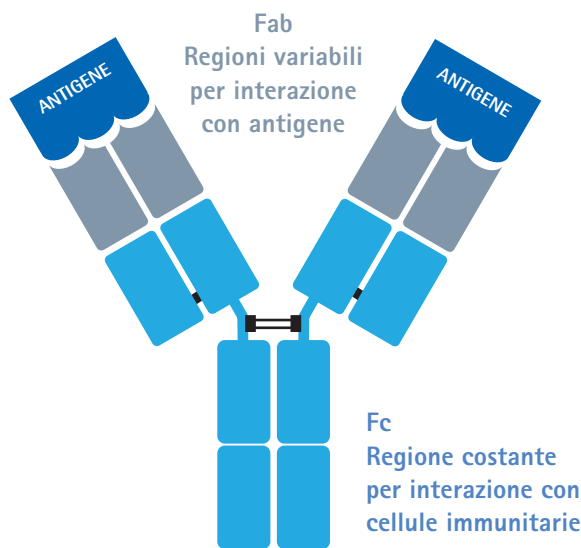
nali ricombinanti costituiti dalla porzione variabile (quella selettiva che interagisce con l'antigene) di origine murina e dalla porzione costante di origine umana. Seppur ridotto, il rischio di eventi avversi conseguenti all'uso dei farmaci biologici è però sempre da attenzionare. Ne tratta in termini generali l'articolo della Dottoressa Vultaggio che sottolinea come l'incremento dell'utilizzo dei farmaci biologici si accompagni ad un numero crescente di reazioni di ipersensibilità ritardata (hypersensitivity reactions, HRs), che oltre ad influire negativamente sulla qualità di vita del paziente, condizionano l'efficacia terapeutica degli stessi. Le suddette reazioni possono essere immediate ovvero ritardate e possono variare da reazioni di grado lieve (per lo più cutanee), ovvero di grado severo nonché fatali. L'autrice ha poi ricordato che per un approccio “precision medicine” anche nell'ambito delle HRs, è stato introdotto il concetto di “fenotipo” e “endotipo”, e ne discute in maniera esaustiva precisando come il primo corrisponderebbe alla presentazione clinica dell'evento avverso mentre il secondo riguarderebbe la possibilità sia di definire il meccanismo molecolare alla base della reazione stessa grazie anche allo sviluppo di metodi per individuare potenziali biomarkers. Un aspetto importante, che l'autrice nella parte conclusiva del suo articolo si auspica, è il ruolo che la figura dell'allergologo dovrebbe assumere nella gestione delle HRs. Egli, infatti, potrebbe contribuire a chiarire i meccanismi patogenetici delle stesse ed, in caso di necessità, offrire ai pazienti reattivi ai farmaci biologici possibili alternative di supporto (desensibilizzazione), garantendo condizioni di miglior sicurezza.

Negli ultimi anni stiamo assistendo ad un aumento significativo delle malattie infiammatorie croniche che hanno diversi



Figura 1

Struttura dell'anticorpo



organi come bersaglio. E' noto che il microbiota intestinale, un complesso ecosistema vivente che alberga nel tubo digerente, svolge funzioni fondamentali come l'omeostasi non solo intestinale ma dell'intero organismo umano. Numerose evidenze dimostrano che fattori ambientali (la modalità del parto e dell'allattamento, il tipo di dieta, l'uso di antibiotici, il fumo, l'inquinamento...) giocano un ruolo importante nel determinare uno squilibrio tra batteri commensali "buoni" a favore di quelli patogeni e questa condizione (disbiosi) favorirebbe l'insorgenza di processi infiammatori sia intestinali che extra-intestinali, incluse le malattie allergiche. Recentemente sono anche emersi molteplici studi che evidenziano come la vitamina D sia essenziale non solo per il mantenimento dell'integrità e funzionalità scheletrica, ma sia anche in grado di svolgere un ruolo fisiologico nel modulare l'attività del sistema immunitario, quest'ultima probabilmente legata alla sua interazione con il microbiota intestinale. Considerando che la vitamina D assunta con la dieta è assorbita a livello intestinale, è possibile ipotizzare che la stessa possa

esprimere degli effetti sulla composizione del microbioma stesso, soprattutto in caso di alterazioni quali/quantitative di quest'ultimo. Questi sono i temi sviluppati nell'interessante articolo della Dottoressa Paladin.

Concludiamo questo numero con l'articolo del Dottor Ariano che ha come oggetto l'allergia al polline di Cipresso, una pollinosi la cui reale prevalenza è stata in passato sottovalutata anche perché confusa, vista la particolare stagionalità invernale, con le forme di riniti virali comunemente frequenti nello stesso periodo. In aggiunta l'assenza a quel tempo di estratti per prick sufficientemente standardizzati ha certamente contribuito a sottostimare questa specifica allergia. Oggi questo tipo di allergia specifica ha assunto una maggiore rilevanza allergologica grazie allo sviluppo di estratti diagnostici efficaci e anche perché la popolazione, almeno nell'area mediterranea, è esposta ad una maggiore quantità di polline vista la diffusione delle piante di Cipresso (o meglio della famiglia delle Cupressaceae) sia a scopo ornamentale (è ormai un elemento caratteristico ed insostituibile di certi paesaggi) ovvero come frangivento che per opere di rimboscimento. In questa trattazione l'autore riporta aspetti botanici, epidemiologici, immunologici (evidenziando in particolare i livelli di cross-reattività tra le diverse specie di Cupressaceae e verso altre famiglie come Taxodiaceae e Pinaceae), clinici con il riferimento ai diversi trials che hanno dimostrato l'efficacia terapeutica dell'immunoterapia specifica basata sull'uso di estratti di diverse Cupressaceae. Noto infine con piacere che l'autore abbia fatto riferimento ad un Progetto di Ricerca finanziato qualche anno fa dalla Comunità Europea proprio sul Cipresso che ha visto la partecipazione sia dell'autore che del sottoscritto.



Sensibilizzazione a farmaci biologici: il ruolo dell'allergologo

Alessandra Vultaggio

*Dipartimento
di Medicina Sperimentale e Clinica
Università degli Studi di Firenze*

Not Allergol 2022; vol. 40: n. 3: 56-64

I FARMACI BIOLOGICI: INNOVATIVI, COMPLESSI ED IMMUNOGENICI

I farmaci biologici sono medicinali che contengono uno o più principi attivi prodotti o estratti da un sistema biologico. In particolare, a differenza di quelli prodotti per sintesi chimica, sono molecole complesse derivate da processi produttivi altrettanto complessi, che includono l'utilizzo di materiale biologico (cellule, microorganismi, ecc.). Appartengono alla categoria dei farmaci biologici ormoni, enzimi, immunoglobuline policlonali, anticorpi monoclonali, proteine di fusione (1-3).

I farmaci biologici richiedono una particolare attenzione relativa al processo di produzione: infatti la loro complessa struttura dipende dal processo stesso, il quale ne condiziona profondamente le caratteristiche funzionali e immu-

nologiche. Nell'ambito poi dei diversi farmaci biologici la complessità può variare, per esempio molecole di prima generazione, come la eritropoietina alfa (peso molecolare di circa 30.000 Dalton), sono molto più "semplici" per dimensioni, peso, caratteristiche di produzione e meccanismo d'azione rispetto ad un anticorpo monoclonale, che pesa oltre 145.000 Dalton.

Essendo i farmaci biologici strutture proteiche complesse presentano il rischio di venir riconosciuti come sostanze estranee dall'organismo, inducendo una reazione immunitaria anti-farmaco, comportando la formazione di anticorpi anti-farmaco, generalmente definiti con l'acronimo inglese ADA (anti-drug antibodies). Questa caratteristica viene definita immunogenicità e può avere un impatto molto significativo in termini di sicurezza ed efficacia del farmaco stesso (4). Il riconoscimento del farmaco biologico come "estra-

neo" può infatti portare allo sviluppo di eventi avversi quali le reazioni di ipersensibilità oppure alla neutralizzazione del farmaco stesso, impedendone l'efficacia terapeutica. Talvolta entrambi gli eventi (inefficacia e reazione di ipersensibilità) possono verificarsi nello stesso paziente, conseguentemente allo sviluppo degli ADA.

Il grado di immunogenicità di un farmaco biologico dipende da diversi fattori, correlati al prodotto o correlati al paziente, tra cui (5,6):

- Presenza di impurità/contaminanti derivati dal processo di produzione
- Percentuale di componente murina presente nella struttura
- Profilo di glicosilazione
- Durata e decorso del trattamento
- Modalità di somministrazione del farmaco
- Uso di concomitanti farmaci (corticosteroidi, immunosoppressori)
- Tipo di patologia di base



PRESENTAZIONE CLINICA DELLE REAZIONI DI IPERSENSIBILITÀ AI FARMACI BIOLOGICI

Generalità

Le reazioni di ipersensibilità possono accadere alla prima esposizione o a somministrazioni successive, ed includono sia reazioni locali nel sito di iniezione (per farmaci a somministrazione sottocutanea) che reazioni sistemiche. La presentazione clinica è molto variabile, variando da reazioni immediate a reazioni ritardate, da reazioni di grado lieve (per esempio con esclusive manifestazioni cutanee) a reazioni di grado severo, nonché fatali (6) (Figura 1).

Le reazioni immediate sono quelle che avvengono durante la somministrazione o comunque entro 1 h dal termine della stessa, le reazioni ritardate sono quelle che si realizzano successivamente. Le reazioni immediate sono più frequentemente sistemiche e generalmente si realizzano con i farmaci a somministrazione endovenosa, e si caratterizzano più spesso per sintomi muco-cutanei (orticaria, prurito, angioedema e flushing), ma anche respiratori e cardiaci. Le reazioni ritardate più frequentemente complicano la somministrazione sottocutanea e sono caratterizzate da eritema, edema, prurito e talvolta formazione di placche infiltrate in corrispondenza del sito di iniezione. Sono comunque state descritte anche manifestazioni cutanee generalizzate (eritema maculo-papulare, ma anche sindrome di Stevens-Johnson e necrolisi epidermica tossica) ad esordio ritardato rispetto alla somministra-

zione. Sono inoltre riportati in letteratura alcuni casi di insorgenza di sintomi quali febbre, malessere generali, artralgie/artriti, esantema, compatibili con una malattia da siero (7).

Fenotipi ed endotipi di reazioni avverse

Più recentemente anche nell'ambito delle reazioni avverse a farmaci biologici, è stato introdotto il concetto di "fenotipo" ed "endotipo", nel tentativo di po-

ter applicare un approccio di tipo "precision medicine" anche a questo ambito di interesse immuno-allergologico (8). Il fenotipo corrisponde alla presentazione clinica dell'evento avverso, mentre l'endotipo riguarda il meccanismo molecolare che sottende la reazione stessa. Contestualmente sono stati proposti alcuni biomarkers, con lo scopo appunto di poter distinguere il meccanismo patogenetico alla base della reazione. Nello specifico sono stati riconosciuti

RIASSUNTO

Parole chiave

- anticorpi anti-farmaco • farmaci biologici • immunogenicità
- reazioni di ipersensibilità

Acronimi

- ADA: anticorpi anti-farmaco • CRR: reazione da rilascio di citochine
- DD: drug desensitization • DPT: drug provocation test
- ECL: elettrochemiluminescenza • ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay
- HRs: reazioni di ipersensibilità • Ig: immunoglobulina • IL: interleuchina
- IFN: interferone • IRR: reazione infusione-correlata • RIA: radio immuno assay
- TNF: tumor necrosis factor

Un farmaco biologico è una proteina ottenuta attraverso tecniche di biotecnologia e utilizzata a scopi terapeutici. I farmaci biologici rappresentano ormai una strategia terapeutica di fondamentale importanza in molte patologie quali le malattie infiammatorie croniche, le patologie autoimmuni, ed il cancro. Negli ultimi anni il loro utilizzo sta riguardando anche altre malattie molto comuni quali la cefalea cronica, l'ipercolesterolemia ed infine le malattie allergiche. Parallelamente all'incremento del loro utilizzo si è assistito ad un crescente numero di eventi avversi, tra cui le reazioni di ipersensibilità (hypersensitivity reactions, HRs), che peraltro oltre ad impattare negativamente sulla qualità di vita del paziente, condizionano la possibilità di un successo terapeutico. Appare quindi sempre più importante il ruolo dell'allergologo nella gestione delle HRs, nel saper identificare i pazienti a rischio e soprattutto nel poter chiarire i meccanismi patogenetici alla base delle HRs stesse, al fine di garantire il miglior trattamento a ciascun paziente.



Figura 1

Reazioni a biologici:
manifestazioni cliniche

IMMEDIATE ($\leq 1h$)	RITARDATE
<p>SISTEMICHE</p> <p>Flushing, Edema Prurito, Orticaria Ipotensione Dispnea Back'pain Bradycardia Febbre</p>	<p>SISTEMICHE</p> <p>Malattia da siero Esantema maculo papulare Sindrome di Stevens Johnson Eventi trombotici Vasculite Eruzione psoriasiforme</p>
<p>LOCALI</p> <p>Eritema Prurito</p>	<p>LOCALI</p> <p>Placche Prurito Edema</p>

ne, mentre le CRRs rappresenterebbero le forme più gravi, peraltro da poter gestire anche con desensibilizzazione (8). Tuttavia non vi sono elementi certi per poter validare clinicamente questo tipo di classificazione sub-fenotipica. In ogni caso l'endotipo che sottende entrambe è rappresentato da un rilascio improvviso e massivo di citochine pro-infiammatorie quali IL-6, TNF-alfa, IFN-gamma. I meccanismi molecolari che conducono al rilascio di citochine sono complessi e sicuramente coinvolgono varie cellule dell'immunità innata e vari processi, tra cui l'attivazione della cascata complementare (10). Tra le citochine che vengono rilasciate si ritiene che l'incremento della IL-6 sierica possa rappresentare un biomarker laboratoristico di questo fenotipo di HRs (11).

**Reazioni immediate
ADA-mediate**

La formazione degli ADA è il risultato di una risposta immunitaria adattiva, che inizia con la presentazione antigenica da parte di cellule dendritiche a linfociti T, i quali a sua volta svolgono funzione "helper" nei confronti di linfociti B per la produzione di anticorpi (12, 13). Gli ADA sono eterogenei nella loro composizione in termini di isotipo (IgG, IgE, IgM ed IgA), affinità e specificità, e questa eterogeneità è alla base del diverso impatto clinico che l'immunogenicità può avere. La presenza di IgG ADA è associata alla maggior parte delle HRs immediate nei confronti dei farmaci biologici tuttavia, anche ADA IgE possono essere coinvolti, dimostrabili attraverso l'uso di sistemi in vitro specifici (CAP system). La

i seguenti fenotipi ed endotipi di HRs:

- Reazioni immediate sostenute da rilascio di citochine
- Reazioni immediate sostenute da ADA
- Reazioni immediate miste
- Reazioni ritardate

Qui di seguito vengono presi in esame i singoli fenotipi/endotipi e relativi biomarker di HRs.

Reazioni immediate sostenute da rilascio di citochine

Vengono così definite tutte le reazioni caratterizzate da un rilascio massivo di citochine da parte di cellule del sistema immunitario. Trattasi di eventi general-

mente occorrenti alla prima somministrazione (non è infatti necessaria una sensibilizzazione nei confronti del farmaco) e clinicamente caratterizzata da flushing, malessere generale, back pain, dolore toracico, nausea, vomito, rash cutaneo (9). Alcuni autori hanno distinto in questo ambito due sotto-fenotipi sulla base della gravità della reazione quali le reazioni correlate alla infusione (infusion-related reactions IRRs) e reazione da citochine (cytokine release reactions, CRRs). Le IRRs rappresenterebbero gli eventi meno gravi, che tendono ad autolimitarsi e ben rispondenti alla riduzione della velocità di infusione e alla modificazione della premedicazione



produzione di ADA IgE è il risultato di una risposta immune T helper di tipo 2 (Th2) caratterizzata dalla produzione di citochine quali IL-4 e IL-13 capaci di sostenere una switching isotipico (14). Le reazioni IgE-mediate generalmente, salvo alcune eccezioni, non si realizzano alla prima infusione, dato che necessitano di una fase di sensibilizzazione al farmaco, durante la quale si genera una risposta immunologica specifica. La produzione di ADA in genere e soprattutto con isotipo E, si realizza più spesso in coloro che sono andati incontro ad un periodo di sospensione del farmaco e sua successiva reintroduzione (15). E' infatti noto che l'interruzione del trattamento porta ad una perdita di tolleranza, con aumentato rischio di avere eventi avversi al momento della ripresa del farmaco stesso. Raramente lo sviluppo di ADA può associarsi ad eventi ritardati, quali la malattia da siero, reazioni cutanee disseminate ed eventi trombotici (7,10). Nella Figura 2 sono riportati i meccanismi effettori attivati da ADA di isotipo IgE e non IgE.

Reazioni miste

Alcune HRs mostrano elementi clinici suggestivi di entrambi i meccanismi (CRR e reazione mediata da anticorpi IgE), e soprattutto si caratterizzano per il rilievo di biomarcatori sierici tipici di entrambi i meccanismi di reazione, quali per esempio incremento dei livelli sierici di IL-6 e incremento della triptasi e/o positività dei test cutanei e/o dimostrazione di IgE sieriche circolanti specifiche per il farmaco responsabile della HRs. Per questo motivo tali reazioni

vengono definite miste. Dai dati della letteratura, sembra che circa il 20% delle reazioni ai biologici riconoscano questo endofenotipo (16).

Reazioni ritardate

Le HRs di tipo ritardato possono avere manifestazioni cliniche molto variabili, distinguendo reazioni locali da reazioni sistemiche. Le manifestazioni locali che si presentano nel sito di iniezione del farmaco sono costituite da prurito, eritema, placche, dolore. Generalmente trattasi di eventi autolimitantesi, ma

talvolta possono essere responsabili della sospensione del trattamento stesso. I meccanismi patogenetici responsabili di questi eventi possono essere variabili, quali reazioni cellulari T-dipendenti oppure effetti irritanti leganti all'eccepiante presente nella formulazione.

