

# Annali italiani di Dermatologia allergologica *clinica e sperimentale*

SOTTO GLI AUSPICI DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI DERMATOLOGIA ALLERGOLOGICA PROFESSIONALE E AMBIENTALE

ANNO 59, NUMERO 2, MAGGIO-AGOSTO 2005

DIRETTORE: PAOLO LISI



Monte Meru Editrice

# Antiallergico



**Xyzal**<sup>®</sup>  
R06AE09 LEVOCETIRIZINA 5mg

Evidenze di efficacia

Rinite allergica stagionale<sup>1</sup>  
Rinite allergica perenne<sup>1</sup>  
Orticaria cronica idiopatica<sup>1</sup>

Medicinale  
soggetto a  
prescrizione  
medica



Posologia: 1 compressa al giorno  
dai 6 anni di età



**ucb Pharma**



## RIASSUNTO DELLE CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO

**1. DENOMINAZIONE DEL MEDICINALE.** Xyzal 5 mg compresse rivestite con film.

**2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA.** Ogni compressa rivestita con film contiene 5 mg di levocetirizina dicloridrato. Per gli eccipienti, si veda 6.1.

**3. FORMA FARMACEUTICA.** Compressa rivestita con film. Compressa rivestita con film di colore da bianco a biancastro, ovale, con un logo ad Y su di un lato.

**4. INFORMAZIONI CLINICHE. 4.1 Indicazioni terapeutiche.** Trattamento sintomatico della rinite allergica (inclusa la rinite allergica persistente) e dell'orticaria cronica idiopatica. **4.2 Posologia e modo di somministrazione.** Le compresse devono essere assunte per via orale e deglutite intere con l'ausilio di un

liquido. Possono essere assunte con o senza cibo. Si raccomanda di assumere la dose giornaliera in una singola somministrazione. *Adulti e adolescenti al di sopra dei 12 anni:* La dose giornaliera raccomandata è di 5 mg (1 compressa). *Anziani:* E' opportuna una riduzione del dosaggio nei pazienti anziani con insufficienza renale da moderata a grave (si veda "Pazienti con insufficienza renale" più sotto). *Bambini tra sei e dodici anni di età:* La dose giornaliera raccomandata è di 5 mg (1 compressa). Per bambini di età inferiore a sei anni non è possibile attualmente un adattamento del dosaggio. *Pazienti con insufficienza renale:* La frequenza dei dosaggi deve essere individualizzata in base alla funzionalità renale. Per adattare il dosaggio si faccia riferimento alla tabella che segue. Per utilizzare la tabella occorre fare riferimento al valore di clearance della creatinina ( $CL_{cr}$ ) del paziente espresso in ml/min. Il valore  $CL_{cr}$  (ml/min) può essere ricavato a partire dal livello di creatinina sierica (mg/dl) in base alla seguente formula:

$$\frac{[140 - \text{età (anni)}] \times \text{peso (kg)}}{72 \times \text{creatinina sierica (mg/dl)}} \quad (\times 0,85 \text{ per donne})$$

Adattamento del dosaggio per i pazienti con insufficienza renale:

Gruppo	Clearance della creatinina (ml/min)	Dose e frequenza
Normale	≥ 80	1 compressa una volta al giorno
Lieve	50 – 79	1 compressa una volta al giorno
Moderata	30 – 49	1 compressa una volta ogni 2 giorni
Severa	< 30	1 compressa una volta ogni 3 giorni
Malattia renale allo stadio terminale - Pazienti dializzati	< 10	Controindicato

*Pazienti con insufficienza epatica:* Non è necessario un adattamento del dosaggio nei pazienti affetti da sola insufficienza epatica. Nel caso di pazienti con insufficienza epatica e renale, è necessario adattare il dosaggio (si veda "Pazienti con insufficienza renale" più sopra).

*Durata del trattamento:* La durata del trattamento dipende dal tipo, dalla durata e dall'andamento dei disturbi. Per la febbre da fieno, sono sufficienti 3-6 settimane, e, in caso di esposizione di breve durata al polline, è in genere sufficiente anche una sola settimana. Attualmente sono disponibili, per levocetirizina in compresse rivestite da 5 mg, dati clinici relativi al trattamento per 6 mesi. Sono comunque disponibili dati clinici relativi al trattamento con il racemo: fino ad un anno in pazienti con orticaria cronica e rinite allergica cronica e fino a 18 mesi in pazienti affetti da prurito associato a dermatite atopica. **4.3 Controindicazioni.** Precedenti di ipersensibilità alla levocetirizina o ad un altro dei costituenti della formulazione o ad un qualunque derivato piperazinico. Levocetirizina è controindicata in pazienti con insufficienza renale grave, con valore di clearance della creatinina inferiore a 10 ml/min.