Le reazioni ritardate sistemiche, sicuramente meno frequenti, compaiono generalmente entro le prime due settimane dalla somministrazione del farmaco biologico e si caratterizzano per esantemi maculo-papulari generalizzati, esantemi lichenoidi o granulomatosi,



Figura 2

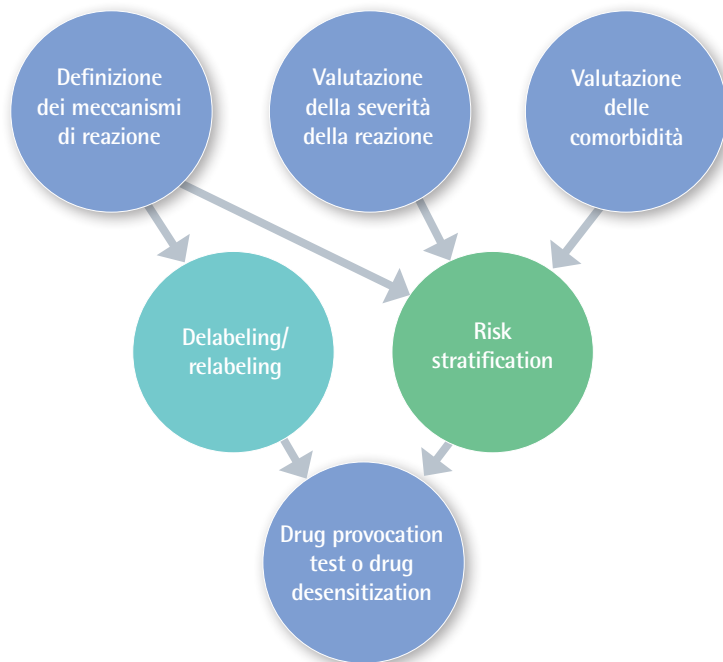
Come gli anticorpi anti farmaco (ADA) possono indurre reazioni di ipersensibilità immediate e ritardate

ISOTIPO ADA	MECCANISMO IMMUNOLOGICO EFFETTORE	TEMPO DI INSORGENZA E CARATTERISTICHE CLINICHE DELLA REAZIONE&AVVERSA
IgE	<ul style="list-style-type: none"> • Interazione con il recettore FcεRI su mastociti e basofili 	Reazioni immediate orticaria/flushing/anafilassi
Non IgE	<ul style="list-style-type: none"> • Interazione con il recettore FcγRIII su basofili, neutrofilii e macrofagi • Attivazione della cascata del complemento da parte di ICC (farmaco ADA), rilascio di anafilotossine, attivazione dei mastociti 	Reazioni immediate orticaria/flushing/anafilassi
	<ul style="list-style-type: none"> • ICC (immunocomplessi circolanti), deposizione tissutale e attivazione del Complemento 	Reazioni ritardate Vasculite cutanea, malattia da siero like, eventi trombotici



Figura 3

Obiettivi del work up allergologico nei pazienti con reazioni ai farmaci biologici



fine di capire se tale farmaco potrà essere risomministrato e con quale modalità (Figura 3).

Infatti, le HRs ai farmaci biologici possono non solo essere severe, ma anche compromettere l'uso di farmaci di prima linea per il timore di indurre ulteriori reazioni. Sebbene i dati relativi al successo della desensibilizzazione per farmaci biologici siano ormai abbondantemente presente in letteratura, sembra che solo il 4% dei pazienti con HRs vengono poi inviati alla valutazione allergologica, più spesso lo specialista di riferimento preferisce modificare il trattamento senza un preciso work-up allergologico. Il primo obiettivo quindi dell'allergologo è quello di procedere alla definizione del meccanismo di HRs mediante una diagnostica in vitro ed in vivo. Secondariamente il work-up allergologico è finalizzato ad identificare la modalità più sicura di risomministrazione del farmaco, nel caso non vi siano controindicazioni assolute o farmaci alternativi di pari efficacia per la condizione clinica in oggetto.

Delabeling mediante tests diagnostici in vitro e in vivo

Il primo obiettivo del work-up allergologico in un paziente con reazione al farmaco biologico è rappresentato dal "delabeling" ossia dalla dimostrazione dell'assenza di una vera sensibilizzazione ADA-mediata (IgE-mediata e non IgE-mediata) nei confronti del farmaco stesso. Questo obiettivo può essere raggiunto attraverso l'esecuzione di una diagnostica in vivo ed in vitro, volta a ricercare la presenza di ADA e

fino a raggiungere quadri sistemici a tipo eritema multiforme o sindrome di Steven-Johnson (7).

COSA PUÒ FARE L'ALLERGOLOGO?

Considerazioni generali

Nel settore allergologico ovviamente la problematica delle reazioni infusionali correlate a questa nuova classe di farmaci, siano essi a somministrazione

endovenosa che sottocutanea, è divenuta sempre più attuale e sempre più frequentemente lo specialista allergologo sarà chiamato a confrontarsi con la gestione di pazienti che hanno sviluppato un evento avverso a farmaco biologico. Nello specifico, la figura dell'allergologo non è quasi mai coinvolta nella gestione della reazione nella sua fase acuta, quanto piuttosto l'allergologo è chiamato a identificare il meccanismo della reazione avversa che si è presentata, al



la loro isotipizzazione. Il dosaggio e la caratterizzazione degli ADA possono essere effettuati attraverso varie tecniche (ELISA, RIA, ECL, Surface Plasmon Resonance), ognuna delle quali presenta vantaggi e limiti (17). Il metodo attualmente più utilizzato è rappresentato da un test ELISA “double antigen bridging assay”. Questo metodo, caratterizzato da una buona sensibilità, permette di dosare gli ADA in modo non isotipo-specifico, ossia indipendentemente dalla classe di appartenenza (IgG, IgE, IgM, IgA), e pertanto rappresenta un buon test di screening (17). Il dosaggio deve essere effettuato su un campione di siero prelevato a distanza opportuna dall’ultima somministrazione del farmaco, per limitare fenomeni di interferenza nel test da parte del farmaco circolante, il quale si lega agli anticorpi eventualmente presenti causando risultati falsamente negativi (“drug interference”). La caratterizzazione isotipica degli ADA deve valutare la presenza di ADA IgE, la cui identificazione può essere difficoltosa se si considera la bassa frequenza di questa classe di immunoglobuline rispetto agli altri isotipi di ADA che possono avere la stessa specificità. Per questo motivo una delle metodiche più importanti ed utili per la isotipizzazione IgE sfrutta la tecnologia ImmunoCAP (18).

La diagnostica delle HRs a biologici può avvalersi anche delle prove cutanee mediante skin prick test e test intradermico con il farmaco biologico implicato nell’evento avverso, con la finalità di dimostrare un meccanismo IgE-mediato (19). Peraltro, per i farmaci biologici nei pazienti reattivi è emersa una stretta

correlazione tra positività dei test in vivo e presenza di IgE circolanti farmaco-specifiche (15). Possono essere eseguiti prick test e test intradermico a lettura immediata (20’) e ritardata (24-48 h), facili da eseguire e dotati di buona specificità. Purtroppo, la sensibilità risulta essere bassa in particolare per il prick test (20). Il test intradermico pur dimostrando una discreta sensibilità, può indurre falsi positivi per l’effetto irritante del farmaco. Quanto sopra avvalorato che la diagnostica in vivo debba essere eseguita da personale specializzato con esperienza nel settore dell’allergia a farmaci.

Pernangono ad oggi alcuni “unmet needs” relativi alla diagnostica in vivo ed in vitro che può essere applicata ai pazienti con HRs ai biologici, quali:

- La standardizzazione delle concentrazioni di farmaco da utilizzare per l’effettuazione dei test cutanei
- La valutazione dei tempi di negativizzazione dei test cutanei
- Il costo del farmaco biologico che ne limita la sua disponibilità per l’utilizzo nelle prove cutanee
- La definizione del ruolo dei test cutanei nell’inquadramento delle reazioni ritardate
- La definizione precise delle cellule coinvolte nelle reazioni non IgE-mediate
- Il ruolo degli ADA nello sviluppo delle reazioni ritardate di tipo sistemico
- La mancanza di piattaforme commercialmente disponibili per la deteazione degli ADA IgE

L’allergologo ed il Drug Provocation Test

Stanno emergendo dati interessanti sull’uso del test di provocazione (Drug Provocation Test, DPT) anche per i farmaci biologici, supponendolo come il principale test diagnostico (gold standard) per poter escludere o confermare una vera sensibilizzazione nei confronti del farmaco (20). Trattasi di una procedura in cui avviene la somministrazione “controllata” del farmaco verosimilmente responsabile dell’evento avverso (21). Nel caso in cui il DPT sia positivo (ossia si realizzi un evento avverso simile a quello che ha caratterizzato la reazione di ipersensibilità, il paz sarà avviato ad una drug desensitization; viceversa, se il DPT sarà negativo (farmaco ben tollerato), il paziente verrà ritrattato successivamente con la modalità standard prevista (20). Il DPT può essere sicuramente uno strumento utile per evitare di esporre il paziente ad una procedura di desensibilizzazione non necessaria, ma dobbiamo tenere conto del fatto che trattasi comunque di una tecnica ad alto rischio, che non esistono protocolli standardizzati e validati, ed infine che la caratterizzazione del paziente ideale candidabile ad un DPT per biologico non è ancora ben chiara (22). La selezione del paziente da destinare al DPT prevede comunque l’esecuzione della diagnostica in vitro e/o in vivo (ricerca degli ADA, dosaggio di triptasi, e test cutanei) al fine di effettuare, per quanto possibile un “risk assessment” del paziente prima di optare per il DPT. Ciò che è indiscutibile è che il DPT debba essere eseguito solo da allergologi con expertise nell’ambito dell’allergia a far-



Figura 4

Requisiti necessari per lo specialista allergologo che si occupa della gestione dei pazienti con ipersensibilità a farmaci biologici



maci, e meglio ancora presso una struttura dove tutto l'iter di risk assessment sia effettuabile.

Drug desensitization (DD) per i farmaci biologici

Infine, l'allergologo rappresenta la figura centrale per poter attuare una procedura di desensibilizzazione al farmaco biologico, definendo anche il protocollo stesso di DD.

La desensibilizzazione rappresenta una possibile strategia da intraprendere al fine di poter proseguire il trattamento con il farmaco biologico a cui il pazien-

te è risultato intollerante (23, 24). Nella pratica clinica la DD si rende necessaria quando non esistono farmaci alternativi di pari efficacia per il paziente stesso. La procedura di desensibilizzazione consiste nella somministrazione di dosi crescenti del farmaco ad intervalli di tempo regolari, fino al raggiungimento della dose terapeutica (25). È importante ricordare che la "tolleranza" così ottenuta è una condizione transitoria in quanto antigene-dipendente, ossia legata alla costante presenza del farmaco; è per tale motivo che la procedura di desensibilizzazione deve essere ripetuta prima di ciascuna

infusione. Tuttavia, stanno emergendo alcuni dati interessanti relative alla capacità della DD di modificare la risposta immunologica anti-farmaco (26). La DD potrebbe infatti essere grado di modulare profondamente la risposta immune anti-biologico sia a livello umorale che cellulare, coinvolgendo meccanismi di tipo regolatorio, quali la produzione di citochine ad attività regolatoria (interleuchina 10 ed interleuchina 35). Infatti, durante le procedure di DD si può verificare una progressiva riduzione dei livelli di ADA e parallelamente una down-regolazione della risposta cellulare T nei confronti del farmaco; da sottolineare che la modulazione della risposta esercitata dalla DD avviene in modo antigene-specifico (27). È ben noto che le prove cutanee a lettura immediata specifiche per il farmaco si negativizzano al termine di ciascuna DD, per un fenomeno di "tuning off mastocitario" (28), ma è altresì interessante notare che anche le prove cutanee eseguibili prima di ogni procedura di DD, mostrano una progressiva negativizzazione durante il proseguimento dei cicli di DD, suggerendo una sorta di "desensibilizzazione mastocitaria", parallela alla riduzione dei livelli di ADA e della risposta proliferativa T al farmaco (29).

In conclusione, durante la DD probabilmente si attivano due indipendenti meccanismi: il primo di inibizione del rilascio dei mediatori da parte dei mastociti, il secondo di sviluppo di una risposta regolatoria in grado di inibire la risposta adattiva. Entrambi questi meccanismi si attuano in modo antigene-specifico e concorrono a prevenire le HRs.



Ottimizzazione della drug desensitization: strategie che l'allergologo può attuare

E' noto dalla letteratura che la desensibilizzazione può essere di per sé gravata dalla comparsa di reazioni avverse anche gravi (breakthrough reactions) e pertanto tale procedura deve essere effettuata da personale specializzato e dopo un'attenta valutazione clinica e laboratoristica come sopra esposto. L'allergologo ha a disposizione una serie di strategie per poter mitigare e/o prevenire le breakthrough reactions, con lo scopo di portare a termine la DD con successo, quali:

- Aggiungere degli step di premedicazione
- Allungare il protocollo aggiungendo degli step di velocità intermedi al fine di decelerare la dose-escalation
- Ridurre la velocità di inizio o termine della DD
- Utilizzare una strategia terapeutica anti-IgE a completamento della DD

In presenza di una dimostrata sensibilizzazione IgE-mediata mediante prove cutanee e/o sierologiche, può essere utile aggiungere alla premedicazione l'uso di omalizumab, anticorpo monoclonale anti-IgE, in grado di legare le IgE sieriche, prevenendo il cross-linking del recettore FcεR ad alta affinità sulle cellule mastocitarie. Alcuni dati in letteratura sono infatti presenti che descrivono il successo di desensibilizzazioni ottimizzate con omalizumab in pazienti adulti e pediatrici con HRs a rituximab e infliximab (30, 31).

CONCLUSIONI

Dato il crescente uso dei farmaci biologici per il trattamento di varie patologie e la capacità di questi farmaci di indurre eventi avversi, l'allergologo deve mostrare un crescente interesse ed expertise nel management di queste situazioni, che peraltro possono interessare sia soggetti adulti che pediatrici.

La gestione che l'allergologo deve fornire spazia dalla definizione del meccanismo patogenetico al ritrattamento in caso di necessità del paziente garantendo condizioni di massima sicurezza. D'altro canto l'allergologo per poter effettivamente gestire pazienti reattivi ai biologici, ha necessità di supporti specifici quali spazi e personale dedicato in clinica ed in laboratorio (Figura 4).



Bibliografia

1. Willrich MA, Murray DL, Snyder MR. Tumor necrosis factor inhibitors: clinical utility in autoimmune diseases. *Transl Res.* 2015;165:270-82.
2. Mollica Poeta V, Massara M, Capucetti A, et al. Chemokines and Chemokine Receptors: New Targets for Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2019;610:379.
3. Luchetti MM, Benfaremo D, Gabrielli A. Biologics in Inflammatory and Immune-mediated Arthritis. *Curr Pharm Biotechnol.* 2017;18(12):989-1007.
4. Hässler S, Bachelet D, Duhaze J, et al; ABIRISK consortium. Clinicogenomic factors of biotransformation immunogenicity in autoimmune disease: A prospective multicohort study of the ABIRISK consortium. *PLoS Med.* 2020;17(10):e1003348.
5. Morrow T, Felcone LH. Defining the difference: what makes biologics unique. *Biotechnol Healthc.* 2004;1(4):24-29.
6. Matucci A, Vultaggio A, Nencini F, et al. Anaphylactic reactions to biological drugs. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2020;20(4):346-351.
7. Vultaggio A, Castells MC. Hypersensitivity reactions to biologic agents. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2014;34:615-632.
8. Isabwe GAC, Garcia Neuer M, de Las Vecillas Sanchez L, et al. Hypersensitivity reactions to therapeutic monoclonal antibodies: phenotypes and endotypes. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142(1):159-170.
9. Lee PY, Cron RQ. The Multifaceted Immunology of Cytokine Storm Syndrome. *J Immunol.* 2023;210(8):1015-1024.
10. Vultaggio A, Nencini F, Pratesi S, et al. Manifestations of Antidrug Antibodies Response: Hypersensitivity and Infusion Reactions. *J Interferon Cytokine Res.* 2014;34(12):946-952.
11. Castells M. Diagnosis and management of anaphylaxis in precision medicine. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(2):321-333.
12. Vultaggio A, Maggi E, Matucci A. Immediate adverse reactions to biologics: from pathogenic mechanisms to prophylactic management. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011;11(3):262-268.
13. Vultaggio A, Petroni G, Pratesi S, et al; ABIRISK Consortium. Circulating T cells to infliximab are detectable mainly in treated patients developing anti-drug antibodies and hypersensitivity reactions. *Clin Exp Immunol.* 2016;186(3):364-372.
14. Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, et al.



Drug-specific Th2 cells and IgE antibodies in a patient with anaphylaxis to rituximab. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;159(3):321-326.

15. Matucci A, Pratesi S, Petroni G, et al. Allergological in vitro and in vivo evaluation of patients with hypersensitivity reactions to infliximab. *Clin Exp Allergy.* 2013;43(6):659-664.

16. de Las Vecillas L, Caimmi D, Isabwe GAC, et al. Hypersensitivity reactions to biologics in children, *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2023;1:61-72.

17. Nencini F, Pratesi S, Petroni G, et al. Assays and strategies for immunogenicity assessment of biological agents. *Drug Dev Res.* 2014;75 Suppl 1:S4-6.

18. Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, et al. Anti-infliximab IgE and non-IgE antibodies and induction of infusion-related severe anaphylactic reactions. *Allergy.* 2010;65(5):657-661.

19. Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, et al. Skin testing and infliximab-specific antibodies detection as a combined strategy for preventing infusion reaction. *Intern Emerg Med.* 2012 Sep;7 Suppl 2:S77-9.

20. Bavbek S, Pagani M, Alvarez-Cuesta E, et al. Hypersensitivity reactions to biologicals: An EAACI position paper. *Allergy.* 2022;77(1):39-54.

21. Martí-Garrido J, Vázquez-Revuelta P, Leonart-Bellfill R, et al. Pilot Experience Using Drug Provocation Testing for the Study of Hypersensitivity to Chemotherapy and Biological Agents. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2021;31(2):166-168.

22. Alvarez-Cuesta E, Madrigal-Burgaleta R, Broyles AD et al. Standards for practical intravenous rapid drug desensitization & delabeling: A WAO committee statement. *World Allergy Organ J.* 2022;15(6):100640.

23. Hsu Blatman KS, Castells MC. Desensitizations for chemotherapy and monoclonal antibodies: indications and outcomes. *Curr Allergy*

Asthma Rep. 2014;14(8):453.

24. Vultaggio A, Perlato M, Nencini F, et al. How to Prevent and Mitigate Hypersensitivity Reactions to Biologicals Induced by Anti-Drug Antibodies? *Front Immunol.* 2021;12:765747.

25. De las Vecillas Sánchez L, Alenazy L, Garcia-Neuer M, et al. Drug hypersensitivity and desensitizations: mechanisms and new approaches. *Int J Mol Sci* 2017; 18,1316 .

26. Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, et al. Mechanisms of Drug Desensitization: Not Only Mast Cells. *Front Pharmacol.* 2020;11:590991.

27. Vultaggio A, Nencini F, Bormioli S, et al. Drug-specific Treg cells are induced during desensitization procedure for rituximab and tocilizumab in patients with anaphylaxis. *Sci Rep.* 2021;11(1):12558.