**4.4 Avvertenze speciali e opportune precauzioni d'impiego.** Non si consiglia l'utilizzo di Xyzal nei bambini con età inferiore a sei anni, dal momento che le attuali compresse rivestite non consentono l'adattamento del dosaggio. Si raccomanda cautela nell'assunzione di alcol (si veda "Interazioni"). Il medicinale non deve essere assunto da pazienti con rari problemi di tipo ereditario di intolleranza al galattosio, insufficienza dell'enzima Lapp lattasi o malassorbimento di glucosio-galattosio. **4.5 Interazioni con altri medicinali ed altre forme di interazione.** Non sono stati effettuati studi di interazione con levocetirizina (inclusi studi con induttori del CYP3A4); studi effettuati con il racemo cetirizina avevano dimostrato l'assenza di interazioni avverse, rilevanti dal punto di vista clinico (con pseudoefedrina, cimetidina, ketoconazolo, eritromicina, azitromicina, glipizide e diazepam). In uno studio a dosi ripetute con teofillina (400 mg una volta al giorno), è stata osservata una lieve diminuzione (16%) nella clearance della cetirizina, mentre la disponibilità di teofillina non era alterata dalla concomitante somministrazione di cetirizina. La presenza di cibo non riduce l'entità dell'assorbimento di levocetirizina, anche se ne diminuisce la velocità. In pazienti sensibili, l'assunzione contemporanea di cetirizina o levocetirizina e alcol o altri depressori del SNC può causare l'insorgenza di effetti a carico del sistema nervoso centrale, sebbene sia stato dimostrato che il racemo cetirizina non potenzia gli effetti dell'alcol. **4.6 Gravidanza e allattamento.** Per levocetirizina non sono disponibili dati clinici su gravidanze esposte al trattamento. Studi sugli animali non indicano effetti pericolosi diretti o indiretti sulla gravidanza, lo sviluppo embrionale/fetale, sul parto o sullo sviluppo post-natale. Si deve usare cautela nel prescrivere il trattamento a donne in gravidanza o nel periodo di allattamento. **4.7 Effetti sulla capacità di guidare veicoli e sull'uso di macchinari.** Nel corso di studi clinici comparativi non sono emersi dati che dimostrino che levocetirizina, alla dose raccomandata, riduca il grado di vigilanza, la capacità di reazione o la capacità di guidare. Tuttavia, taluni pazienti in terapia con Xyzal possono avvertire sonnolenza, affaticamento ed astenia. Pertanto i pazienti che devono guidare, effettuare attività potenzialmente pericolose o usare macchinari devono tenere presente la risposta individuale al farmaco. **4.8 Effetti indesiderati.** Durante gli studi clinici, effettuati su uomini e donne di età compresa tra 12 e 71 anni, il 15,1% dei pazienti trattati con levocetirizina 5 mg ha manifestato almeno una reazione avversa, rispetto all'11,3% riscontrato nel gruppo di pazienti trattati con placebo. Nel 91,6% dei casi, le reazioni avverse erano da lievi a moderate. Negli studi clinici, la percentuale di pazienti che ha dovuto interrompere il trattamento a causa degli effetti indesiderati è risultata dell'1,0% (9/935) con 5 mg di levocetirizina e dell'1,8% (14/771) con placebo. Gli studi clinici con levocetirizina hanno coinvolto 935 soggetti esposti al farmaco alla dose raccomandata di 5 mg al giorno. Di seguito si riporta l'incidenza di reazioni avverse riscontrata in percentuale uguale o superiore all'1% (comuni: >1/100, <1/10) nei pazienti trattati con levocetirizina 5 mg o con placebo:

Termine standard (WHOART)	Placebo (n = 771)	Levocetirizina 5 mg (n = 935)
Cefalea	25 (3,2%)	24 (2,6%)
Sonnolenza	11 (1,4%)	49 (5,2%)
Secchezza delle fauci	12 (1,6%)	24 (2,6%)
Affaticamento	9 (1,2%)	23 (2,5%)

Sono state osservate altre reazioni avverse non comuni (non comuni: >1/1000, <1/100) quali astenia e dolori addominali. L'incidenza di reazioni

avverse di tipo sedativo, quali sonnolenza, affaticamento ed astenia è risultata complessivamente più frequente (8,1%) in seguito a trattamento con levocetirizina 5 mg rispetto al trattamento con placebo (3,1%).

In aggiunta alle reazioni avverse riscontrate nel corso degli studi clinici e sopra elencate, nell'esperienza post marketing sono stati riportati casi molto rari di reazioni avverse al farmaco, riportate di seguito.

- Alterazioni del sistema immunitario: ipersensibilità inclusa anafilassi
- Alterazioni dell'apparato respiratorio del torace e del mediastino: dispnea
- Alterazioni dell'apparato gastrointestinale: nausea
- Alterazioni della cute e del tessuto sottocutaneo: edema angioneurotico, prurito, rash, orticaria

- Indagini diagnostiche: aumento ponderale. **4.9 Sovradosaggio.** a) *Sintomi:* Sintomi di sovradosaggio possono comprendere sonnolenza negli adulti ed inizialmente agitazione ed irrequietezza, seguita da sonnolenza, nei bambini. b) *Trattamento del sovradosaggio:* Non è noto un antidoto specifico alla levocetirizina. In caso di sovradosaggio, si raccomanda un trattamento sintomatico o di supporto. La lavanda gastrica deve essere presa in considerazione nel caso in cui sia passato poco tempo dall'ingestione. L'emodialisi non risulta efficace per eliminare la levocetirizina.

**5. PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE. 5.1 Proprietà farmacodinamiche.** Gruppo farmacoterapeutico: antiistaminici per uso sistemico, derivato piperazinico, codice ATC: R06A E09. Levocetirizina, l'enantiomero (R) della cetirizina, è un antagonista potente e selettivo dei recettori H<sub>1</sub>, periferici. Gli studi di binding hanno indicato che levocetirizina è dotata di alta affinità per i recettori H<sub>1</sub> umani (K<sub>i</sub> = 3,2 nmol/l). L'affinità di levocetirizina è doppia rispetto a quella di cetirizina (K<sub>i</sub> = 6,3 nmol/l). Levocetirizina si dissocia dai recettori H<sub>1</sub> con una emivita di 115 ± 38 min. Gli studi di farmacodinamica condotti nel volontario sano hanno dimostrato che levocetirizina esercita un'attività comparabile a cetirizina a livello cutaneo e nasale, ma con un dosaggio dimezzato. Studi in vitro (tecniche delle camere di Boyden e degli strati di cellule) mostrano che levocetirizina inibisce la migrazione transendoteliale di eosinofili indotta da eotassina sia nel derma sia nel tessuto polmonare. In uno studio sperimentale di farmacodinamica *in vivo* (tecnica della "skin chamber") in 14 pazienti adulti, durante le prime 6 ore della reazione indotta da polline, sono stati evidenziati tre effetti inibitori principali di levocetirizina 5 mg in confronto con placebo: inibizione del rilascio di VCAM-1, modulazione della permeabilità vascolare e riduzione del reclutamento di eosinofili. L'efficacia e la sicurezza di levocetirizina sono state dimostrate in numerosi studi clinici, in doppio cieco e controllati con placebo, condotti su pazienti affetti da rinite allergica stagionale o rinite allergica perenne. Uno studio clinico della durata di 6 mesi, che ha coinvolto 551 pazienti (comprendente 276 pazienti trattati con levocetirizina) affetti da rinite allergica persistente (sintomi presenti 4 giorni alla settimana per almeno 4 settimane consecutive) e sensibilizzati agli acari della polvere di casa ed al polline delle graminacee, ha dimostrato che levocetirizina 5 mg è risultata significativamente più potente dal punto di vista clinico e statistico rispetto al placebo nel miglioramento del punteggio totale dei sintomi della rinite allergica nel corso dell'intera durata dello studio, senza alcuna tachifilassi. Durante l'intera durata dello studio, levocetirizina ha migliorato significativamente la qualità di vita dei pazienti.

*Relazione farmacocinetica/farmacodinamica:* 5 mg di levocetirizina provocano un grado di inibizione del pomfo e dell'arrossamento indotto da istamina simile a 10 mg di cetirizina. Come per la cetirizina, l'azione sulle reazioni cutanee indotte dall'istamina non era correlata con le concentrazioni plasmatiche. L'analisi dell'ECG non ha evidenziato effetti degni di nota di levocetirizina sull'intervallo QT.

**5.2 Proprietà farmacocinetiche.**

La farmacocinetica di levocetirizina è lineare con la dose e indipendente dal tempo, con una bassa variabilità tra soggetti. Il profilo farmacocinetico è lo stesso quando dato come singolo enantiomero o come cetirizina. Durante i processi di assorbimento ed eliminazione non si manifesta inversione chirale. *Assorbimento:* Levocetirizina somministrata per via orale viene assorbita in modo rapido ed esteso. Il picco di concentrazione plasmatica è raggiunto 0,9 ore dopo la somministrazione. Dopo due giorni di trattamento si raggiungono i livelli di steady state. A seguito di somministrazione singola o ripetuta di 5 mg u.i.d., mediamente si raggiungono picchi di concentrazione di 270 ng/ml e 308 ng/ml rispettivamente. Il grado di assorbimento non dipende dalla dose e non viene modificato dall'assunzione di cibo, ma la concentrazione del picco è ridotta e ritardata. *Distribuzione:* Non sono disponibili dati di distribuzione tissutale nell'uomo o riguardanti il passaggio di levocetirizina attraverso la barriera emato-encefalica. Nei ratti e nei cani, i più elevati livelli tissutali sono stati trovati nel fegato e nei reni, i più bassi a livello SNC.

Levocetirizina risulta legata alle proteine plasmatiche nella percentuale del 90%. La distribuzione di levocetirizina è limitata, come indicato dal volume di distribuzione che risulta di 0,4 l/kg. *Biotrasformazione:* Nell'uomo l'entità del metabolismo di levocetirizina è inferiore al 14% della dose; pertanto si ritiene che siano trascurabili le differenze che possono manifestarsi in seguito a polimorfismo genetico o alla concomitante assunzione di inibitori enzimatici. Le vie metaboliche comprendono l'ossidazione aromatica, la N- e O- dealkilazione e la coniugazione con taurina. Le vie dealkilative sono mediate principalmente dal CYP 3A4, mentre per l'ossidazione aromatica entrano in gioco varie e/o non identificate isoforme di CYP. Levocetirizina non modifica l'attività degli isoenzimi CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 e 3A4 a concentrazioni di molto superiori alla massima concentrazione che si raggiunge nel plasma dopo una somministrazione orale di 5 mg. Pertanto lo scarso metabolismo e l'assenza di potenziale inibitorio sul metabolismo, rendono improbabile l'interazione di levocetirizina con altre sostanze, o viceversa.