28. Lee CW, Matulonis UA, Castells MC. Carboplatin hypersensitivity: a 6-h 12-step proto-

col effective in 35 desensitizations in patients with gynecological malignancies and mast cell/IgE-mediated reactions. *Gynecol. Oncol* 2004; 95:370-376.

29. Vultaggio A, Nencini F, Bormioli S, et al. Desensitization modulates humoral and cellular immune response to infliximab in a patient with an immediate hypersensitivity reaction. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020; 8:1764-1767.

30. Gemici Karaaslan HB, Karabag Yilmaz E, Gulmez R, et al. Omalizumab may facilitate drug desensitization in patients failing standard protocols. *Pediatr Allergy Immunol.* 2022;33(5): e13783

31. Perlato M, Mecheri V, Accinno M, et al. Rituximab and infliximab desensitization with anti-IgE mAb omalizumab as adjuvant therapy: a case series. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2022;10(12):3317-3319.

Lofarma Academy

Fare informazione, fare professione

Il nostro progetto dedicato ai giovani Specializzandi delle Scuole di Allergologia e Immunologia clinica italiane offre l'opportunità ai futuri specialisti del settore di consolidare le proprie competenze in sinergia con quanto appreso durante il percorso accademico.

► **Confronto** tra specializzandi e professionisti

► **Know-how** dell'industria farmaceutica

► **Networking** tra i giovani di Scuole diverse



Trovi tutte le informazioni sul programma di **Lofarma Academy 2023** nell'Area Medici del sito



Contatti

E-mail: academy@lofarma.it
Whatsapp 337-1336272



Vitamina D e microbiota: esiste un legame con le malattie allergiche?

Paladin Francesca

Dipartimento di Medicina Interna,
Università degli Studi di Genova,
Ospedale Policlinico San Martino IRCCS,
Genova

Not Allergol 2022; vol. 40: n. 3: 65-73

1

INTERAZIONI TRA VITAMINA D, MICROBIOMA E SISTEMA IMMUNITARIO

1,25(OH)₂D₃ agisce principalmente attraverso il VDR (1), un recettore ormonale nucleare e fattore di trascrizione espresso in una varietà di tessuti, tra cui l'intestino, il tessuto adiposo e il fegato, così come la maggior parte delle cellule immunitarie (2). La VDR gioca un ruolo chiave nella modulazione della risposta immunitaria poiché espressa a livello di diverse popolazioni cellulari, comprese le cellule T CD4 e CD8, le cellule B, i neutrofilo e le cellule presentanti l'antigene (APC) (3). La VDR è anche altamente presente nell'intestino tenue e nel colon, dove svolge ruoli critici nella proliferazione, differenziazione, permeabilità, interazioni ospite-

RIASSUNTO

Parole chiave e acronimi

• vitamina D • microbiota • sistema immunitario • allergie

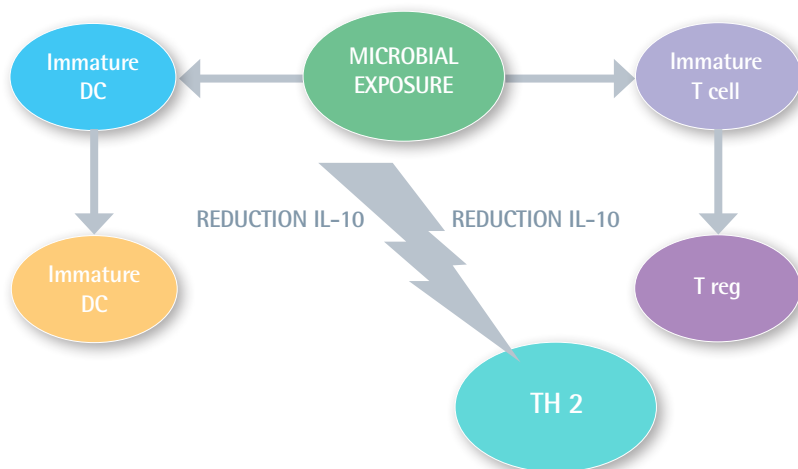
Nell'ultimo decennio si è assistito ad un crescente riconoscimento dell'importanza sia del microbiota che della vitamina D negli stati di salute e malattia, con particolare interesse sull'effetto che questi ultimi hanno sul sistema immunitario. La ricerca indica infatti che il microbiota esibisce proprietà sia pro-infiammatorie che anti-infiammatorie, in modo diretto o indiretto e le alterazioni della sua composizione sono strettamente associate a disturbi immunologici. Anche la vitamina D, nota per il suo ruolo sull'omeostasi del calcio e del fosfato e quindi sulla salute delle ossa, vanta tra gli altri effetti sistemici un ruolo importante nella modulazione della risposta immunitaria. Studi crescenti hanno evidenziato l'esistenza di una forte interconnessione tra microbiota e vitamina D nella regolazione immunologica, dimostrando come ad esempio, le alterazioni nella segnalazione della vitamina D / VDR (recettore della vitamina D) siano associate alla disbiosi del microbioma, a sua volta coinvolta non solo nei processi infiammatori intestinali, ma in quelle extra-intestinali come la malattia atopica. Considerando l'ottima sicurezza e l'economicità della vitamina D e dei probiotici, appare plausibile che la loro integrazione possa contribuire a prevenire lo sviluppo di infezioni e a regolare la risposta immunitaria, prevenendo lo sviluppo di allergie.



AGGIORNAMENTI

Figura 1

Effetti regolatori dell'esposizione microbica sulle cellule Th2



microbica, immunità e suscettibilità alle infezioni patogene, giocando un ruolo fondamentale nel mantenimento di un microbioma sano (4).

Negli ultimi anni è diventato evidente come il microbioma intestinale, nello specifico, svolga un ruolo da protagonista nel plasmare il sistema immunitario e contribuire alla patogenesi di molte malattie. Quest'ultimo, infatti, sarebbe capace di rilasciare differenti metaboliti, favorendo l'attivazione di cellule dendritiche (DC) e T regolatorie (Treg), responsabili a loro volta della stimolazione delle cellule T attivate derivate dall'intestino verso altri compartimenti del corpo (Figura 1).

Sia la carenza di vitamina D che la disbiosi hanno dimostrato avere un impatto significativo sull'infiammazione

sistemica e cronica, aumentando il rischio di sviluppare diverse condizioni morbose, tra cui malattie cardiovascolari, neurologiche, infettive (incluso COVID-19), ma anche disturbi autoimmuni (5,6). In merito al ruolo del microbiota e della vitamina D nella patogenesi delle allergie, questa può essere spiegata attraverso due differenti ipotesi: quella dell'igiene e quella della vitamina D. L'ipotesi dell'igiene è stata proposta per la prima volta nel 1989 da David P. Strachan (7), che ha postulato che le infezioni nella prima infanzia, trasmesse dal contatto non igienico con i fratelli maggiori o acquisite prenatalmente dalla madre, potrebbero prevenire lo sviluppo di malattie allergiche. L'ipotesi della vitamina D si basa invece sull'idea che adeguati livelli di questa molecola e la

sua supplementazione nel primo anno di vita, possano sensibilizzare i bambini contro gli allergeni riducendo il rischio di sviluppo di allergie alimentari e asma (8). D'altra parte, alti livelli di vitamina D possono anche aumentare il rischio di sensibilizzazione allergica, inibendo la maturazione delle cellule dendritiche e lo sviluppo di risposte T-helper 1 (Figura 2) (9).

La ricerca sul microbioma intestinale e sulla vitamina D è quindi considerata promettente per la comprensione, il trattamento e la prevenzione delle malattie autoimmuni e allergiche (10). Negli ultimi 10 anni sono stati scoperti più livelli di interazione tra il microbiota e le cellule del sistema immunitario innato, oltre ad un crescente interesse in merito agli effetti extra-scheletrici della vitamina D, in particolare quello esibito nell'immunità innata. La vitamina D si è infatti dimostrata capace di stimolare la produzione di recettori di riconoscimento dei pattern, peptidi antimicrobici e citochine (11). Oltre a questo, la VDR epiteliale intestinale regola l'autofagia e le funzioni immunitarie innate attraverso il gene dell'autofagia ATG16L1, che potrebbe modificare il profilo del microbiota (12).

2 RUOLO DELLA VITAMINA D NELLA COMPOSIZIONE DEL MICROBIOTA

Con il termine di disbiosi si intende uno squilibrio dei batteri commensali e patogeni e la conseguente produzione di antigeni e metaboliti microbici. Questa



condizione, favorita da alcuni fattori di rischio come l'alimentazione artificiale, l'uso di antibiotici, le caratteristiche batteriche e delle cellule della mucosa ed il tipo di dieta (13), è stata collegata sia all'insorgenza di processi infiammatori intestinali che a condizioni extra-intestinali associate ad infiammazione cronica e disfunzione metabolica, come la sindrome metabolica, l'obesità e la malattia atopica (14). Diversi studi hanno infatti dimostrato che la carenza di vitamina D o i polimorfismi inattivanti nella VDR sono associati alla disbiosi del microbiota, con conseguenti aumenti dei phyla Bacterioides e Proteobacteria e quindi dei disturbi infiammatori (15). A conferma di questa interazione è stato evidenziato come l'integrazione di vitamina D nei pazienti con malattia di Crohn promuova la crescita di alcune specie batteriche nel microbioma intestinale, come Alistipes, Barnesiella, Roseburia, Anaerotruncus e Subdoligranulum. Nei pazienti affetti da sclerosi multipla, invece, è associato a un'abbondanza di Akkermansia, che promuove la tolleranza immunitaria, così come Faecalibacterium e Coprococcus, che producono entrambi butirrato, un acido grasso a catena corta (SCFA) dotato di potere antinfiammatorio (16). Inoltre, Chatterjee et al. (17) hanno dimostrato che i topi knockout VDR hanno una diversa composizione del microbioma. I loro campioni fecali, infatti, contenevano Clostridium, Eubacterium, Bacteroides, Tannerella e Prevotella, mentre i campioni di topi di controllo contenevano Lactobacillus, Butyrivibrio e Lactococcus. La carenza di vitamina D

ha anche un ruolo chiave nella composizione del microbioma delle vie aeree, poiché l'integrazione orale settimanale ha mostrato un impatto positivo sui pazienti con fibrosi cistica (18). Oltre a questo, i livelli di vitamina D in utero (e poco dopo la nascita) potrebbero anche influenzare la comunità microbica che colonizza l'intestino infantile favorendo una maggiore abbondanza di Lachnospiraceae / U. Clostridiales e Lachnobacterium ed una diminuzione di Lactococcus (19). Durante l'infanzia, la composizione del microbioma intestinale riveste un ruolo importante nello sviluppo di allergie alimentari, poiché la microflora dei bambini atopici sem-

bra essere diversa dai normali controlli (20). I bambini con un'allergia al latte vaccino non IgE-mediata (CMA), ad esempio, hanno mostrato abbondanza di Bacteroides ed Alistipes prima del trattamento dietetico. I Bacteroides erano ancora più alti nei bambini con allergia al latte vaccino IgE-mediata, suggerendo un ruolo chiave di questi batteri nella patogenesi della CMA (21). Anche livelli più bassi di vitamina D nei primi anni di vita hanno maggiori probabilità di portare allo sviluppo di allergie alimentari, suggerendo un possibile legame con lo sviluppo del microbiota (22). La segnalazione della vitamina D/VDR svolge un ruolo importante non solo nel

Figura 2 Effetti dell'ipovitaminosi D e della disbiosi sul sistema immunitario

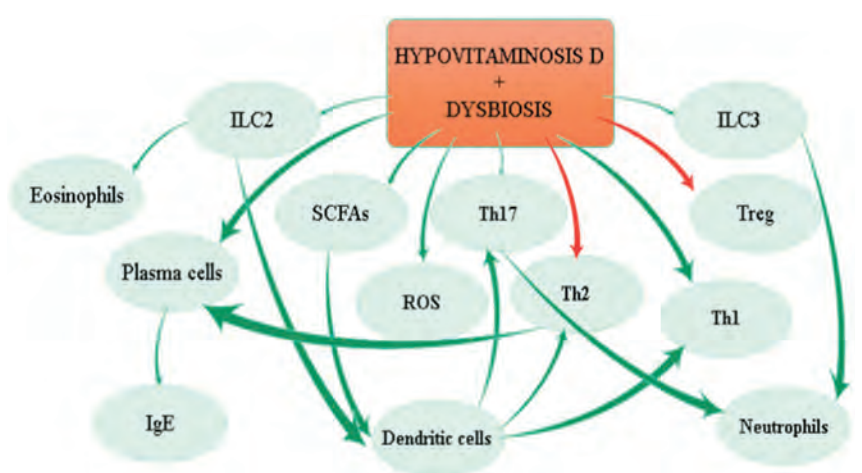
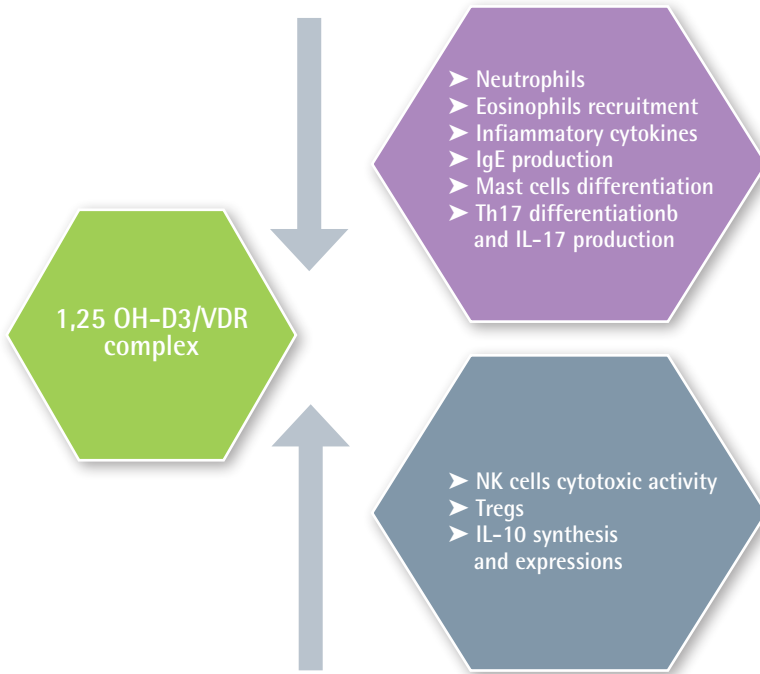


Immagine tratta da Murdaca G, Gerosa A, Paladin F, et al. Vitamin D and Microbiota: Is There a Link with Allergies? *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 20;22(8):4288.



Figura 3

Effetti del complesso VD/VD sul sistema immunitario



mantenimento di un corretto microbiota, ma anche nel garantire l'integrità epiteliale, regolando l'espressione delle giunzioni strette (TJ) e delle giunzioni aderenti (AJ). Quando questo strato è compromesso e i batteri ottengono l'accesso alla lamina propria, la vitamina D favorisce l'attivazione e la soppressione del sistema immunitario innato e adattativo in questo sito (Figura 3) (23,24). La segnalazione VDR mantiene anche l'integrità della barriera intestinale arrestando l'apoptosi indotta dall'infiammazione delle cellule epiteliali (25). Una maggiore permeabilità nella barriera in-

testinale è stata associata sia a malattie intestinali (ulcere gastriche, IBD, diarrea infettiva) che extraintestinali (allergie, infezioni, infiammazioni croniche, diabete di tipo 1 e disturbi comportamentali) (26,27). Nei primi anni di vita, i cambiamenti nello sviluppo della barriera intestinale sono infatti legati a una maggiore esposizione agli antigeni luminali e alle risposte immunologiche accelerate, con conseguente manifestazione clinica come le allergie alimentari (28). La vitamina D presenta inoltre un forte legame sinergico gli acidi grassi a catena corta (SCFA), come il butirrato, con il

quale coopera all'aumento della sintesi del peptide di difesa dell'ospite (HDP), un componente del sistema immunitario innato con attività antimicrobica e immunomodulatoria (29). Il butirrato è infatti in grado di determinare un aumento nell'espressione di VDR e di favorire la differenziazione della 1,25-diidrossivitamina D3. Il butirrato è noto, inoltre, per promuovere la differenziazione delle Treg, influenzando così l'equilibrio tra risposte pro- e antinfiammatorie (30). Il butirrato promuove una downregulation della produzione di citochine proinfiammatorie (ad esempio, IL-6, IL-12) indotte da lipopolisaccaride (LPS) da parte dei macrofagi intestinali, il tipo di cellule immunitarie più abbondante nella lamina propria (31). A sostegno della relazione tra SCFA e allergia, Canani et al. (32) hanno dimostrato che i bambini CMA non IgE-mediati presentavano una concentrazione fecale inferiore di butirrato rispetto al controllo e che questo potrebbe essere correlato a un'abbondanza di *Lachnospira* e *Bacteroides* intestinali nei bambini allergici.

3 STRESS OSSIDATIVO E DISBIOSI

Lo stress ossidativo è spesso correlato alla disbiosi, in quanto in grado di diminuire la varietà microbica intestinale, promuovendo la crescita di batteri specifici attraverso la respirazione di nitrati e tetrati, come *Salmonella* e *Citrobacter*. Si ritiene che lo stress ossidativo indotto dalle forme reattive



dell'ossigeno (ROS), aumenti la reazione infiammatoria portando, probabilmente attraverso un meccanismo di feedback positivo, ad un aumento della produzione dei ROS stessi e conseguente danno tissutale (33). La vitamina D regola i livelli di ROS attraverso i suoi effetti antinfiammatori e l'espressione mitocondriale di antiossidanti attraverso le vie di segnalazione cellulare. La vitamina D insieme al Klotho, un gene anti-invecchiamento la cui espressione è regolata dalla vitamina D stessa, e al fattore nucleare eritroide-2 (Nrf2), regola l'espressione di molti dei sistemi antiossidanti che prevengono lo stress ossidativo rimuovendo i ROS e invertendo i cambiamenti ossidativi (34). Quando l'attività di Nrf2 è insufficiente, aumentano i rischi di danno tissutale correlato allo stress ossidativo, con conseguente eccessiva formazione di ROS (34).