*Eliminazione:* L'emivita plasmatica negli adulti è risultata di 7,9 ± 1,9 ore. Il valore medio della clearance corporea totale apparente è risultato di 0,63 ml/min/kg. La via di escrezione principale della levocetirizina e dei metaboliti è quella urinaria, attraverso la quale viene eliminata una media dell'85,4% della dose somministrata. L'escrezione media per via fecale è risultata soltanto del 12,9% della dose. Levocetirizina è escreta sia per filtrazione glomerulare che per secrezione tubulare attiva. *Insufficienza renale:* La clearance corporea apparente di levocetirizina è correlata alla clearance della creatinina. Pertanto si raccomanda di modificare l'intervallo tra i dosaggi di levocetirizina, in base alla clearance della creatinina, nei pazienti con insufficienza renale di grado moderato o severo. Nei soggetti con anuria da insufficienza renale allo stadio terminale, la clearance corporea totale risulta ridotta dell'80% circa rispetto ai soggetti normali. La quantità di levocetirizina eliminata durante un ciclo standard di emodialisi di 4 ore, è risultata inferiore al 10%. **5.3 Dati preclinici di sicurezza.** I dati preclinici non rivelano particolari rischi per gli esseri umani sulla base di studi convenzionali di farmacologia di sicurezza, tossicità per somministrazioni ripetute, genotossicità, potenziale cancerogeno e tossicità riproduttiva.

**6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE. 6.1 Elenco degli eccipienti.** Nucleo: cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato, silice colloidale anidra, magnesio stearato. *Rivestimento:* Opadry® Y-1-7000 composto da: ipromellosa (E464), titanio diossido (E171), macrogol 400.

**6.2 Incompatibilità.** Non applicabile. **6.3 Periodo di Validità.** Tre anni. **6.4 Speciali precauzioni per la conservazione.** Nessuna speciale precauzione per la conservazione. **6.5 Natura e contenuto del contenitore.** Blister di alluminio - OPA/Alluminio/PVC. Confezione da 4, 7, 10, 2 x 10, 10 x 10, 14, 15, 20, 21, 28, 30, 40, 50, 60, 70, 90, 100 compresse. Non tutte le confezioni potrebbero essere commercializzate. **6.6 Istruzioni per l'impiego e la manipolazione (e per lo smaltimento).** Nessun speciale requisito.

**7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO.** UCB Pharma S.p.A., Via Praglia 15, - 10044 Pianezza (TO) Italia. **8. NUMERO(I) DELL'AUTORIZZAZIONE (DELLE AUTORIZZAZIONI) ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO.** Confezione da 4 compresse - A.I.C. 035666015/M; Confezione da 7 compresse - A.I.C. 035666027/M; Confezione da 10 compresse - A.I.C. 035666039/M; Confezione da 2 x 10 compresse - A.I.C. 035666041/M; Confezione da 10 x 10 compresse - A.I.C. 035666054/M; Confezione da 14 compresse - A.I.C. 035666066/M; Confezione da 15 compresse - A.I.C. 035666078/M; Confezione da 20 compresse - A.I.C. 035666080/M; Confezione da 21 compresse - A.I.C. 035666092/M; Confezione da 28 compresse - A.I.C. 035666104/M; Confezione da 30 compresse - A.I.C. 035666116/M; Confezione da 40 compresse - A.I.C. 035666128/M; Confezione da 50 compresse - A.I.C. 035666130/M; Confezione da 60 compresse - A.I.C. 035666142/M; Confezione da 70 compresse - A.I.C. 035666155/M; Confezione da 90 compresse - A.I.C. 035666167/M; Confezione da 100 compresse - A.I.C. 035666179/M.

**9. DATA DELLA PRIMA AUTORIZZAZIONE/ RINNOVO DELL'AUTORIZZAZIONE.** 27 Maggio 2003.

**10. DATA DI REVISIONE DEL TESTO.** 22 Luglio 2005



*I dermocosmetici ad alta tollerabilità  
per pelli sensibili, allergiche e reattive.*



no  
all  
D E R M A

Un approccio globale per la massima tollerabilità. I prodotti NoAll Derma non contengono sostanze comunemente riconosciute come causa di allergie e intolleranze: conservanti, coloranti, profumi, lanolina. Hanno una formulazione essenziale e sono privi di impurezze e contaminazioni.

I risultati di sicurezza, efficacia e gradevolezza cosmetica sono dimostrati da accurati test clinici in vitro e in vivo, anche su cute allergica o affetta da forme di eczema.

Tutti i prodotti NoAll Derma sono testati su soggetti allergici al nickel.



# ALFA 4<sup>®</sup> micospuma

**la massima  
efficacia  
in una sola dose**



*impedisce lo sviluppo di  
funghi e batteri opportunisti*

**per la pulizia di tutte le  
piccole aree cutanee**

- **sensibili**
- **irritate**
- **allergiche**

**mavi**  
*clinically correct cosmetics*

[www.mavicosmetics.it](http://www.mavicosmetics.it) - [info@mavicosmetics.it](mailto:info@mavicosmetics.it)  
Mavi sud srl  
V.le dell'Industria, 1 - 04011 Aprilia (LT) - Tel. 06.9286261 Fax. 06.9281523

4

ALFA



# Annali italiani di Dermatologia allergologica

*clinica e sperimentale*

*già Annali Italiani di Dermatologia Clinica e Sperimentale*  
*Sotto gli auspici della Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e Ambientale*

Quadrimestrale di dermatologia clinica, allergologica, professionale e ambientale dell'Università degli studi di Perugia



Iscritto al Registro della stampa al n. 547 con ordinanza del Tribunale di Perugia in data 27 settembre 1978

#### **Direzione editoriale**

Monte Meru S. r. l.  
Via San Pietro Campagna, 100  
06081 Assisi (PG), Italia  
Tel. amministrazione  
+39.075.8197105  
Fax: 178.227.7437  
e-mail: montemeru@tiscali.it  
Internet: www.montemeru.it