4

IL RUOLO DEL MICROBIOTA E DELLA VITAMINA D NELLE MALATTIE ALLERGICHE

4.1 Asma allergica

L'asma è una condizione respiratoria che deriva da complesse interazioni tra molteplici influenze ambientali e genetiche. I fattori di rischio proposti per l'asma variano con l'età di insorgenza e la tempistica delle esposizioni e dei comportamenti relativi all'insorgenza della stessa. I microbi sono stati a lungo postulati per svolgere un ruolo patogenetico nell'asma, potendone anche modellare la sua eterogeneità (35). L'e-

sposizione a batteri e prodotti batterici potrebbe, infatti, influenzare lo sviluppo della sensibilizzazione agli allergeni e quindi dell'asma, sebbene gli effetti esatti sembrano dipendere da una complessa interazione tra tempi di esposizione (primo anno di vita rispetto ad età più avanzata), posizione, abbondanza e diversità del microbioma (36). Il meccanismo di questo effetto protettivo non è noto, ma sono stati ipotizzati fattori quali cambiamenti nella microflora intestinale e relativi effetti sull'immunità innata. Inoltre, gli studi hanno suggerito che le interazioni tra virus respiratorio sinciziale (RSV) e microbiota nasofaringeo potrebbero modulare la risposta immunitaria dell'ospite, influenzando potenzialmente la gravità della malattia clinica come il rischio di respiro sibilante e sintomi di asma. L'infezione da RSV si è dimostrato capace di alterare il microbioma delle vie aeree, provocando un aumento nella proliferazione di *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* ed *Haemophilus influenzae* nei bambini con e senza asma (37). Il Vitamin D Antenatal Asthma Reduction Trial (VDAART) ha tentato di rispondere alla domanda se l'integrazione di vitamina D alle donne in gravidanza possa prevenire lo sviluppo di asma e allergie nei loro figli. Lo scopo di questo studio era determinare se i bambini nati da madri che avevano ricevuto 4400 UI di vitamina D3 al giorno durante la gravidanza (gruppo vitamina D) avrebbero avuto una minore incidenza di asma e respiro sibilante ricorrente all'età di sei anni rispetto a quelli nati da madri che avevano ricevuto 400 UI di vitamina

D3 al giorno (gruppo di controllo). Il follow-up post-natale a sei anni ha mostrato che la supplementazione vitaminica prenatale da sola non ha influenzato in maniera significativa l'incidenza di asma e respiro sibilante ricorrente tra i bambini a rischio (38,39).

4.2 Dermatite atopica

Una molteplicità di fattori, tra cui anomalie della barriera cutanea, difetti nella risposta immunitaria innata, risposta immunitaria adattativa Th2-distorta e flora microbica residente nella pelle alterata risultano coinvolti nella patogenesi della dermatite atopica (AD) (40). L'aumento della prevalenza di AD, in particolare nelle regioni industrializzate, è stato ipotizzato essere dovuto all'eccessiva igiene che accompagna lo stile di vita occidentale, riducendo l'esposizione del sistema immunitario dell'ospite all'istruzione fornita da microbi benefici. Ad esempio, lo *Staphylococcus aureus* è il più comune patogeno di AD coltivato in pelle e la sua colonizzazione è associata ad un aumento delle risposte IgE, allergia alimentare e gravità della malattia della pelle AD (41,42). Vi è crescente evidenza che i microbi commensali della pelle normale possano migliorare la barriera cutanea e aumentare la difesa dell'ospite contro i patogeni della cute, incluso *S. aureus*. Alcuni commensali come *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus hominis* secernono attività antimicrobiche che inibiscono la crescita di *S. aureus* e la formazione di biofilm (43,44). *S. epidermidis* si è dimostrato inoltre capace di stimolare il recettore Toll-like 2 per indurre la



produzione di peptidi antimicrobici derivati dai cheratinociti e di aumentare le giunzioni strette per migliorare la barriera cutanea (45). Alcuni piccoli studi randomizzati hanno valutato il ruolo dell'integrazione di vitamina D nella prevenzione dell'esacerbazione invernale della AD (46,47,48). Nello studio più grande, 107 bambini con una storia di peggioramento della AD durante l'inverno sono stati trattati quotidianamente con 1000 UI di vitamina D o placebo per un mese. L'esito primario era una riduzione dell'area e dell'indice di gravità dell'eczema misurato dal clinico (EASI). Alla fine dello studio, la diminuzione media del punteggio EASI era 6,5 nel gruppo vitamina D e 3,3 nel gruppo placebo (46). Sebbene i risultati di questi studi suggeriscano che l'integrazione invernale di vitamina D possa essere utile per i pazienti con dermatite atopica, sono necessari studi più ampi e ben progettati per chiarire il suo ruolo nella prevenzione e nel trattamento della dermatite atopica.

4.3 Allergie alimentari

Si ritiene che l'allergia alimentare comporti una deviazione dallo stato predefinito di tolleranza immunitaria della mucosa che può essere guidata dalla dieta, dal microbiota commensale e dalle interazioni tra loro (47). Sebbene le alterazioni del microbioma intestinale siano note per essere associate allo sviluppo dell'asma, meno noto è il ruolo delle alterazioni del microbioma nello sviluppo delle allergie alimentari. Nel loro studio prospettico di associazione tra microbioma e allergia alimentare

nella prima infanzia, Savage et al. (48) hanno raccolto campioni di microbioma intestinale all'età di 3-6 mesi nei bambini che partecipavano alla fase di follow-up di VDAART, dimostrando come quest'ultimo possa avere un ruolo causale nello sviluppo dell'allergia alimentare. Gli squilibri nei sottogruppi di cellule T helper (Th1/Th2) nell'immunità cellulare contribuiscono allo sviluppo di allergie alimentari. Sono stati identificati 17 ceppi di batteri appartenenti al genere *Clostridia* nelle feci umane che migliorano l'abbondanza regolatoria delle cellule T e la loro somministrazione orale nei topi ha attenuato la malattia in modelli di colite e diarrea allergica (49). La terapia con specie clostridiali protettive sopprime l'allergia alimentare nei topi (50), suggerendo la disbiosi del microbiota intestinale come potenziale bersaglio per il futuro trattamento dell'allergia alimentare. Allo stesso modo, anche i batteri commensali della pelle sono stati riconosciuti come fattori significativi che imprimono il sistema immunitario (51), probabilmente influenzando anche l'allergia alimentare. Indipendentemente dalla gravità dell'eczema, la colonizzazione cutanea di *S. aureus* infatti, è stata associata alla sensibilizzazione all'uovo di gallina e alle arachidi e all'allergia persistente, con un'associazione più debole osservata per il latte vaccino, in uno studio che ha seguito i bambini dall'infanzia ai 6 anni di età (52). È un dato di fatto, sebbene il rigoroso evitamento degli allergeni sia ancora il trattamento chiave per l'allergia alimentare, che vi sia una mag-

giore attenzione all'effetto preventivo dell'aggiunta di lattosio e probiotici alle formule per lattanti, al fine di modulare il microbioma intestinale e le risposte immunitarie precoci nelle popolazioni ad alto rischio (53,54). Nonostante la crescente attenzione all'uso di probiotici nella prevenzione e trattamento delle allergie alimentari, sono stati pubblicati solo pochi studi in merito. Tra questi quelli sul *Lactobacillus rhamnosus* hanno evidenziato la potenziale efficacia di quest'ultimo sull'aumento dei tassi di risoluzione dell'allergia al latte (55,56) ed alle arachidi. Gli effetti del trattamento probiotico sono probabilmente specifici del ceppo utilizzato, ma i dati disponibili sono attualmente inconcludenti al fine di supportare l'integrazione probiotica con taxa specifici per l'allergia alimentare (57). Studi epidemiologici suggeriscono possibili associazioni anche tra carenza di vitamina D e allergie alimentari (58).

Da questa trattazione si evince lo stretto legame esistente tra microbioma, vitamina D e il sistema immunitario. È evidente che il sistema immunitario ed il microbioma siano interconnessi e che la vitamina D giochi un ruolo di attore intermedio critico in questa dinamica. Ad esempio, le alterazioni nella segnalazione della vitamina D / VDR sono associate alla disbiosi del microbioma, che a sua volta è stata collegata sia ai processi infiammatori intestinali, che alle condizioni extra-intestinali come la malattia atopica. Da questo punto di vista, l'assunzione giornaliera di una quantità sufficiente di vitamina D (400 UI di vitamina D / giorno per i bam-



bini <1 anno, 600 UI di vitamina D / giorno per le persone di età compresa tra 1 e 70 anni e 800 UI di vitamina D / giorno per le persone >70 anni) o la sua integrazione orale in caso di defi-

cit, sembra fondamentale per prevenire lo sviluppo di allergie fin dall'infanzia. D'altra parte, risulta fondamentale garantire una corretta composizione del microbioma, anche attraverso l'uso di

probiotici, in particolare in tutte quelle condizioni in cui vengano consumati i microrganismi commensali (durante il trattamento antibiotico o alcune patologie come la colite).



Bibliografia

1. Malaguarnera L. Vitamin D and microbiota: Two sides of the same coin in the immunomodulatory aspects. *Int. Immunopharmacol.* 2020;79:106112. doi: 10.1016/j.intimp.2019.106112.
2. Bakke D., Sun J. Ancient Nuclear Receptor VDR with New Functions: Microbiome and Inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.* 2018;24:1149–1154. doi: 10.1093/ibd/izy092.
3. Sun J. Dietary vitamin D, vitamin D receptor, and microbiome. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2018;21:471–474. doi: 10.1097/MCO.0000000000000516.
4. Wong M. What has happened in the last 50 years in immunology. *J. Paediatr. Child Health.* 2015;51:135–139. doi: 10.1111/jpc.12834.
5. Murdaca G., Tonacci A., Negrini S., et al. Emerging role of vitamin D in autoimmune diseases: An update on evidence and therapeutic implications. *Autoimmun. Rev.* 2019;18:102350. doi: 10.1016/j.autrev.2019.102350.
6. Allegra A., Musolino C., Tonacci A., et al. Interactions between the MicroRNAs and Microbiota in Cancer Development: Roles and Therapeutic Opportunities. *Cancers.* 2020;12:805. doi: 10.3390/cancers12040805.
7. Strachan D.P. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ.* 1989;299:1259–1260. doi: 10.1136/bmj.299.6710.1259.
8. Bozzetto S., Carraro S., Giordano G., et al. Asthma, allergy and respiratory infections: The vitamin D hypothesis. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;67:10–17. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02711.x.
9. Heine R.G. Food Allergy Prevention and Treatment by Targeted Nutrition. *Ann. Nutr. Metab.* 2018;72:33–45. doi: 10.1159/000487380.
10. Naderpoor N., Mousa A., Fernanda Gomez Arango L., et al. Effect of Vitamin D Supplementation on Faecal Microbiota: A Randomised Clinical Trial. *Nutrients.* 2019;11:2888. doi: 10.3390/nu11122888.
11. Dimitrov V., White J.H. Vitamin D signaling in intestinal innate immunity and homeostasis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2017;453:68–78. doi: 10.1016/j.mce.2017.04.010.
12. Akimbekov N.S., Digel I., Sherelkhan D.K., et al. Vitamin d and the host-gut microbiome: A brief overview. *Acta Histochem. Cytochem.* 2020;53:33–42. doi: 10.1267/ahc.20011.
13. Wegienka G., Zoratti E., Johnson C.C. The Role of the Early-Life Environment in the Development of Allergic Disease. *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 2015;35:1–17. doi: 10.1016/j.iac.2014.09.002.
14. Kanhere M., Chassaing B., Gewirtz A.T., et al. V. Role of vitamin D on gut microbiota in cystic fibrosis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2018;175:82–87. doi: 10.1016/j.jsbmb.2016.11.001.
15. Yamamoto E.A., Jørgensen T.N. Relationships Between Vitamin D, Gut Microbiome, and Systemic Autoimmunity. *Front. Immunol.* 2020;10:1–13. doi: 10.3389/fimmu.2019.03141.
16. Brandi L., Cantarel W.E., Chehoud C., et al. Gut microbiota in MS: Possible influence of immunomodulators. *J. Invest. Med.* 2015;63:729–734. doi: 10.1097/JIM.000000000000192.
17. Chatterjee I., Lu R., Zhang Y., Zhang J., et al. Vitamin D receptor promotes healthy microbial metabolites and microbiome. *Sci. Rep.* 2020;10:1–18. doi: 10.1038/s41598-020-64226-7.
18. Sordillo J.E., Zhou Y., McGeachie M.J., et al. O'Connor G., Sandel M., et al. Factors influencing the infant gut microbiome at age 3–6 months: Findings from the ethnically diverse Vitamin D Antenatal Asthma Reduction Trial (VDAART). *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017;139:482–491.e14. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.045.
19. Milliken S., Allen R.M., Lamont R.F. The role of antimicrobial treatment during pregnancy on the neonatal gut microbiome and the development of atopy, asthma,



Bibliografia

- allergy and obesity in childhood. *Expert Opin. Drug Saf.* 2019;18:173–185. doi: 10.1080/14740338.2019.1579795.
20. Berni Canani R., De Filippis F., Nocerino R., et al. Gut microbiota composition and butyrate production in children affected by non-IgE-mediated cow's milk allergy. *Sci. Rep.* 2018;8:1–10. doi: 10.1038/s41598-018-30428-3.
21. Rook G.A.W. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2012;42:5–15. doi: 10.1007/s12016-011-8285-8.
22. Fakhoury H.M.A., Kvietyš P.R., AlKattan W., et al. Vitamin D and intestinal homeostasis: Barrier, microbiota, and immune modulation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2020;200:105663. doi: 10.1016/j.jsmb.2020.105663.
23. Assa A., Vong L., Pinnell L.J., Avitur N., et al. Vitamin D deficiency promotes epithelial barrier dysfunction and intestinal inflammation. *J. Infect. Dis.* 2014;210:1296–1305. doi: 10.1093/infdis/jiu235.
24. Li Y.C., Chen Y., Du J. Critical roles of intestinal epithelial vitamin D receptor signaling in controlling gut mucosal inflammation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2015;148:179–183. doi: 10.1016/j.jsmb.2015.01.011.
25. Bischoff S.C., Barbara G., Buurman W., et al. Wells J.M. Intestinal permeability—A new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:1–25. doi: 10.1186/s12876-014-0189-7.
26. Graziani C., Talocco C., De Sire R., et al. Ojetti V., Gasbarrini A., et al. Intestinal permeability in physiological and pathological conditions: Major determinants and assessment modalities. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019;23:795–810. doi: 10.26355/eurrev_201901_16894.
27. Akbari P., Braber S., Varasteh S., et al. The intestinal barrier as an emerging target in the toxicological assessment of mycotoxins. *Arch. Toxicol.* 2017;91:1007–1029. doi: 10.1007/s00204-016-1794-8.
28. Robinson K., Ma X., Liu Y., et al. Dietary modulation of endogenous host defense peptide synthesis as an alternative approach to in-feed antibiotics. *Anim. Nutr.* 2018;4:160–169. doi: 10.1016/j.aninu.2018.01.003.
29. Arpaia N., Campbell C., Fan X., et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature.* 2013;504:451–455. doi: 10.1038/nature12726.
30. Chang P.V., Hao L., Offermanns S., et al. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014;111:2247–2252. doi: 10.1073/pnas.1322269111.
31. Weiss G.A., Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 2017;74:2959–2977. doi: 10.1007/s00018-017-2509-x.
32. Badolati I., Sverremark-Ekström E., van der Heiden M. Th9 cells in allergic diseases: A role for the microbiota? *Scand. J. Immunol.* 2020;91:1–7. doi: 10.1111/sji.12857.
33. Smits H.H., Hiemstra P.S., Prazeres da Costa C., et al. T., de Jong E.C., Maizels R.M., et al. Microbes and asthma: Opportunities for intervention. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016;137:690–697. doi: 10.1016/j.jaci.2016.01.004.
34. Wypych T.P., Wickramasinghe L.C., Marsland B.J. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat. Immunol.* 2019;20:1279–1290. doi: 10.1038/s41590-019-0451-9.
35. De Steenhuijsen P. W.A.A., Heinoonen S., Hasrat R., et al. Nasopharyngeal microbiota, host transcriptome, and disease severity in children with respiratory syncytial virus infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016;194:1104–1115. doi: 10.1164/rccm.201602-02200C.
36. Litonjua A.A., Lange N.E., Carey V.J., et al. The Vitamin D Antenatal Asthma Reduction Trial (VDAART): Rationale, design, and methods of a randomized, controlled trial of vitamin D supplementation in pregnancy for the primary prevention of asthma and allergies in children. *Contemp. Clin. Trials.* 2014;38:37–50. doi: 10.1016/j.cct.2014.02.006.
37. Litonjua A.A., Carey V.J., Laranjo N., et al. Six-Year Follow-up of a Trial of Antenatal Vitamin D for Asthma Reduction. *N. Engl. J. Med.* 2020;382:525–533. doi: 10.1056/NEJMoa1906137.
38. Kuo I.-H., Yoshida T., De Benedetto A., et al. The cutaneous innate immune response in patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013;131:266–278. doi: 10.1016/j.jaci.2012.12.1563.
39. Jones A.L., Curran-Everett D., Leung D.Y.M. Food allergy is associated with *Staphylococcus aureus* colonization in children with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016;137:1247–1248.e3. doi:



Bibliografia

- 10.1016/j.jaci.2016.01.010.
- 40.** Tauber M., Balica S., Hsu C.-Y., et al. *Staphylococcus aureus* density on lesional and nonlesional skin is strongly associated with disease severity in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016;137:1272–1274. e3. doi: 10.1016/j.jaci.2015.07.052.
- 41.** Sugimoto S., Iwamoto T., Takada K., et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp Degradates Specific Proteins Associated with *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Host-Pathogen Interaction. *J. Bacteriol.* 2013;195:1645–1655. doi: 10.1128/JB.01672-12.
- 42.** Nakatsuji T., Chen T.H., Narala S., et al. *Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against Staphylococcus aureus and are deficient in atopic dermatitis.* *Sci. Transl. Med.* 2017;9:eaah4680. doi: 10.1126/scitranslmed.aah4680.
- 43.** Yuki T., Yoshida H., Akazawa Y., et al. *Activation of TLR2 Enhances Tight Junction Barrier in Epidermal Keratinocytes.* *J. Immunol.* 2011;187:3230–3237. doi: 10.4049/jimmunol.1100058.
- 44.** Camargo C.A., Ganmaa D., Sidbury R., et al. *Randomized trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in children.* *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014;134:831–835.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2014.08.002.
- 45.** Sidbury R., Sullivan A.F., Thadhani R.I., et al. *Randomized controlled trial of vitamin D supplementation for winter-related atopic dermatitis in Boston: A pilot study.* *Br. J. Dermatol.* 2008;159:245–247. doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08601.x.
- 46.** Javanbakht M.H., Keshavarz S.A., Djalali M., et al. *Randomized controlled trial using vitamins e and D supplementation in atopic dermatitis.* *J. Dermatol. Treat.* 2011;22:144–150. doi: 10.3109/09546630903578566.
- 47.** Berin M.C., Sampson H.A. *Mucosal Immunology of Food Allergy.* *Curr. Biol.* 2013;23:R389–R400. doi: 10.1016/j.cub.2013.02.043.
- 48.** Savage J.H., Lee-Sarwar K.A., Sordillo J., et al. *A prospective microbiome-wide association study of food sensitization and food allergy in early childhood.* *Allergy.* 2018;73:145–152. doi: 10.1111/all.13232.
- 49.** Atarashi K., Tanoue T., Oshima K., et al. *Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota.* *Nature.* 2013;500:232–236. doi: 10.1038/nature12331.
- 50.** Abdel-Gadir A., Stephen-Victor E., Gerber G.K., et al. *Microbiota therapy acts via a regulatory T cell MyD88/RORγt pathway to suppress food allergy.* *Nat. Med.* 2019;25:1164–1174. doi: 10.1038/s41591-019-0461-z.
- 51.** Naik S., Bouladoux N., Linehan J.L., et al. *Byrd A.L., Deming C., et al. Commensal-dendritic-cell interaction specifies a unique protective skin immune signature.* *Nature.* 2015;520:104–108. doi: 10.1038/nature14052.
- 52.** Tsilochristou O., du Toit G., Sayre P.H., et al. *Association of Staphylococcus aureus colonization with food allergy occurs independently of eczema severity.* *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019;144:494–503. doi: 10.1016/j.jaci.2019.04.025.
- 53.** Heine R.G. *Food Allergy Prevention and Treatment by Targeted Nutrition.* *Ann. Nutr. Metab.* 2018;72:33–45. doi: 10.1159/000487380.
- 54.** Koplin J.J., Peters R.L., Allen K.J. *Prevention of Food Allergies.* *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 2018;38:1–11. doi: 10.1016/j.iac.2017.09.001.
- 55.** Hol J., van Leer E.H.G., Elink Schuurman B.E.E., de Ruiter L.F., Samsom J.N., Hop W., Neijens H.J., de Jongste J.C., Nieuwenhuis E.E.S. *The acquisition of tolerance toward cow's milk through probiotic supplementation: A randomized, controlled trial.* *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;121:1448–1454. doi: 10.1016/j.jaci.2008.03.018.
- 56.** Berni Canani R., Nocerino R., Terrin G., Coruzzo A., Cosenza L., Leone L., Troncone R. *Effect of Lactobacillus GG on tolerance acquisition in infants with cow's milk allergy: A randomized trial.* *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;129:580–582.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2011.10.004.
- 57.** Tang M.L.K., Ponsonby A.L., Orsini F., Tey D., Robinson M., Su E.L., Licciardi P., Burks W., Donath S. *Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: A randomized trial.* *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015;135:737–744.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.034.
- 58.** Riverin B.D., Maguire J.L., Li P. *Vitamin D supplementation for childhood asthma: A systematic review and meta-analysis.* *PLoS ONE.* 2015;10:e0136841. doi: 10.1371/journal.pone.0136841.