#### **Recensita in:**

Faxon Finder,  
Faxon XPRESS,  
EMBASE / Excerpta Medica

#### **Direttore**

Paolo Lisi (Perugia)

#### **Comitato editoriale**

Elvio Alessi (Milano)  
Augustín Alomar (Barcelona)  
Giovanni Angelini (Bari)  
Fabio Ayala (Napoli)  
Bernd-Rüdiger Balda (Augsburg)  
Giuseppe De Panfilis (Parma)  
An Goossens (Leuven)  
Lasse Kanerva (Helsinki)  
Jean-Marie Lachapelle (Bruxelles)  
Richard J.G. Rycroft (London)  
Pietro Santoianni (Napoli)  
Achille Sertoli (Firenze)

#### **Redattore capo**

Luca Stingeni (Perugia)

#### **Segreteria di redazione**

Katharina Hansel (Perugia)  
Simona Pelliccia (Perugia)

#### **Comitato scientifico**

Danilo Assalve (Perugia)  
Enzo Berardesca (Roma)  
Stefano Caraffini (Perugia)  
Paolo Fabbri (Firenze)  
Caterina Foti (Bari)  
Stefano Francalanci (Firenze)  
Benvenuto Giannotti (Firenze)  
Marcella Guarrera (Genova)  
Paolo Pigatto (Milano)  
Donatella Schena (Verona)  
Stefania Seidenari (Modena)  
Antonella Tosti (Bologna)  
Rossano Valsecchi (Bergamo)  
Claudio Varotti (Bologna)  
Gino Antonio Vena (Bari)

#### **Pubblicità**

Paolo Lisi (Perugia)

Finito di stampare  
nel settembre 2005  
dall'Unione Tipografica Folignate  
Via A. Morettini, 11  
06034 Foligno (PG), Italia

Centro di spesa: Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche, Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica



Monte Meru Editrice

**Notizie amministrative****Abbonamenti 2004**

Per l'Italia:

- Privati..... € 50,00
- Istituti, Enti, Biblioteche..... € 85,00

Per l'estero

- Privati, Istituti, Enti, Biblioteche..... € 100,00

L'abbonamento decorre da gennaio a dicembre. L'abbonato potrà far richiesta all'Editore di fascicoli non pervenuti o di quelli perduti per tardivo rinnovo dell'abbonamento; l'Editore corrisponderà le copie arretrate, senza alcuna spesa aggiuntiva, solo fino ad esaurimento delle scorte.

La rivista viene inviata gratuitamente a tutti i Soci SIDAPA in regola con la quota associativa annuale.

Richieste ed abbonamenti vanno inoltrati a Monte Meru S.r.l., via San Pietro Campagna 100, 06081 Assisi (PG) Italia, indicando sempre, nella causale del versamento, la dicitura: Annali italiani di Dermatologia allergologica. Per ulteriori informazioni sugli abbonamenti telefonare al +39.075.8197105.

L'abbonamento può essere regolarizzato a mezzo assegno circolare, assegno di conto corrente, vaglia postale, versamento su c/c postale n. 30700058, bonifico bancario presso il Credito Cooperativo Cassa Rurale ed Artigiana di Spello e Bettona - Filiale di Passaggio di Bettona, abi 8871, cab 38291, c/c 007010006177/7 intestato a Monte Meru S.r.l.

**Privacy**

L'Editore si impegna a gestire i dati personali degli abbonati e i Soci SIDAPA con la massima riservatezza.

za, secondo quanto disposto ai sensi del Dlgs 30 giugno 2003 n.196 e sue eventuali successive modifiche. In particolare, l'Editore si impegna a non cedere ad alcuno i dati trasmessi dagli abbonati e dai Soci SIDAPA e a non inviare loro proposte commerciali diverse da quella di rinnovo dell'abbonamento alla Rivista. Abbonati e Soci SIDAPA potranno in qualsiasi momento richiedere all'Editore la rettifica o la cancellazione dall'archivio. La cancellazione comporterà tuttavia l'impossibilità di procedere a nuovi invii della Rivista. Titolare del trattamento presso l'Editore è il Dott. Marco Fazion, coadiuvato quando necessario dalla responsabile, Valentina Baldini. Copia integrale del documento sulle procedure di privacy adottate da Monte Meru S.r.l. sarà disponibile, secondo quando disposto dal Garante, per consultazione collettiva sul sito [www.montemeru.it](http://www.montemeru.it) al link privacy.

**Inserzioni pubblicitarie**

Le richieste vanno indirizzate al Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche dell'Università degli studi di Perugia, sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica, nella persona del Prof. Paolo Lisi (tel: 075.5731388; fax: 075.5783452).

**Estratti**

Gli eventuali estratti, oltre ai 20 gratuiti, debbono essere richiesti all'atto del rinvio delle bozze e pagati in contrassegno sulla scorta della tariffa che l'Editore avrà preventivamente inviato all'Autore. Per Enti, Istituti, Biblioteche, Ospedali, ASL è consentito il pagamento a ricevimento della fattura, ma dovrà essere inviato il relativo buono d'acquisto. Gli estratti verranno forniti dopo il saldo della fattura.