Il Cipresso: una pollinosi invernale

Renato Ariano

Allergologo e Responsabile
della Sezione di Aerobiologia AAIIIT

Not Allergol 2022; vol. 40: n. 3: 74-83

INTRODUZIONE

Il Cipresso comune è quasi certamente originario del bacino orientale del Mediterraneo e, almeno in Italia pare che sia stato introdotto dagli Etruschi. E' una pianta a fioritura invernale che può liberare grandi quantità di granuli pollinici nel periodo di impollinazione. L'allergia al polline delle Cupressaceae, che includono diverse specie della stessa famiglia, è una pollinosi diffusa a livello mondiale. Negli ultimi decenni l'esposizione al polline di Cupressacee è aumentata fortemente diventando un problema sanitario in diverse aree, soprattutto nei Paesi Mediterranei e per quanto attiene alle Taxodiaceae (genere correlato alle Cupressaceae in termini allergologici), in Giappone (1-4). I sintomi respiratori comprendono anche l'asma bronchiale e possono quindi assumere carattere di gravità. Sino a trent'anni or sono l'allergia al polline di Cipresso era considerata una patologia molto rara ma molto probabilmente

te la sua prevalenza era sottovalutata a causa del periodo di impollinazione che si sovrapponeva al periodo delle infezioni respiratorie invernali e forse in parte, anche per l'assenza di estratti diagnostici sufficientemente standardizzati (Tabella 1).

STORIA

La prima segnalazione in letteratura sull'allergia al polline di Cupressaceae fu opera di autori statunitensi (5). Altre segnalazioni furono fatte anche in Australia e Sud-Africa (6,7). In Europa, sino a pochi anni or sono, questa pollinosi sembrava essere presente quasi esclusivamente in Spagna, nella Francia meridionale e nell'Italia del Centro-Sud (8-11). In Italia, studi più recenti (12, 13) hanno rilevato un notevole incremento di una specifica allergia al polline di Cipresso (in particolare *Cupressus sempervirens*, la specie autoctona e *Cupressus arizonica*) sin tutta la penisola, incluse le regioni del Nord (Figura 1-2).

Si ritiene che questo maggior carico pollinico in atmosfera sia correlato in parte ad un prolungamento della specifica stagione pollinica per effetto dei cambiamenti climatici ma anche ad una aumentata piantumazione di Cipressi sia a scopi ornamentali che come frangivento (12,13). Dati di aumento di prevalenza di questa pollinosi sono presenti nel resto del mondo come in Francia con un aumento di tre volte (2) e in Giappone dove l'allergia stagionale causata dal polline di *Criptomeria japonica* (cedro giapponese ovvero *sugi* in giapponese) si è diffusa rapidamente diventando un'afflizione nazionale. Più di un terzo di tutti i giapponesi è affetto da una pollinosi verso il polline di *sugi* e con incremento negli ultimi due decenni (14) (Figura 3).

Una caratteristica dell'allergia da pollini di Cupressaceae è quella di costituire uno dei rari casi di pollinosi invernale. La sua aumentata prevalenza in tutto il mondo è probabilmente legata al riscaldamento globale che ne ha prolun-



RIASSUNTO

Parole chiave

- Pollinosi da polline di Cipresso • Allergeni delle Cupressaceae
- *Cupressus sempervirens* • *Cupressus arizonica* • *Juniperus ashei*
- *Criptomeria japonica* • Inquinamento • Riscaldamento globale
- Pollen trap • Gestione clinica della pollinosi

L'allergia al polline delle Cupressaceae è una pollinosi diffusa a livello mondiale. Negli ultimi decenni l'esposizione al polline di Cipresso è aumentata fortemente ed è diventata un problema sanitario in tutto il mondo, soprattutto nei paesi mediterranei e in Giappone. Una caratteristica dell'allergia da pollini di Cupressaceae è quella di costituire uno dei rari casi di pollinosi invernale. Questa pollinosi è in graduale incremento a causa del riscaldamento globale che ha fatto aumentare il numero dei granuli pollini nell'atmosfera determinando di conseguenza una maggiore esposizione dei soggetti. In aggiunta, l'esposizione del polline delle Cupressaceae agli agenti inquinanti rilasciati nell'atmosfera favorisce la produzione e il rilascio delle proteine allergeniche e la loro allergenicità. Negli ultimi anni si è verificato un incremento a livello mondiale della prevalenza clinica, che arriva sino al 42,7% nell'area mediterranea. Sintomi: prevalenti rino-congiuntiviti ma anche asma. Esiste un alto livello di reattività crociata tra le specie all'interno del genere Cupressaceae e con i generi omologhi come le Taxodiaceae. I risultati clinici ottenuti applicando l'immunoterapia specifica sono promettenti e possono rappresentare una valida opzione terapeutica.

gato il periodo di impollinazione delle piante, determinando un incremento della presenza di granuli pollinici nell'aeroambiente e conseguentemente una maggiore e prolungata esposizione al polline di Cipresso da parte della popolazione (15). Va però sottolineato che esistono anche altre cause. In primo luogo, l'aumentata piantumazione di alberi di Cupressaceae nelle città, nei giardini pubblici e privati per motivi ornamentali o in altri luoghi come siepi frangivento ovvero per motivi di rimboschimento vista l'elevata longevità di queste piante. (10). Assieme a questo va aggiunto l'effetto degli inquinanti atmosferici che sembrano aumentare l'allergenicità di questi pollini (16). Bisogna ricordare che questo tipo di pollinosi in passato era sottostimata perché confusa con le forme virali tipiche della stagione fredda (11). Inoltre, per giustificare la difficoltà a individuare questa patologia, bisogna considerare la mancanza, sempre per il passato, di estratti diagnostici sufficientemente standardizzati (17).

PREVALENZA DI ALLERGIE AL POLLINE DI CONIFERE

Numerosi lavori scientifici dimostrano una crescita della prevalenza delle allergie a Conifere in tutto il mondo. In un recente studio Charpin (2) conferma un incremento progressivo negli ultimi anni e una prevalenza sino al 42,7% nell'area mediterranea Europa. Non tutti i lavori mostrano dati concordanti a causa delle regioni diverse, ma anche del tipo e della qualità degli estratti al-

lergenici impiegati nelle diverse indagini (17). La prevalenza della pollinosi di *Criptomeria japonica* è aumentata dal 16,2% nel 1998 al 26,5% nel 2008 e al 38,8% nel 2019 (19). Anche in Texas, U.S.A., l'estratto di polline di cedro di montagna (*Juniperus ashei*) presenta una prevalenza del 43% nei pazienti atopici (20) (Figura 4).

SINONIMI

In un primo studio policentrico su larga scala, svolto in Italia (20) si documentava che la suddivisione percentuale delle diverse forme sintomatolo-

giche era a vantaggio di riniti (49%) e di congiuntiviti (32%). L'asma era molto meno frequente (16%) così come le dermatiti: (3%). Questi dati sono stati confermati anche in studi più recenti (12,13). L'età media dei pazienti allergici al polline di Cipresso risultava in media di 36,99 anni. Un altro dato interessante rilevato è che i pazienti monosensibili alle Cupressaceae risultano nettamente inferiori rispetto a quelli polisensibilizzati (14,7% contro 85,7%) e che esiste una differenza statisticamente significativa ($p < 0,001$) tra l'età media del gruppo dei mono sensibili (43,30 anni) rispetto a



Tabella 1

Le varie specie di Cipresso presenti nel mondo

Paesi Mediterranei		
Cupressus sempervirens L.		• Persia, Siria, Turchia
Cupressus atlantica	• Gausson	• Marocco
Cupressus dupreziana	• A. Camus	
Paesi Nordamericani		
Cupressus arizonica	• Greene	• Arizona, Nuovo Messico, Texas
Cupressus glabra	• Sudworth	• Arizona Centrale
Cupressus montana	• Wiggins	• Messico
Cupressus nevadensis	• Abrams	• California
Cupressus stephensoni	• C.B. Wolf	• California
Specie del gruppo GOVENIANA		
Cupressus goveniana	• Gordon	• California
Cupressus abramsiana	• C.B. Wolf	• California
Cupressus pygmaea	• Sargent	• California
Specie del gruppo GUADALUPENSIS		
Cupressus guadalupensis	• S. Watson	• isola della Guadalupa
Cupressus forbesii	• Jepson	• California, Messico
Cupressus baveri	• Jepson	• California
Cupressus lusitanica	• Miller	• Messico, Guatemala, Honduras, India, Portogallo
Cupressus macnabiana	• Murray	• California
Cupressus macrocarpa	• Hartweg	• California, Francia, Gran Bretagna, Sudafrica, Nuova Zelanda, Uganda, Kenia
Cupressus sargentii	• Jepson	• California
Paesi Asiatici		
Cupressus duclouxiana	• Hickel	• Cina occidentale
Cupressus funebris	• Hendlicher	• Cina Centrale
Cupressus chenghiana	• S.Y. Hu	
Cupressus cashmeriana	• Royle	• Cashmere, Tibet
Cupressus torulosa	• D. Don	• Himalaya occidentale

quello dei polisensibili (35,86 anni). Questi risultati concordano con quanto già segnalato in passato per specie omologhe, dagli autori giapponesi per la *Cryptomeria japonica* (cedro giapponese) e dagli americani per lo *Juniperus ashei* (cedro di montagna, Figura 4) (4,5,21). In definitiva, nei pazienti mono sensibilizzati si osservava, in tutte queste popolazioni di pazienti, una età più elevata, un'insorgenza tardiva, assenza di familiarità atopica, un basso livello di IgE totali. Si configurano così due distinti fenotipi della pollinosi da Cupressaceae. Secondo gli autori francesi (22,23) ad essi corrispondono un fenotipo "con tosse" ed uno "senza tosse". Nel primo tipo la sensibilizzazione, su base non atopica, si verifica a causa di un'esposizione prolungata a quantità rilevanti di granuli pollinici di Cupressaceae. Questa osservazione suggerisce anche che, alla luce dell'aumento della prevalenza a livello mondiale, l'intera popolazione sia a potenziale rischio di sviluppare forme allergiche nei confronti di pollini delle Cupressaceae, se proseguisse ad essere esposta in maniera prolungata di quantità crescenti di questi pollini.

CLASSIFICAZIONE DELLE CUPRESSACEAE

Tra le sette famiglie delle *Conifere*, quella delle *Cupressaceae* è la più numerosa, ampiamente distribuita in tutto il mondo. Questa famiglia è suddivisa in sette sottofamiglie, circa 30 generi e circa 160 specie (24) Alcune specie crescono a basse e medie altitudini (ad



Figura 1-2

Esemplari di *C. sempervirens* e *arizonica*



esempio, *Cupressus sempervirens*) mentre altri crescono ad alta quota fino al limite della vegetazione (es. *Juniperus communis*). L'alto livello di reattività crociata tra le specie all'interno il genere *Cupressaceae* (in particolare *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica*) è generalmente attribuito alla loro vicinanza botanica (25, 26). Due generi molto importanti e omologhi tra di loro dal punto di vista allergologico, con elevate cross reattività (2), sono *Cupressaceae* (specie *Cupressus*, *Juniperus* e *Thuja*) e la *Taxodiaceae* (specie *Cryptomeria* e *Taxodium*).

IL POLLINE DI CUPRESSACEAE

Il granulo pollinico del *Cupressus sempervirens* è costituito da una monade, apolare, inaperturato/monoporato, di forma sferoidale o provata. Il perime-

tro può essere circolare od ovale. Le dimensioni sono medio-piccole (25-30 micromillimetri). L'esina è sottile, a superficie psilata con granulazioni irregolari. L'intina non è misurabile nei pollini integri, nei granuli spaccati si rigonfia e fuoriesce. I granuli hanno la tendenza a rompersi. Caratteristica microscopica del contenuto cellulare è la forma a stella. Al microscopio ottico i granuli delle diverse specie di *Cupressaceae* non sono distinguibili tra loro né con quelli delle *Taxodiaceae* (*Taxodium*, *Cryptomeria*, *Sequoia*) (Figura 5). L'impollinazione delle *Cupressaceae* è anemofila e i pollini essere trasportati su lunghe distanze. Nelle regioni mediterranee, il Cipresso produce grandi quantità di pollini e rappresenta uno dei 12 pollini aeroallergenici più abbondanti in Europa (26). È predominante nel periodo invernale, ma è presente, anche se a bassi livelli, anche per tutto il resto

dell'anno (2). Nell'area mediterranea, i pollini a impollinazione precoce come lo *Juniperus oxycedrus* sono rilasciati in atmosfera in ottobre o novembre, mentre il periodo di impollinazione del Cipresso comune (*Cupressus sempervirens*) è più tardivo, in genere da febbraio a fine marzo con possibili anticipi a gennaio e prosecuzione fino ad aprile, con concentrazioni polliniche che possono raggiungere valori elevati di oltre mille granuli per metro cubo di aria; la *Thuja orientalis* nel mese di gennaio, mentre il *Cupressus arizonica* (importato di recente dall'America e utilizzato il più delle volte per allestire delle siepi) inizia a fiorire anche a dicembre in concomitanza con il Nocciolo (2). A causa della sovrapposizione delle diverse fioriture e delle cross-reattività, si viene a determinare un'unica stagione pollinica che



Figura 3

Esemplare di *Criptomeria japonica*





Figura 4

Esemplare di *J.ashei*



ALLERGENI DELLE CUPRESSACEAE

Quattro gruppi di allergeni sono elencati nella banca dati degli allergeni dell'OMS/IUIS:

gruppo 1: appartengono alla famiglia della pectato-liasi e i membri condividono dal 70 al 97% di omologia di sequenza all'interno delle diverse Cupressaceae;

gruppo 2: corrispondono alla famiglia delle proteine poligalatturonasi;

gruppo 3: un allergene minore, appartiene alla famiglia delle proteine simili alla taumatina;

gruppo 4: appartiene al gruppo delle *calcium-binding proteins* e condividono dal 70 al 97% di omologia di sequenza all'interno delle diverse Cupressaceae.

Da segnalare che il gruppo 1 è di gran lunga l'allergene maggiore delle Cupressaceae e il suo contenuto negli estratti viene titolato ai fini di una standardizzazione in grado di garantire una *batch to batch consistency* degli stessi.

In particolare, è stato osservato che l'estratto di *Cupressus arizonica* ha un contenuto in allergene maggiore (*Cup a 1*) maggiore rispetto al suo omologo (*Cup s 1*) presente nell'estratto di *Cupressus sempervirens* (la specie autoctona di Cipresso).

INQUINAMENTO E POLLINI DI CUPRESSACEAE

Una possibile associazione tra l'allergia ai pollini delle Cupressaceae e l'inquinamento dell'aria è stata osservata per la prima volta da Ishizaki negli anni '80

decorre da ottobre ad aprile. Si tratta di un ampio periodo di tempo che giustifica, per l'esposizione prolungata cui sono sottoposti i pazienti, la particolare attenzione da dedicare a questa pollinosi (Figura 6).

Il controllo della diffusione dei pollini delle Cupressaceae, come dei principali pollini allergenici, viene effettuato con una rete di campionatori (*pollen trap*) disposti su tutto il territorio nazionale. In questa maniera si riescono a monitorare i granuli pollinici presenti in atmosfera dal punto di vista qualitativo e quantitativo, andando a realizzare il conteggio dei granuli presenti per m³ d'aria (Figura 7). Si considerano due indicatori: l'*Integrale Pollinico Annuale* (IPAn) e l'*Integrale Pollinico Allergenico* (IPA) che descrivono la quantità di polline presente in un anno nell'at-

mosfera delle località in cui sono posizionate le stazioni di monitoraggio. L'IPAn si ottiene dalla somma delle concentrazioni giornaliere del polline di una determinata famiglia misurate nell'anno considerato, mentre l'Integrale Pollinico Allergenico (IPA) si ottiene dalla somma delle concentrazioni polliniche delle principali e più diffuse famiglie allergizzanti presenti sul territorio nazionale. L'ISPRA (Istituto Superiore per la protezione e la ricerca ambientale) ha così prodotto un rapporto sull'andamento delle concentrazioni polliniche delle Cupressaceae e Taxaceae in Italia dal 2003 al 2019. Da questa pubblicazione risulta evidente un andamento di crescita costante, anno per anno, delle concentrazioni di Cupressaceae-Taxaceae in 17 regioni italiane (27).



scoprendo che coloro che abitavano vicino agli alberi di cedro giapponese ed in aree urbane con maggior traffico automobilistico, tendevano ad essere più facilmente affetti da questa forma di allergia (4, 30). Gli effetti dell'inquinamento ambientale sul polline delle Cupressaceae è stato oggetto di numerosi studi che rivelano che i principali gassosi urbani inquinanti, come NO₂, SO₂ e NH₃, possono essere adsorbiti dai granuli di polline di cedro giapponese nelle aree urbane (28). A Barcellona e Madrid (16), l'esposizione del polline di *Cupressus arizonica* agli inquinanti atmosferici favorisce la produzione e il rilascio di una proteina allergenica (*Cup a 4*). Anche una maggiore emissione di granuli pollinici dipende dalle condizioni di polluzione

atmosferica dell'area in cui è presente. Quindi l'allergenicità del polline varia a seconda della zona dove è stato rilasciato e poi disseminato dalla pianta madre (4).

CROSS-REATTIVITÀ

Polline/polline

Gli allergeni maggiori del *Cupressus arizonica* sono il *Cup a 1* e il *Cup a 3* che presentano una notevole omologia (75-90%) sia con gli allergeni del polline di *Cupressus sempervirens*, *Cup s 1*, *Cup s 3* che con quelli dello *Juniperus ashei*, *Jun a 1* e *Jun a 3*. Una elevata omologia tra questi è stata altresì dimostrata per l'allergene principale del Cipresso giapponese (*Chamaecyparis*

obtusa) cioè il *Cha o 1* (2). Erano già note da tempo le cross reattività all'interno delle Cupressaceae e con i generi correlati come le Taxodiaceae, in particolare la *Criptomeria japonica* (29,30). Non sono mai state identificate cross-reattività tra polline di *Cupressus sempervirens* e polline di pino.

Polline/Alimenti

Una Sindrome Orale Allergica è stata segnalata in pazienti allergici al cedro giapponese in seguito al consumo di alcune verdure e frutta fresca (ad es. melone, mela, pesca e kiwi) (31). In seguito, la sindrome orale allergica polline di cipresso/pesca ha ricevuto la massima attenzione anche in Europa (32). La proteina regolata dalla gibberellina

Figura 5

Pollini di Cupressaceae

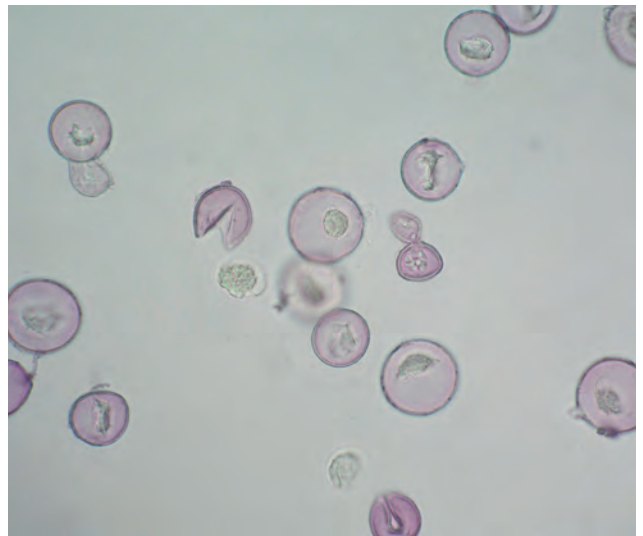
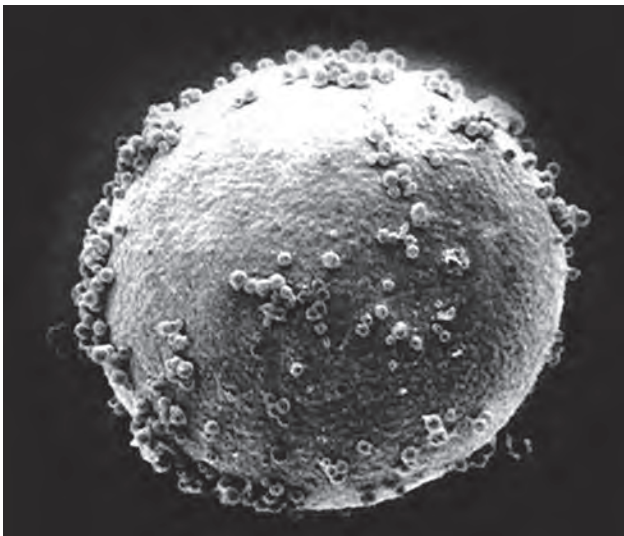
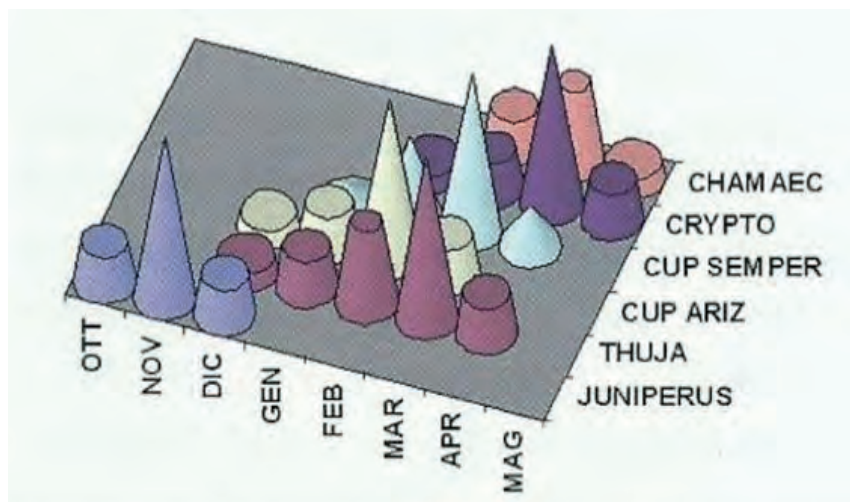




Figura 6

Fioriture delle Cupressaceae



della pesca (peamacleina) è recentemente stata segnalata come l'allergene responsabile di questa sindrome nei pazienti ipersensibili ai pollini di Cipresso. In Italia l'allergia e la sensibilizzazione alla peamacleina sembrano rare. Il polline di pesca e quello di Cipresso probabilmente condividono tra di loro anche allergeni cross-reattivi diversi dalla peamacleina (33).

PROCEDURE DIAGNOSTICHE

La caratterizzazione degli estratti del polline di Cipresso ad uso diagnostico così come per le Cupressaceae in genere, ha creato in passato qualche difficoltà per la presenza, in ambiente acquoso, di rilevanti quantità di carboidrati di tipo polimerico che rendevano l'estratto ad uso diagnostico poco efficace. Lo sviluppo di qualche

accorgimento tecnico ha consentito di eliminare, seppure parzialmente parte di questi carboidrati, clinicamente irrilevanti, contribuendo quindi a migliorare notevolmente lo standard qualitativo degli estratti (prick) da impiegare per la diagnosi e la terapia dei pazienti affetti da allergia al polline di Cupressaceae (20). Oggi, per gli esami allergologici di primo livello, sono disponibili in commercio prick per *Cupressus arizonica*, *Cupressus sempervirens* e *Juniperus ashei*. Da segnalare che l'estratto di *Cupressus arizonica* ha un contenuto in allergene maggiore (*Cup a 1*) decisamente maggiore dell'omologo (*Cup s 1*) presente nel prick di *Cupressus sempervirens* e quindi il suo potenziale diagnostico è migliore.

Esiste poi la possibilità in casi di incertezza di effettuare esami di secondo livello che richiedono l'impiego

di tecniche di laboratorio basate sulla applicazione di sistemi in multiplex (*allergen microarray*) che consentono il riconoscimento di singole molecole allergeniche.

In particolari casi si può ricorrere al (Basotest®) un test in vitro disponibile per la rilevazione di IgE allergene specifiche, basato sul livello di attivazione cellulare. Inizialmente questo test è stato usato per la diagnosi di allergia ai farmaci. Applicato su presunti casi di allergia al Cipresso il test si è rivelato più sensibile (91,2%) del sistema CAP (76,0%) (34). Tuttavia, non è praticabile per la routine quotidiana.

PREVENZIONE

A livello generale si possono raccomandare diverse procedure. In prima istanza si dovrebbe procedere alla eliminazione di tutti gli alberi malati perché producono da due a tre volte più pollini di quelli sani. Inoltre, si consiglia di potare le siepi in autunno per eliminare le infiorescenze avviate a maturazione a fine estate e di evitare di mettere a dimora Cipressi in prossimità delle abitazioni. In alcune zone del sud della Francia, quando viene concessa la licenza edilizia, si sconsiglia al proprietario di piantare Cipressi. Infine, sarebbe importante selezionare e commercializzare piante scarsamente allergeniche da piantare nei centri abitati. Un parere certo sull'efficacia di un tale programma di eliminazione così esteso necessiterebbe di ulteriori indagini, ma anche di scelte politiche nazionali con conseguenti programmazioni a lungo termine. In passato questo tema era



stato oggetto di un progetto finanziato dalla Comunità Europea (progetto Europeo CRAFT 1999-71661) a cui ho avuto il piacere di partecipare: obiettivo del progetto la selezione di cloni di *Cupressus sempervirens* in grado di produrre meno polline ovvero portatori di caratteri ipoallergenici. In effetti sono stati individuati alcuni cloni che sembravano produrre un polline meno allergenico rispetto ad altri ma la differenza non è risultata statisticamente significativa. A livello individuale, si devono prevedere le consuete misure volte ad evitare il contatto con l'allergene, come evitare di esporsi all'aperto nelle giornate ventose e nelle ore più calde, in cui le piante producono più pollini. Inoltre, si ritiene utile l'utilizzo, di mascherine chirurgiche di protezione all'aperto. Recenti studi, durante l'epidemia del Covid 19, hanno dimostrato che l'uso di queste mascherine presenta un beneficio nei pazienti con rinite allergica, con diminuzione della gravità dei sintomi (35).

TRATTAMENTO FARMACOLOGICO

Non esistono trattamenti farmacologici specifici per questa pollinosi. Le terapie sono le stesse delle altre patologie allergiche, basate su antistaminici, steroidi topici e broncodilatatori.

IMMUNOTERAPIA SPECIFICA

In passato, diversi studi clinici hanno affrontato questo problema. Due studi sono stati svolti, con risultati posi-

tivi, da parte di ricercatori francesi, uno con estratto somministrato per via sottocutanea l'altro con un estratto somministrato per via sublinguale in pazienti allergici a *C. sempervirens* e *C. arizonica* (36,37). Altri studi sulla immunoterapia specifica sono stati effettuati con un estratto di *J. ashei* sia per via sublinguale ad alta dose (41) che per via sottocutanea in confronto con la via sublinguale (42), quest'ultimo in pazienti monosensibili al polline di Cipresso. Alcuni studi sono stati effettuati anche in Italia; uno usando un estratto costituito da una miscela di pollini di Cupressaceae e Taxodiaceae, e somministrato per via sottocutanea (38), altri due con estratti di pollini di *C. arizonica*, per via sublinguale (39, 40). In particolare, il primo studio (39)

è stato effettuato con un estratto di *C. arizonica* modificato chimicamente (alergoide), caratterizzato da un ridotto potenziale allergenico (per evitare il rischio di effetti collaterali) e da una preservazione delle dimensioni molecolari che lo rendono particolarmente adatto ad una somministrazione sublinguale (43). L'insieme di questi studi ha dimostrato che l'immunoterapia specifica (ITS) basata sull'impiego di estratti di Cupressaceae è in grado di indurre un beneficio clinico significativo in termini di sintomi, consumo di farmaci antiallergici, qualità della vita, risposta cutanea tardiva all'allergene e ipereattività nasale specifica e quindi l'ITS rimane un'opzione terapeutica da tenere in considerazione in pazienti affetti da pollinosi alle Cupressaceae.



Figura 7

Pollen trap





Bibliografia

1. D'Amato G, Spieksma FT, Liccardi G, et al. Pollen-related allergy in Europe. *Allergy* 1998; 53:567-78.
2. Charpin D, Pichot C, Belmonte J, et al. Cypress pollinosis: from tree to clinic. *Clin Rev Allergy Immunol* 2019 Apr;56(2):174-195.
3. D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, et al. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 2007; 62:976-90.
4. Ishizaki T, Ikemori R, et al. Studies of prevalence of Japanese cedar pollinosis among the residents in a densely cultivated area. *Ann Allergy*. 1987 Apr;58(4):265-70.
5. Ramirez D.A. The natural history of mountain cedar pollinosis. *J Allerg Clin Immunol*, 1984; 73,1,88-93.
6. Pham NH, Baldo BA, Bass DJ. Cypress pollen allergy. Identification of allergens and crossreactivity between divergent species. *Clin Exp Allergy*, 1994; 24(6):558-565.
7. Ordman D. Cypress pollinosis in South Africa. *S Afr Med J*, 1945; 19:142-146.
8. Subiza J, Jerez M, Jimenez JA, et al. Allergic pollen pollinosis in Madrid. *J Allergy Clin Immunol*, 1995; 96(1):15-23.
9. Panzani R, Centanni G, Brunel M. Increase of respiratory allergy to the pollens of cypresses in the south of France. *Ann Allergy*, 1986; 56(6):460-463.
10. Ariano R., Panzani R., Chiappella M, et al. Pollinosis in a Mediterranean area (Riviera Ligure, Italy): Ten years of pollen counts, correlation with clinical sensitization and meteorological data. *J Invest Allergol Clin Immunol*, 1994, 4(2):81-86.
11. Mari A, Di Felice G, Afferni C, et al. Cypress allergy: An underestimated pollinosis. *Allergy*, 1997; 52(3):355-356.
12. Sposato B, Liccardi G, Russo M, et al. Cypress Pollen: An unexpected Major Sensitizing Agent in Different Regions of Italy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2014; 24:23-8.
13. Asero R, Ceriotti V, Bonini S. Cypress pollen allergy in Milan: the story of an ongoing growth. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2021 Sep;53(5):209-213.
14. Yamada T, Saito H, Fujieda S. Present state of f Japanese cedar pollinosis: the national affliction. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Mar;133(3):632-39.
15. Ariano R, Canonica GW, Passalacqua G. Possible role of climate changes in variations in pollen seasons and allergic sensitizations during 27 years. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010 Mar;104(3):215-22.
16. Suarez- Cervesa Castells M, Vega-Murray T. A, et al. Effects of air pollution on cup a 3 allergen in *Cupressus arizonica* pollen grains. *Ann Allergy Asthma Immunol* 200;; 101(1): 57-66.
17. Di Felice G, Barletta B, Tinghino R, et al. Cupressaceae pollinosis: Identification, purification and cloning of relevant allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125(4):280-28.
18. Katsuyo Ohashi-Doi - Japanese Cedar Pollen Allergens in Japan. *Curr Protein Pept Sci*. 2022;23(12):837-850.
19. Mendoza J C, Quinn J. Mountain cedar allergy: A review of current available literature. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2022 Jun;128(6):645-651.
20. Ariano R., Antico A., Di Lorenzo G et al. An Epidemiological Survey of the Cupressaceae Pollenosis in Italy. Italian Study Group Cupressaceae. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2002, vol. 12(4), 287-292.
21. Reid MJ, Schwietz LA, Whisman BA, et al. Mountain cedar pollinosis: can it occur in non-atopics? *N Engl Reg Allergy Proc*. 1988.
22. Bousquet J, Knani J, Hejjaoui A, et al. Heterogeneity of atopy. I. Clinical and immunologic characteristics of patients allergic to cypress pollen. *Allergy* 1993; 48(3):183-188.
23. Pahus L, Gouitaa M, Sofalvi T et al. Cypress pollen allergy is responsible for two distinct phenotypes of allergic rhinitis different from other pollinosis. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2018 Jan;50(1):28-35.
24. Little DP. Evolution and circumscription of the true cypresses (Cupressaceae: Cupressus). *Syst Bot*. 2006, 31:461-480.
25. Hidalgo PJ, Galan C, Dominguez E. Pollen production of the genus *Cupressus*. *Graana* 1999, 38:296-300.
26. Skjoth CA, Sikoparija B, Jäger S, EAN-Network Pollen sources. In: Sofiev M, Bergmann KC (eds) *Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts*. 2013. Springer Science and Business Media, Dordrecht.
27. Stato e trend dei principali pollini allergenici in Italia (2003-2019). Pubblicazioni ISPRA, 2021; isprambiente.it
28. Okuyama Y, Matsumoto K, Okochi H, et al. Adsorption of air pollutants on the grain surface of Japanese cedar pollen. *Atmo-*



Bibliografia

- spheric Environ 2007; 41(2):253-26.
29. Panzani R, Yasueda H, Shimizu T. et al. Cross-reactivity between the pollens of *Cupressus sempervirens* (common cypress) and of *Cryptomeria japonica* (Japanese cedar). *Ann Allergy*. 1986 Jul;57(1):26-30.
30. Schwietz LA, Goetz DW, Whisman BA, et al. Cross-reactivity among conifer pollens. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2000 Jan;84(1):87-93.
31. Ishida T, Muai K, Yasuda T, et al. Oral allergy symptom in patients with Japanese cedar pollinosis. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2000; 103:199-203.
32. Sénéchal H, Keykhosravi S, Couderc R, Pollen/Fruit Syndrome: Clinical Relevance of the Cypress Pollen Allergenic Gibberellin-Regulate Protein. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2019 Jan; 11(1): 143-151.
33. Asero R, Abbadessa S, Aruanno A, et al. Sensitization to Gibberellin-Regulated Protein (Peamaclein) Among Italian Cypress Pollen-Sensitized Patients *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2021 21;32(1):40-47.
34. Paris-Kohler A, Demoly P, Persi L, et al. In-vitro diagnosis of cypress pollen allergy by using cytofluorimetric analysis of basophils (Basotest). *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:339-345.
35. Dror AA, Eisenbach N, Marshak T, et al. Reduction of allergic rhinitis symptoms with face mask usage during the COVID-19 pandemic. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020;8(10):3590-3593.
36. Charpin D, Dron-Gonzalves M, Fardeau F, et al. Clinical efficacy of *Juniperus ashei* specific immunotherapy in European cypress rhinoconjunctivitis: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2003;58 (Suppl. 74):4.
37. Vervloet D, Birnbaum J, Laurent P, et al. Safety and clinical efficacy of rush sublingual *Juniperus ashei* immunotherapy. *Allergy* 2003; 58(Suppl. 74):228.
38. Ariano R., Panzani R.C., Augeri G. Double blind placebo controlled specific immunotherapy with mixed cupressaceae-taxodiaceae pollens in respiratory allergy to *cupressus sempervirens*. *Allergol. et Immunopathol.*, 1997, 25,1(23-2).
39. Ariano R, Spadolini I, Panzani RC. Efficacy of sublingual specific immunotherapy in Cupressaceae allergy using an extract of *Cupressus arizonica*. A double blind study. *Allergologia et Immunopathologia* 2001;29:238 44.
40. Ariano R, Panzani RC, Mistrello G. Efficacy of sublingual coseasonal immunotherapy with a monomeric allergoid in Cupressaceae pollen allergy--preliminary data. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*, 2005;37(3):103-108.
41. Di Rienzo V, Pucci S, D'Alo S, et al. Effect of high dose sublingual immunotherapy on quality of life in patients with cypress-induced rhinitis: A placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy Rev* 2006; 6:67-70.
42. Ventura MT Carretta A, Tummolo RA, et al. Clinical data and inflammation parameters in patients with cypress allergy treated with sublingual swallow therapy and subcutaneous immunotherapy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009;22 (2): 403-413.
43. G Mistrello , D Roncarolo, D Zanoni et al. Allergenic relevance of *Cupressus arizonica* pollen extract and biological characterization of the allergoid. *Int Arch Allergy Immunol* 2002 Dec;129(4):296-304.