I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica, di riproduzione e di adattamento totale o parziale con qualsiasi mezzo (compresi i microfilm e le copie fotostatiche o la pubblicazione web) sono riservati per tutti i paesi. La violazione di tali diritti è perseguibile a norma di legge per quanto previsto dal Codice penale

## Norme per gli autori

La rivista quadrimestrale **Annali italiani di Dermatologia allergologica, clinica e sperimentale** pubblica, in lingua italiana o inglese, editoriali, rassegne, articoli originali, casi clinici e comunicazioni in breve, proposte terapeutiche, rubriche, lettere alla direzione, su argomenti di dermatologia immunoallergologica, sia clinica che sperimentale, specie se correlati con l'attività lavorativa e/o con l'ambiente.

I lavori devono essere inviati al Direttore della Rivista presso la Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica, Policlinico Monteluce, 06100 Perugia (tel.: 075.5731388; fax: 075.5783452; e-mail: dermalam@unipg.it).

La pubblicazione degli articoli è subordinata al giudizio della Direzione la quale, sentito il parere del Comitato editoriale o di altri esperti, ha facoltà di chiedere agli Autori eventuali modifiche. Non saranno comunque presi in considerazione gli articoli non uniformi alle norme editoriali e quelli non accompagnati dalla dichiarazione degli Autori che si tratta di lavori inediti, non inviati ad altra rivista e che la proprietà degli stessi viene ceduta alla Casa editrice se accettati per la pubblicazione. I lavori vengono pubblicati gratuitamente; sono previsti n. 20 estratti gratuiti per articolo.

*Rassegne, articoli originali, proposte terapeutiche e rubriche* devono essere contenuti entro 20 cartelle. Gli articoli originali e le proposte terapeutiche devono comprendere: 1) riassunto in italiano e in inglese; 2) introduzione; 3) materiali e metodi; 4) risultati; 5) discussione; 6) conclusioni. I riferimenti bibliografici non devono superare le 40 citazioni, salvo nelle rassegne per le quali sono ammesse fino a 100 voci.

*Casi clinici e comunicazioni in breve* non devono superare le 4 cartelle dattiloscritte, riassunti e bibliografia (10 voci) inclusi; figure o tabelle sono ammesse nel numero massimo di 3.

Gli *editoriali* debbono essere contenuti in non più di 5 cartelle dattiloscritte; per la bibliografia, non più di 15 voci.

Le *rubriche*, gestite da alcuni esperti, prevedono articoli di aggiornamento su argomenti emergenti o a carattere eminentemente pratico; sono previsti il solo riassunto in inglese e l'inserimento di voci bibliografiche fino a 15.

Le *lettere alla direzione* (2 cartelle dattiloscritte) dovrebbero contenere preferibilmente interventi su argomenti trattati nella Rivista; è consentita la citazione di 5 voci bibliografiche.

## Manoscritti

I manoscritti, firmati dagli Autori, vanno inviati in duplice copia, dattiloscritti a doppio spazio su una sola facciata (26 righe di 50 battute), con un margine ai lati di 2,5 cm.

E' pure necessario l'invio del testo su compact disc o floppy disk da 3.5" su sistema MSDOS (IBM). Dove possibile, sono preferibili floppy disk high density o double sided. I file, oltre al formato ASCII, possono essere in Word, Winword, Wordstar, Word Perfect ed Open Office 1.1. Il dischetto deve essere etichettato con: nome degli Autori, titolo dell'articolo, word-processor utilizzato (e relativa versione).

Nella prima pagina debbono essere indicati: il titolo (in italiano e in inglese), il nome (per esteso) e il cognome degli Autori, la struttura e l'ente di appartenenza, il titolo corrente (massimo 40 caratteri), l'indicazione di eventuali congressi ai quali il lavoro sia stato presentato, l'indirizzo dell'Autore (anche elettronico) al quale inviare comunicazioni, bozze ed estratti. Nella seconda pagina indicare il solo titolo, in modo tale che la rimozione della prima pagina consenta la revisione del manoscritto in anonimo.

Le abbreviazioni, i simboli e le unità di misura sono quelli adottati per convenzione internazionale (Sistema Internazionale) e stampati nel fascicolo di ogni anno.

Le sigle utilizzate debbono essere precedute dalla denominazione per intero la prima volta che appaiono nel testo.

Eventuali finanziamenti, contratti di ricerca e ringraziamenti saranno posti alla fine dell'articolo, prima della bibliografia.

## Riassunti

In essi è necessario sintetizzare accuratamente gli *scopi del lavoro*, i *materiali e metodi*, i *risultati* e le *conclusioni*. Il riassunto in italiano non dovrà superare le 150 parole, mentre quello in inglese dovrà essere molto più ampio (non meno di 400 parole); per i *casi clinici e comuni-*

*cazioni in breve*, tuttavia, non possono essere utilizzate più di 100 parole. Per gli editoriali e le lettere non è previsto il riassunto. Al termine dei riassunti devono essere riportate le parole chiave: al massimo 5.

## Tabelle e figure

Tabelle e figure, in duplice copia, devono essere realizzate tenendo conto del formato della Rivista. Le tabelle, dattiloscritte su pagine separate, debbono essere numerate progressivamente con i numeri romani ed essere correlate da un titolo esaurientemente esplicativo in corsivo. E' necessario citarle nel testo senza abbreviazioni e con numeri romani (es.: tabella I). Tutte le illustrazioni (grafici, disegni, schemi e fotografie) sono considerate figure e devono essere contraddistinte progressivamente con numeri arabi (es.: figura 1). Le dimensioni consigliate sono: cm 8 (base) x 5 o 10 (altezza); dimensioni diverse vanno calcolate in proporzione. Sul retro di ciascuna figura devono essere indicati, oltre il numero progressivo, il cognome del primo Autore, il titolo dell'articolo, il lato alto. Ogni figura deve essere corredata da una didascalia. Le figure vanno separate dal testo e le didascalie riportate su un foglio a parte. Nelle didascalie delle foto istologiche, indicare metodo di colorazione e ingrandimenti.

## Disegni e fotografie

Disegni e fotografie devono essere eseguiti su carta bianca (lucida o opaca, non millimetrata). Eventuali didascalie interne devono avere dimensioni compatibili con l'eventuale riduzione proporzionale dell'intera figura. In mancanza di tali requisiti, i disegni saranno rielaborati e le spese relative saranno addebitate agli Autori. Nel caso di illustrazioni a mezzatinta in cui debbano comparire legenda o indicazioni (freccette, lettere, abbreviazioni, sigle), queste devono essere eseguite separatamente su superfici trasparenti ed accluse all'illustrazione. Le figure a colori saranno accettate solo se utili in modo significativo. Il costo delle figure a colori verrà preventivamente comunicato agli Autori. Le fotografie che consentono l'identificazione di pazienti devono essere evitate: in taluni casi potrà essere utilizzata una mascherina nera che copra gli occhi del soggetto.

## Bibliografia

Le voci bibliografiche devono essere elencate nell'ordine con cui sono state citate nel testo, con numerazione araba, senza parentesi ma seguita da un punto. Deve essere redatta secondo le regole dell'Index Medicus, a cui occorre attenersi anche per le abbreviazioni del titolo delle Riviste (cfr. List of Journals Indexed in Index Medicus, aggiornata ogni anno).

E' consentito richiamare osservazioni inedite e comunicazioni personali. Gli articoli accettati per la pubblicazione, ma non ancora editi, possono essere citati aggiungendo la dizione "in stampa".

Seguono alcuni esempi delle diverse modalità di citare le voci bibliografiche. Si notino le caratteristiche: a) iniziale del nome senza il punto; b) abbreviazione del titolo della rivista senza il punto; c) assenza del carattere corsivo; d) iniziale maiuscola solo per la prima parola del titolo dell'articolo; e) il numero della sola pagina iniziale. Gli Autori vanno citati tutti fino al terzo; se più, si aggiungerà et al.

Esempi:

Lisi P, Stingeni L, Pigatto P, et al. Indagine epidemiologica GIRDCA (Gruppo Italiano Ricerca Dermatiti da Contatto e Ambientali) sulla dermatite da contatto in Italia (1994-1998). *Ann Ital Dermatol Allergol* 2003; 57: 30.

Johansen JD. Contact allergy to fragrances: clinical and experimental investigations of the fragrance mix and its ingredients. *Contact Dermatitis* 2002; 46 (suppl 3): 1.

Binazzi M. Manuale di dermatologia e venereologia. II ed. Bologna: Soc Ed Esculapio, 1990; 310.

Angelini G, Bonamonte D. Dermatite da contatto allergica. In: Gianetti A (ed). *Trattato di dermatologia*. II ed. Padova: Piccin Nuova Libreria, 2002; vol III (51): 1.

## Comunicazione

Si raccomanda agli Autori la *precisa osservanza delle norme* nella preparazione dei manoscritti, al fine di alleggerire il lavoro redazionale e di ottenere e mantenere la qualità e la puntualità di pubblicazione, necessarie per l'inserimento della Rivista nei giornali di recensione internazionale.



## Contenuto

### Rassegne

Il ruolo dello stress ossidativo nella risposta immune <i>M.L. Dell'Anna, A. Mastrofrancesco, V. Albanesi e M. Picardo. ....</i>	Pag.	53
Nuovi test diagnostici <i>in vitro</i> nell'allergia a farmaci <i>O. De Pittà, A. Frezzolini, S. Cadoni, M. Ruffelli e M.G. Sanjust. ....</i>	»	67
Nichel e dispositivi medico-chirurgici <i>P.D. Pigatto e G. Guzzi. ....</i>	»	72

### Articoli originali

Allergia agli additivi della gomma ed al lattice in parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci <i>C. Foti, V. Scrimieri, M. Corazza, M. Gola, F. Giusti, S. Seidenari, L. Stingeni, P. Lisi, F. Guarneri, R.H. Valsecchi, N. Balato, A. Cristaudo, P.D. Pigatto, R. Gallo, D. Schena, E. Nettis, V. Ingordo e G. Angelini. ....</i>	»	77
Le istruzioni stampate nella gestione dei pazienti con dermatite da contatto <i>G. Fabbrocini, L. Adinolfi, N. Balato, D. Schena, M. Corazza, M.L. Musumeci e F. Ayala. ....</i>	»	85
Analisi dei livelli sierici di citochine in pazienti con orticaria cronica idiopatica <i>V. Rizzuti, E. Di Lella, P. Cordiali Fei, M. Pietravalle, M. De Rocco e A. Cristaudo. ....</i>	»	92

### Casi clinici in breve

Eruzione esantematica scarlattiniforme da imatinib in paziente affetto da leucemia mieloide cronica <i>L. Zeppa, D. Assalve e P. Lisi. ....</i>	»	98
--	---	----