« Scopri tutte le novità in campo allergologico »





Allergeni da contatto e impatto sulla salute pubblica

Uter W et al.

Contact Allergy-Emerging Allergens and Public Health Impact.

Int J Environ Res Public Health. 2020; 17(7):2404. doi:10.3390/ijerph17072404

In questa rassegna gli autori, basandosi su una ricerca sistematica della letteratura tramite Medline e Web of Science (WoS), presentano una sintesi critica sull'allergia da contatto (contact allergy, CA, o sensibilizzazione da contatto) e sulla sua manifestazione clinica, la dermatite allergica da contatto (allergen contact dermatitis, ACD). In base a titolo e abstract pertinenti al tema sono stati selezionati 160 articoli che sono poi stati esaminati in dettaglio. Sono stati esclusi lavori su reazioni avverse cutanee ai farmaci, dermatite atopica e reazioni di ipersensibilità di tipo immediato, studi su farmaci terapeutici, fotodermatite, e anche articoli di scarsa qualità o che non presentavano nuovi dati, ma solo confermavano lavori precedenti. Inoltre, non sono stati presi in considerazione editoriali, comunicazioni ai congressi, revisioni, e articoli in pre-print. Hanno poi individuato ulteriori lavori attraverso una ricerca manuale tra tutti i numeri disponibili delle riviste "Contact Dermatitis" e "Dermatitis" (2018-2019).

La sezione dei Risultati offre un panorama aggiornato degli allergeni da contatto più importanti, descritti in modo sistematico e raggruppati in nove classi: 1. metalli; 2. conservanti; 3. fragranze; 4. monomeri plastici e gomma; 5. medicinali (principi attivi ed eccipienti) e cosmetici; 6. dispositivi medici; 7. abbigliamento, pelle e coloranti; 8. legni, piante e materiali di origine vegetale, e 9. nuovi allergeni. Gli studi inclusi nella rassegna variano da case report a indagini sistematiche su pazienti consecutivi, ed evidenziano la rilevanza attuale dei di-



Caso di AD al nichel.

versi allergeni, forniscono informazioni sul quadro normativo attuale, a livello europeo e/o in comparazione con altri Paesi (es. USA, Australia, etc.), sulle varie fonti di esposizione, sui metodi diagnostici più affidabili (es. dettagli su condizioni e veicoli per il patch test). Dall'analisi della letteratura emergono anche casi interessanti di hidden allergens (es. il bicromato di potassio nella pelle che rivestiva il volante e il cambio di un'auto ha causato una dermatite in un impiegato pendolare londinese), indicazioni di nuovi allergeni (come il bakuchiol, usato in cosmesi e derivato dalla pianta *Psoralea corylifolia*) o di nuovi ambiti di esposizione ad allergeni già noti, spesso in relazione all'esposizione occupazionale; per esempio, una nuova categoria a rischio di sensibilizzazione ad acrilati e metacrilati sono i professionisti nel settore delle unghie artificiali, oltre ai clienti. In alcuni casi sono anche riportati i metodi specifici per rilevare la presenza delle sostanze allergizzanti nell'ambiente o in un prodotto (es. il test alla dimetilglossima per il nichel). Un'attenzione particolare è dedicata al metiliso-



tiazolinone (MI), un conservante presente in moltissimi prodotti di uso comune, ad esempio alcuni cosmetici e prodotti per la cura della casa; alle fragranze come idroperossidi di limonene e linalolo, geraniolo, e ai dispositivi medici, come sensori del glucosio e pompe per insulina che hanno causato ACD in molti pazienti diabetici, dovuta dalla liberazione di monomeri adesivi.

Nella Discussione, gli autori hanno analizzato aspetti rilevanti per la salute pubblica. La valutazione del pericolo (hazard assessment) che, nello specifico, è la stima del potere sensibilizzante, è cruciale per l'analisi e gestione del rischio di sensibilizzazione per la prevenzione primaria. Gli stessi autori hanno sottolineato come sia importante individuare i livelli massimi di esposizione che risultino ragionevolmente sicuri prima dell'introduzione di una sostanza sul mercato e come sia necessario sono necessarie elaborare nuove normative volte a limitare la concentrazione di specifici allergeni nei prodotti (viene citato come esempio uno studio sulla fragranza geraniolo). Viene inoltre presa in considerazione la necessità di individuare metodi alternativi che non coinvolgano l'uso di animali per l'identificazione di potenziali sostanze sensibilizzanti.

Molto spesso è difficile per gli individui sensibilizzati evitare il contatto con l'allergene; le ragioni vanno ricondotte alla presenza ubiquitaria di sostanze di difficile identificazione nell'ambiente, alle carenze relative all'etichettatura dei prodotti (eccezione fatta per le fragranze nei cosmetici), all'importanza delle reazioni crociate e/o a una bassa soglia di elicitazione individuale. In questa situazione gli autori sottolineano quanto sia importante che i medici adattino costantemente i loro "radar diagnostici", dato che le condizioni di esposizione e la rilevanza degli allergeni sono in continua evoluzione. In conclusione, Uter e colleghi si auspicano che sia le indicazioni sulla composizione dei prodotti che il flusso di informazioni da parte dei produttori/distributori (in particolare nel campo dei dispositivi medici) possano migliorare ai fini di una maggiore trasparenza a vantaggio di pazienti e medici.

Associazione dupilumab/ITS Acari nella dermatite atopica nei bambini

Ding B et al.

Combined application of dupilumab and mite allergen-specific immunotherapy in children with moderate to severe atopic dermatitis.

Allergologia et immunopathologia, 2023; 51(2):184-190. doi: 10.15586/aei.v51i2.778.

La dermatite atopica (AD) o eczema atopico, è una malattia infiammatoria cronica e ricorrente della pelle, caratterizzata prevalentemente da una risposta immunitaria di tipo 2 guidata da molteplici citochine, tra cui le interleuchine IL-4 e IL-13. È una condizione che di solito si manifesta nell'infanzia e nel 34% dei casi persiste nell'età adulta; si presenta con varie lesioni cutanee, che possono essere pruriginose, eritematose e desquamanti, e circa un terzo dei casi sviluppa una forma della malattia da moderata a severa. L'AD nei bambini è molto spesso associata ad allergia, in particolare agli acari della polvere (HDM).

La terapia convenzionale si basa sull'impiego di glucocorticoidi topici (TCS) o inibitori della calcineurina (TCI), che tuttavia hanno spesso effetti limitati nei casi di AD moderata/grave; inoltre, l'uso prolungato di TCS è associato a diversi effetti avversi e quindi si stanno sviluppando approcci tetraepitopici alternativi. Recentemente è stato approvato sia dalla Food and Drug Administration (FDA) statunitense che dalla Commissione Europea l'utilizzo, per pazienti sopra i 6 anni, del dupilumab, un anticorpo monoclonale che blocca le vie di segnalazione di IL-4 e IL-13.

Nell'articolo in questione, Ding e collaboratori descrivono due casi pediatrici di AD trattati con successo con una combinazione di dupilumab e immunoterapia specifica



(ITS) per HDM. Entrambi i pazienti, una femmina di 13 anni (caso 1) e un maschio di 11 anni (caso 2), soffrivano di una forma di AD severa, non adeguatamente controllata dalle terapie convenzionali (TCS, TCI, emollienti) o dai trattamenti di medicina tradizionale cinese. L'irritazione cutanea associata all'AD provocava nei due bambini disturbi del sonno, ansia e stress. Maggiori informazioni sul quadro clinico dei pazienti sono riportate in Tabella 1. I pazienti sono stati trattati con una combinazione di dupilumab e ITS sottocutanea (SCIT) specifica per HDM, in aggiunta ai trattamenti con TCS e antistaminici. Il trattamento con dupilumab è stato introdotto settimane prima della SCIT, in modo da controllare l'infiammazione cutanea acuta prima di avviare la terapia desensibilizzante, che in pazienti con AD severa può potenzialmente aggravarne i sintomi. Nello specifico, alla bambina è stata somministrata una dose iniziale di dupilumab pari a 600 mg, seguita da dosi da 300 mg, prima ogni 3 e poi ogni 4 settimane; la SCIT è stata introdotta alla quattordicesima settimana. Il bambino ha ricevuto dosi da 300 mg di dupilumab all'inizio, dopo due settimane e, successivamente, ogni 4 settimane; il trattamento con SCIT è stato iniziato alla quinta settimana.

Per valutare la gravità della malattia e l'effetto del trattamento combinato, i medici hanno utilizzato i seguenti strumenti e indicatori: NRS (Numerical Rating Scale) per il prurito; SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis); EASI (Eczema Area and Severity Index); IGA (Investigator Global Assessment scale for Atopic Dermatitis); DLQI (Dermatology Life Quality Index), e POEM (Patient Oriented Eczema Measure). I valori iniziali sono riportati in Tabella 1.

La bambina (caso 1) ha sofferto di herpes labiale e vertigini transitorie a inizio trattamento e ha accusato mal di testa dopo l'iniezione di dupilumab alla nona e alla dodicesima settimana. Secondo la valutazione degli autori, il mal di testa poteva anche essere causato da uno stato di stress legato alla scuola. Dopo l'introduzione della SCIT, è ricomparsa una leggera dermatite a livello di ascella e gomito, ma rispetto alla situazione iniziale il controllo dell'AD è migliorato e la tolleranza è stata buona. Per

quanto riguarda il caso 2, il giorno di ogni iniezione di dupilumab, il bambino ha manifestato prurito e aggravamento della dermatite, migliorato poi spontaneamente nel giro di 2-3 giorni. Durante il trattamento ha anche sofferto di congiuntivite allergica, trattata con un collirio a base di emedastina difumarato.

Nove mesi dopo l'inizio del trattamento, le condizioni di entrambi i pazienti sono migliorate significativamente e il trattamento è stato associato a una buona tolleranza generale. Tuttavia, come gli autori sottolineano, sono necessari ulteriori studi con un campione numeroso di pazienti pediatrici per valutare, anche nel lungo periodo, la sicurezza ed efficacia della combinazione terapeutica oggetto dello studio.

Un difficile caso di dermatite da contatto fotoallergica

Herzum et al.

Ketoprofen-induced photoallergic consort contact dermatitis: A difficult diagnosis.

Contact Dermatitis. 2022; 86(5):438-439. doi: 10.1111/cod.14058

La *consort allergic contact dermatitis*, (CACD), letteralmente dermatite allergica da contatto "per procura", è una dermatite allergica o fotoallergica, che si sviluppa a seguito dell'esposizione ad allergeni veicolati da un altro individuo, attraverso il contatto diretto con la persona o l'uso di oggetti condivisi. La diagnosi di CACD è spesso complicata, dato la difficoltà nel ricondurre la reazione del paziente all'agente responsabile, che va ricercato nel cerchio delle persone con cui si è a stretto contatto. In questa review Lee e colleghi hanno incluso e analizzato 183 lavori che descrivevano un totale di 261 pazienti con CACD. Nella metà dei casi, la CACD era associata a contatti con fidanzati o coniugi. La zona del corpo più



frequentemente coinvolta era il viso (48,6%), e la maggior parte delle reazioni era causata da farmaci (35,6%), usati più spesso in formulazioni topiche, tra cui anche farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), come il ketoprofene (Figura)..

In un recente lavoro pubblicato su *Contact Dermatitis*, un team di dermatologi dell'Università di Genova ha descritto un interessante ma complesso caso di CACD. Durante una vacanza al mare, una donna di 34 anni ha sviluppato un eritema vescico-bollosa sui glutei. La paziente soffriva già da anni di eruzioni vescico-bollose ricorrenti su diversi punti del corpo, ma le precedenti indagini dermatologiche non avevano dato risultati chiari e definitivi. La donna escludeva il contatto diretto con qualsiasi prodotto contenente allergeni, compresi cosmetici e farmaci a uso topico. Gli autori hanno quindi condotto una dettagliata indagine per valutare possibili contatti indiretti con apteni noti, riuscendo a scoprire che la madre della paziente, in vacanza con la figlia, utilizzava il ketoprofene per uso topico e che in spiaggia le due donne avevano usato qualche volta la stessa sedia a sdraio. (Fig. 1). Venti anni prima la paziente aveva avuto un eczema su un ginocchio dopo aver applicato una crema contenente ketoprofene.

Il ketoprofene è un noto allergene da fotocontatto e può dare una reazione crociata con l'alcol cinnamico e co-

reagire con l'octocrilene o i benzofenoni (utilizzati come filtri per i raggi UV nelle creme solari). Gli autori hanno quindi condotto un photo-patch test, secondo le Linee Guida italiane anche per valutare una concomitante dermatite fotoallergica da contatto da creme solari. Gli allergeni, inclusi benzofenone-3, benzofenone-4 e l'octocrilene (tutti al 10% pet.) sono stati applicati in duplicato sulla schiena della paziente; una serie è stata irradiata il secondo giorno (D2) con radiazioni UVA (5 J/cm²) e sono state effettuate letture ai giorni D2, D4 e D7. La paziente ha mostrato una reazione solo al ketoprofene 2,5% pet. (+++) nella parte irradiata. La donna non ha più avuto problemi dopo che la madre ha sospeso il trattamento con ketoprofene.

Questo caso mette bene in evidenza come la diagnosi di CACD possa richiedere molto tempo a causa della difficoltà intrinseca di rintracciare la fonte dell'allergene.

Reazione allergica sistemica al tè verde

Kajita N. al.

Green tea-induced anaphylaxis:
The first pediatric case report.

Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology 2021, 70,4:507-508. doi:10.1016/j.alit.2021.05.007

Il tè, ottenuto dalle foglie della pianta *Camellia sinensis*, è una delle bevande più consumate al mondo. Tra i vari tipi di tè, il tè verde è particolarmente noto per le sue molteplici proprietà benefiche, legate all'elevato contenuto di polifenoli, in particolare di catechine, tra cui epicatechina, epigallocatechina (EGC), epicatechina-3-gallato ed epigallocatechina-3-gallato. Quest'ultima è la più abbondante e anche la più studiata in associazione ai suoi effetti antinfiammatori, antiartritici, antiossidativi, e alla sua attività antibatterica e antivirale.

Anche se piuttosto rari, in letteratura sono riportati casi di



Figura 1.

ipersensibilità al tè verde, più spesso legati all'esposizione occupazionale. Sono stati descritti anche due casi di pazienti adulti che hanno manifestato una reazione allergica al tè verde al di fuori del contesto occupazionale. In un caso, l'immunoblotting con il siero del paziente su estratto di proteine di tè verde ha rivelato la presenza di bande IgE reattive, una con peso molecolare apparente tra i 50 e i 75 kDa e una diffusa a più alto peso molecolare.

In questo lavoro gli autori giapponesi descrivono per la prima volta un caso pediatrico di reazione anafilattica al tè verde, in particolare al tè matcha. Questo tipo di tè è ottenuto dalla macinazione di foglie di tè verde (Fig.1), raccolte da piante coltivate all'ombra per tre o quattro settimane prima del raccolto. In Giappone il tè in questione è ampiamente utilizzato anche come ingrediente di snack e gelati. Il

paziente, un bambino di 9 anni, si è presentato al pronto soccorso con tosse e prurito su tutto il corpo, proprio dopo avere mangiato un gelato al gusto di tè matcha. Il bambino aveva nausea, tachicardia (100/min), pressione bassa (74/52 mmHg) e presentava eritema sistemico/orticaria. È stato trattato con successo con adrenalina intramuscolare, idratazione endovenosa e steroidi. Il paziente non aveva altri problemi di salute né allergie note, ma non aveva mai bevuto tè matcha, tè nero o tè oolong. La madre, però, aveva l'abitudine di consumare ogni giorno una tazza di tè verde polverizzato.

I risultati del prick-by-prick test hanno mostrato reazioni al tè matcha (ponfo di 3 mm di diametro), ma non al gelato né alla caffeina (testata fino alla dose 50 mg/mL). Il dosaggio delle IgE specifiche per il tè verde mediante ImmunoCAP era pari a 0,105 UA/mL. Visti i risultati non del tutto convincenti, gli autori hanno deciso quindi di condurre un test di provocazione orale; un primo test è stato fatto con 50 g di gelato e dopo un'ora il bambino ha manifestato eritema sistemico/orticaria, tosse e respiro affannoso. Anche un secondo test OFC con due grammi di tè matcha (singola dose, corrispondente a circa 37 mg di proteine) ha indotto nel paziente gli stessi sintomi. Al contrario i test con caffeina anidra (90 mg in due dosi da 30 e 60 mg) e catechine (singola dose, contenente 160 mg di EGCg e 22 mg di EGC) non hanno scatenato alcuna reazione, escludendo quindi che le stesse fossero la causa del problema. In esperimenti di immunoblotting con estratto di tè verde, il siero del paziente riconosceva proteine intorno ai 60 kDa e tra i 100 /150 kDa, dati in linea con i risultati dello studio precedente sul paziente adulto. E' possibile che in questo caso la sensibilizzazione al tè sia in qualche modo legata all'abitudine della madre di bere tè verde polverizzato. Al bambino è stato quindi consigliato di evitare il consumo di cibi contenenti *C. sinensis* e di portare sempre con sé auto-iniettori di adrenalina e antistaminici in caso di insorgenza di sintomi allergici. Gli autori concludono mettendo in evidenza che l'uso della determinazione delle IgE specifiche per il tè a volte può non essere sufficiente ad individuare l'agente responsabile dell'allergia al tè verde.



Asma da temporale: quali individui corrono maggiori rischi?

Cecchi L. et al.

Allergenicity at component level of sub-pollen particles from different sources obtained by osmolar shock: A molecular approach to thunderstorm-related asthma outbreaks.

Clinical and Experimental Allergy 2021, 51:253–261.

<https://doi.org/10.1111/cea.13764>

L'asma da temporale (*thunderstorm asthma*) è un fenomeno noto da qualche decennio che si riferisce all'aumento significativo di attacchi d'asma osservato durante i temporali e, sebbene piuttosto raro, può avere conseguenze anche fatali. Questi attacchi possono colpire anche soggetti senza una storia di asma ma solo di rinite allergica. L'evento più grave del mondo si è verificato in Australia, a Melbourne, il 21 novembre 2016. Le condizioni che sembrano favorire questi episodi sono: (a) ipersensibilità ad allergeni trasportati dall'aria; (b) conta elevata di pollini (o spore fungine) all'inizio del temporale; (c) trovarsi all'aperto, e (d) assenza di terapia antiallergica. All'inizio del temporale, l'eccessiva umidità provocherebbe uno shock osmotico dei pollini trasportati dall'aria causando il rilascio di particelle di dimensioni ridotte (*sub-pollen particle*, SPP, 0,5-5 μm di diametro), in grado di raggiungere le basse vie respiratorie e indurre sintomi asmatici negli individui predisposti. La maggior parte dei casi di asma da temporale si sono verificati durante la primavera o l'estate in individui sensibilizzati a pollini di un limitato numero di specie, più spesso della famiglia delle Poaceae (Figura 1).

Gli autori di questo articolo hanno preso in considerazione diverse specie di pollini allergenici, valutando la loro capacità di rilasciare SPP in seguito a shock osmotico e il potenziale allergenico delle SPP liberate. Nello specifico, si tratta di pollini di *Phleum pratense*, (*Parietaria officinalis*, *Olea europaea*, *Ambrosia. artemisiifolia* e *trifida*, *Betula pendula* e *Cupressus*

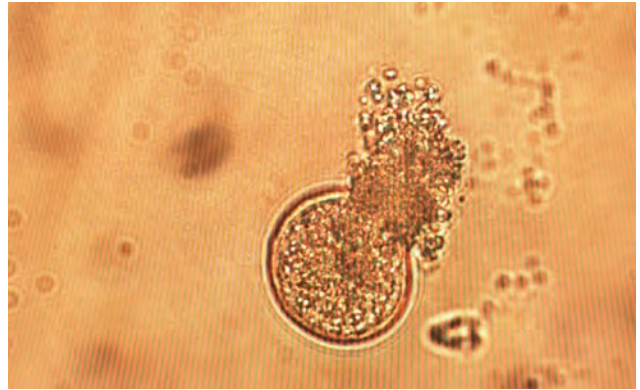


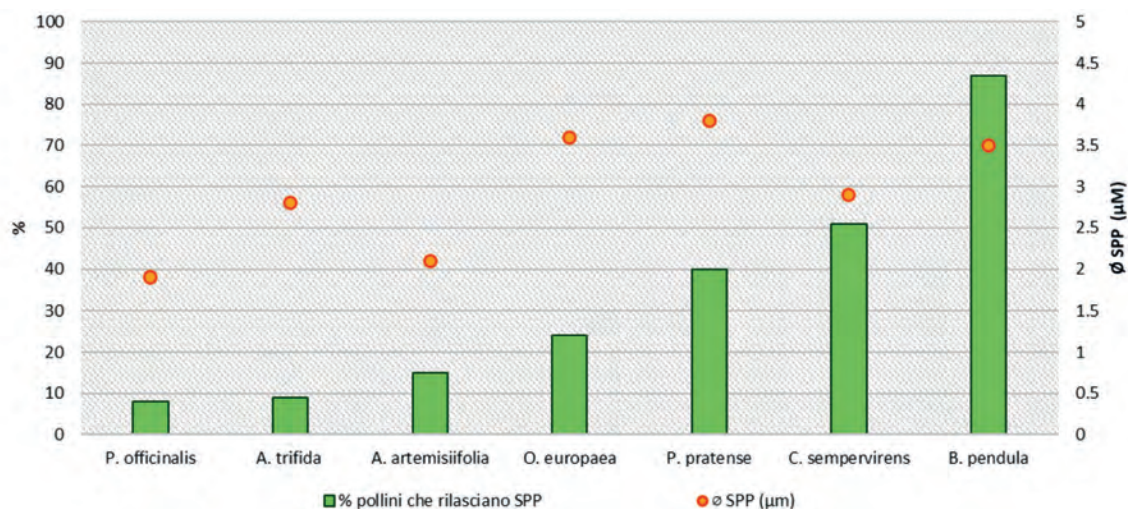
Figura 1. Rilascio di SPP da polline di *Phleum p.*

sempervirens, tutti raccolti in Lombardia durante il 2019. Per indurre il rilascio di SPP, tutti i pollini sono stati posti in acqua sterile bidistillata (con inibitori delle proteasi) e poi analizzati a 5, 10, 15 e 20 minuti dopo l'idratazione, al fine di determinare al microscopio e attraverso analisi d'immagine, la percentuale di granuli di polline che rilasciavano SPP e le dimensioni di tali particelle, una volta isolate mediante centrifugazione. Per tutte le piante la tendenza dei pollini a rilasciare SPP aumentava durante i primi 10 minuti per poi rimanere costante, mostrando i valori più alti per *Betula p.* (87% a 10 minuti) e più bassi per *A. trifida* (9%) e *Parietaria o.* (8%). Il diametro medio (\pm SD) delle SPP variava da $1.9 \pm 1.1 \mu\text{m}$ per i pollini di parietaria a $3.8 \pm 1.1 \mu\text{m}$ per quelli di *Phleum* (Figura 2).

L'allergenicità residua delle SPP è stata rilevata indirettamente mediante saggi ELISA di inibizione, utilizzando sieri ben caratterizzati di pazienti allergici polisensibilizzati e un sistema multiplex (Allergy Explorer-ALEX) che consente di misurare simultaneamente le IgE specifiche per quasi 300 estratti e molecole allergeniche. I sieri sono stati incubati con i campioni di SPP isolate dai diversi pollini; dal confronto della reattività dei sieri pre-incubati con SPP e non verso gli estratti e gli allergeni specifici dei pollini corrispondenti, è stata calcolata la percentuale di inibizione (3 misurazioni indipendenti). L'inibizione è stata considerata negativa se $< 50\%$, moderata tra 50% e 75% e completa se $> 75\%$.



Figura 2. Tendenza dei pollini analizzati a rilasciare SPP dopo shock osmotico (in verde) e diametro medio delle SPP liberate (in giallo).



I risultati relativi ai pollini di *Betula p.* e *Cupressus s.* hanno mostrato che, sebbene essi rilasciassero quantità rilevanti di SPP, queste particelle non sembravano in grado di inibire in maniera significativa la reattività delle IgE dei sieri verso gli estratti dei pollini corrispondenti, né verso singole molecole allergeniche come Bet v 1 (allergene maggiore della *Betula p.* e Cup a 1 (allergene maggiore del *Cupressus a.*) Questo è in linea con il fatto che, ad oggi, non siano noti casi d'asma da temporale dovuti a pollini di *Betula p.* o *Cupressus s.* Al contrario le SPP da polline di *A. artemisiifolia* (ma non da polline di *A. trifida*) inibivano il riconoscimento delle IgE verso il corrispondente estratto in maniera significativa (inibizione del 75,8%) che verso la molecola Amb a 1 (81,2%). Malgrado l'allergenicità delle SPP da *A. artemisiifolia* sia significativa va però sottolineato che il rilascio delle particelle è molto basso e questo potrebbe quindi spiegare il fatto che non sono stati riportati episodi di asma da temporale correlabili al polline di questa pianta. Lo stesso andamento è stato osservato per i pollini di *Parietaria o.* e di *Olea europea* con livelli di inibizione molto elevati sia Anche verso gli estratti corrispondenti che

verso le singole molecole come il Par j2 (allergene maggiore del polline di *Parietaria*) e Ole e1 (allergene maggiore del polline di *Olea*). E' possibile che per queste piante il rischio di episodi di asma grave causato da SPP sia limitato a quelle situazioni in cui eventi temporaleschi si presentino in combinazione con concentrazioni molto elevate dei loro pollini. I pollini di Poaceae sono quelli più frequentemente legati all'asma da temporale. Nel caso di *Phleum* è stata misurata una percentuale consistente di pollini che rilasciano SPP, e queste particelle hanno anche mantenuto una significativa attività allergenica verso l'estratto di polline di *Phleum pratense*. Da notare che sono state però verso osservate ampie variazioni verso le singole componenti (24.7% per Phl p 6, 38.3% per Phl p 1, 45.3% per Phl p 5, e 97.5% per Phl p 2) Considerando questi risultati, gli autori sottolineano che sarebbe interessante estendere lo studio a livello di singole componenti ai pazienti che hanno avuto asma da temporale per individuare quei pazienti che sono a maggior rischio di attacchi di asma gravi durante i temporali.



Gianni Mistrello

Lofarma S.p.A., Direzione Ricerca e Sviluppo

Evoluzione nel tempo della immunoterapia allergene specifica in pazienti affetti da pollinosi

Not Allergol 2022; vol. 40: n. 1-2: 30-43



Bibliografia

1. Pawankar R. Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *World Allergy Organ J.* 2014;7(1):12.
2. D'Amato M, Cecchi L, Annesi-Maesano I, et al. News on Climate Change, Air Pollution, and Allergic Triggers of Asthma. *Investig Allergol Clin Immunol.* 2018;28(2):91-97.
3. Jutel M, Agache I, Bonini S, et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(3):556-68.
4. Jacobsen L, Valovirta E. How strong is the evidence that immunotherapy in children prevents the progression of allergy and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2007;6:556-60.
5. Di Bona D, Plaia A, Leto-Barone MS, et al. Efficacy of allergen immunotherapy in reducing the likelihood of developing new allergen sensitizations: a systematic review. *Allergy* 2017;72(5):691-704.
6. Noon L Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911;1:1572-3
7. Freeman J. Further observations of the treatment of hay fever by hypodermic inoculations of pollen vaccine. *Lancet* 1911;2:814-817.
8. Ishizaka K, Ishizaka T. Identification of gamma-E-antibodies as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* 1967;99(5):849-58.
9. Johansson SG, Bennich H, Wide L. A new class of immunoglobulin in human serum. *Immunology.* 1968;14: 265-272.
10. Ickovic MR, Relyveld EH, Hénocq E, et al. Calcium-phosphate-adjuvanted allergens: total and specific IgE levels before and after immunotherapy with house dust and *Dermaphagoides pteronyssinus* extracts. *Ann Inst Pasteur (Paris).* 1969;116(3):300-26.
11. Relyveld EH, Ickovic MR, Hénocq, et al. Calcium phosphate adjuvanted allergens. *Ann Allergy* 1985;54(6):521-9.
12. Baldrick P, Richardson D, Wheeler AW. Review of L-tyrosine confirming its safe human use as an adjuvant. *J Appl Toxicol.* 2002;22:333-44.
13. Matthew D, Heath MD, Mohsen MO, et al. Shaping Modern Vaccines: Adjuvant Systems Using MicroCrystalline Tyrosine (MCT). *Front Immunol.* 2020;11:594911.
14. Jensen-Jarolim E, Roth-Walter F, Jordakieva G, et al. Allergens and Adjuvants in Allergen Immunotherapy for Immune Activation, Tolerance, and Resilience *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2021;9(5):1780-1789.
15. Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, et al. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J Allergy Clin Immunol.* 1987;79:660-677.
16. Bukantz SC, Bagg AS, Lockey RF. Adverse effects and fatalities associated with subcutaneous allergen immunotherapy. *Clin Allergy Immunol.* 2008;21:455-468.
17. Marsh DG, Lichtenstein LM, Campbell DH. Studies on "allergoids" prepared from naturally occurring allergens. I. Assay of allergenicity and antigenicity of formalinized rye group I component. *Immunology* 1970;18(5):705-22.
18. Bousquet J, Hejjaoui A, Skassa-Brocic W, et al. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. I. Rush immunotherapy with allergoids and standardized orchard grass-pollen extract. *J Allergy Clin Immunol.* 1987;80(4):591-8.
19. Keskin O, Tuncer A, Adalioglu G, et al. The effects of grass pollen allergoid immunotherapy on clinical and immunological parameters in children with allergic rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17(6):396-407.
20. Pfaar O, Hohlfeld JM, Al-Kadah B, et al. Dose-response relationship of a new Timothy grass pollen allergoid in comparison with a 6-grass pollen allergoid. *Clin Exp Allergy*



Bibliografia

- 2017;47:1445-55.
21. Patterson R, Suszko IM, McIntire FC. Polymerized ragweed antigen E. Preparation and immunologic studies. *J Immunol*. 1973;110(5):1402-12.
22. Grammer LC, Shaughnessy MA, Patterson R. Modified forms of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1985;76(2 Pt 2):397-401.
23. Mistrello G, Brenna O, Roncarolo D, et al. Monomeric chemically modified allergens: immunologic and physicochemical characterization. *Allergy* 1996; 51:8-15.
24. Henriquez O, Den Beste K, Hoddeson, E, et al. House dust mite allergen Der p 1 effects on sinonasal epithelial tight junctions. *Forum Allergy Rhinol* 2013;3(8):630-5.
25. Gunawan H, Takai T, Ikeda S, et al. Protease activity of allergenic pollen of cedar, cypress, juniper, birch and ragweed. *Allergol Int* 2008;57(1):83-91.
26. Galimberti M. Immunoterapia con allergoidi di graminacee (Modall). *Risultati preliminari. Giornale italiano delle malattie del torace, Suppl. 6 (Nov/Dic. 1986)*.
27. DiGiacchino M, Della Valle L, Mangifesta R, et al. Real-Life Effectiveness of Subcutaneous Immune Therapy with Carbamylated Monomeric Allergoids on Mite, Grass, and Pellitory Respiratory Allergy: A Retrospective Study. *J. Clin. Med.* 2022, 11(24), 7384.
28. Nelson H, Cartier S, Allen-Ramey F, et al. Network meta-analysis shows commercialized subcutaneous and sublingual grass products have comparable efficacy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3 (2):256-66.
29. Bohle B, Kinaciyar T, Gerstmayr M, et al. Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120(3):707-13.
30. Allam J-P, Duan Y, Winter J, et al. Tolerogenic T cells, Th1/Th17 cytokines and TLR2/TLR4 expressing dendritic cells predominate the microenvironment within distinct oral mucosal sites. *Allergy*. 2011;66(4):532-9.
31. Palomares O, Ruchert B, Jartti T, et al. Induction and maintenance of allergen-specific FOXP3+ Treg cells in human tonsils as potential first-line organs of oral tolerance. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(2):510-20.
32. Shamji MH, Durham SR. Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *Allergy Clin Immunol*. 2017 Dec;140(6):1485-1498
33. de Groot H, Bijl A. Anaphylactic reaction after the first dose of sublingual immunotherapy with grass pollen tablet. *Allergy*. 2009; 64:963-964.
34. Eifan A, Keles S, Bahceciler N, et al. Anaphylaxis to multiple pollen allergen sublingual immunotherapy. *Allergy*. 2007;62:567-568.
35. Nolte H, Casale TB, Lockey RF, et al. Epinephrine use in clinical trials of sublingual immunotherapy tablets. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5 (1):84-89.
36. Bagnasco M, Passalacqua G, Villa G, et al. Pharmacokinetics of an allergen and a monomeric allergoid for oromucosal immunotherapy in allergic volunteers. *Clin Exp Allergy*. 2001;31(1):54-60.
37. Petrarca C, Lazzarin F, Braga M, et al. Monomeric allergoid intragastric administration induces local and systemic tolerogenic response involving IL-10-producing CD4(+) CD25(+) T regulatory cells in mice. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2010;23(4):1021-31.
38. Compalati E, Incorvaia C, Urbano S, et al. The safety of carbamylated monomeric allergoids for sublingual immunotherapy. Data from a pharmacovigilance study. *Immunotherapy* 2020 ;12(3):195-202.
39. Burastero SE, Mistrello G, Falagiani P, et al. Effect of sublingual immunotherapy with grass monomeric allergoid on allergen-specific T-cell proliferation and interleukin 10 production. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;10 :343-50.
40. Burastero SE, Mistrello G, Paolucci C et al. Clinical and immunological correlates of pre-co-seasonal sublingual immunotherapy with birch monomeric allergoid in patients with allergic rhinoconjunctivitis. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol*. 2009, 22(2), 343-352.
41. Guida G, Boita M, Scirelli T, et al. Innate and lymphocytic response of birch-allergic patients before and after sublingual immunotherapy. *Allergy Asthma Proc*. 2012;33(5):411-5.
42. Skaarup SH, Martin Schmid J, Skjold T, et al. Intralymphatic immunotherapy improves grass pollen allergic rhinoconjunctivitis: A 3-year randomized placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2021; 147(3):1011-1019.
43. Park KH, Oh EY, Han H, et al. Efficacy of transdermal immunotherapy biodegradable microneedle patches in a murine asthma model. *Clin Exp Allergy*. 2020;50:1084-1092.

Istruzioni per gli autori

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

• I **manoscritti** per la pubblicazione devono venire inviati tramite posta elettronica a: **redazione@lofarma.it**

Nei manoscritti, oltre al nome completo degli Autori, dovrà essere indicata l'affiliazione degli stessi e l'indirizzo postale dell'Autore al quale verranno inviate le bozze.

• Il **testo** dovrà essere in formato Word o analogo senza usare programmi di impaginazione specifici.

• Le **illustrazioni**, le fotografie e le tabelle dovranno essere salvate e inviate in files separati (JPG, TIFF, PDF).

RIASSUNTO E SUMMARY

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

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

BIBLIOGRAFIA

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

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

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

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

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

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

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

La bibliografia verrà ordinata in ordine di citazione nel corso del testo e ogni citazione verrà contrassegnata da un numero progressivo di identificazione. In casi particolare, quando la bibliografia sia composta da riviste sintetiche, trattati, monografie e sia limitata a poche voci, non verrà citata nel testo ma raggruppata alla fine del lavoro sotto il titolo "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

informazione e formazione scientifica sul mondo delle allergie
Partecipa al Network di Lofarma



Sei già iscritto alla nostra [Area Riservata Medici](#)?

Lofarma, azienda farmaceutica leader nella **diagnosi** e nel **trattamento** delle **malattie respiratorie allergiche**, ha realizzato all'interno del proprio sito web un **portale riservato alla classe medica**.

Registrandosi si potrà accedere ad un archivio digitale esclusivo e sempre aggiornato, che include studi e pubblicazioni, cataloghi informativi, video divulgativi e rubriche tematiche.

All'interno dell'area riservata, nella **sezione Lofarma Academy**, si ha accesso a **programmi di formazione**, **incontri informativi** e di **divulgazione scientifica** per approfondire le tematiche legate al **mondo dell'allergologia**. I contenuti sono realizzati grazie al prezioso contributo di medici specialisti.

www.lofarma.it