### Rubriche

#### **Dermatite atopica**

“Ipotesi dell'igiene” oggi <i>M. Corazza. ....</i>	»	101
---	---	-----

<b>Recensioni</b> .....	»	104
-------------------------	---	-----

<b>Notiziario</b> .....	»	105
-------------------------	---	-----

## Contents

### Reviews

The role of oxidative stress in immune system <i>M.L. Dell'Anna, A. Mastrofrancesco, V. Albanesi and M. Picardo</i> .....	Page	53
New in vitro diagnostic tests in drug allergy <i>O. De Pittà, A. Frezzolini, S. Cadoni, M. Ruffelli and M.G. Sanjust</i> .....	»	67
Nickel and medico-surgical devices <i>P.D. Pigatto and G. Guzzi</i> .....	»	72

### Original articles

Prevalence of sensitivity to rubber additives and latex in hairdressers with hand and/or forearm contact dermatitis <i>C. Foti, V. Scrimieri, M. Corazza, M. Gola, F. Giusti, S. Seidenari, L. Stingeni, P. Lisi, F. Guarneri, R.H. Valsecchi, N. Balato, A. Cristaudo, P.D. Pigatto, R. Gallo, D. Schena, E. Nettis, V. Ingordo and G. Angelini</i> .....	»	77
Printed instruction sheets in the management of patients with contact dermatitis <i>G. Fabbrocini, L. Adinolfi, N. Balato, D. Schena, M. Corazza, M.L. Musumeci and F. Ayala</i> .....	»	85
Cytokine serum levels in patients with chronic idiopathic urticaria <i>V. Rizzuti, E. Di Lella, P. Cordiali Fei, M. Pietravallo, M. De Rocco and A. Cristaudo</i> .....	»	92

### Case reports

Maculo-papular scarlatiniform eruption in chronic myeloid leukaemia patient treated with imatinib <i>L. Zeppa, D. Assalve and P. Lisi</i> .....	»	98
--	---	----

### Reader's forum

#### *Atopic dermatitis*

The "Hygiene hypothesis" today <i>M. Corazza</i> .....	»	101
---	---	-----

<b>Book reviews</b> .....	»	104
---------------------------	---	-----

<b>News and notices</b> .....	»	105
-------------------------------	---	-----

## Il ruolo dello stress ossidativo nella risposta immune

Maria Lucia Dell'Anna, Arianna Mastrofrancesco, Veronica Albanesi e Mauro Picardo

**Riassunto.** Le cellule producono fisiologicamente e costantemente specie radicaliche, i cui potenziali effetti dannosi sono contrastati dalla presenza di un sistema - enzimatico e non solo - antiossidante. In realtà, la presenza di radicali dell'ossigeno o di altre specie elettronicamente instabili all'interno della cellula non solo è tollerata ma contribuisce alla corretta trasduzione intracellulare del segnale. Obiettivo di questo lavoro è stato quello di fornire una rivisitazione critica della letteratura corrente sul ruolo delle diverse specie radicaliche nella fisiologia cellulare e sui dispositivi di protezione, focalizzando l'attenzione sui metabolismi specifici delle cellule immunocompetenti in situazioni fisiologiche e patologiche.

**Parole chiave:** stress ossidativo, risposta immune, specie radicaliche, attivazione linfocitaria, antiossidanti enzimatici.

**Summary.** *The role of oxidative stress in immune system.* Reactive oxygen species (ROS) are physiologically produced by the cells. On the other hand, the deleterious effects of ROS are counteracted by the coordinated action of the antioxidant network. Recent works underline the active role of the ROS on several intracellular pathways, where they act as signal transducers. Aim of the present work was to provide an overview of the current literature on the role of the ROS as intracellular mediators, with particular attention to the cellular components of the immune system. Some short considerations about known oxidative stress-related diseases and the possible therapeutical use of antioxidants conclude the paper.

**Key words:** oxidative stress, immune system, radical species, lymphocytic activation, enzymatic antioxidant.

### Radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto

I radicali liberi sono molecole caratterizzate dalla presenza di elettroni spaiati nell'orbitale più esterno, conformazione molecolare che conferisce un'elevata reattività chimica. Nei sistemi biologici i radicali liberi e le specie reattive più rilevanti derivano dall'attivazione dell'ossigeno molecolare. L'effetto biologico dell'interazione tra specie radicaliche e componenti cellulari dipende non solo dalla reattività chimica ma anche dall'abbondanza relativa delle differenti specie, dalla struttura chimica del target e dalla presenza di composti ad azione scavenger<sup>1</sup>.

### Ossigeno singoletto

L'ossigeno singoletto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), uno stato elettronicamente eccitato dell'ossigeno molecolare (O<sub>2</sub>), è prodotto nella cellula nel corso di reazioni enzimatiche e non-enzimatiche e durante la fotoesposizione in presenza di fotosensibilizzanti<sup>2-5</sup>. Tra i potenziali target di <sup>1</sup>O<sub>2</sub> vanno annoverati i lipidi e le proteine, sia per la loro elevata concentrazione cellulare sia per l'elevata velocità di reazione della specie radicalica nei loro confronti. Tuttavia <sup>1</sup>O<sub>2</sub> è in grado di trasferire l'energia in eccesso a molecole quenching, come il carotene e i carotenoidi, ritornando in tal modo al livello energetico basale; al pari è in grado di diffondere attraverso le membrane cellulari, agendo in tal modo anche in siti distanti da quello di produzione, di in-

terferire con le vie di trasduzione del segnale e di indurre "stress risposte", attivando ad esempio le mitogen activated protein (MAP)-chinasi<sup>6-11</sup>.

#### *Anione superossido*

Il radicale anione superossido ( $O_2^{\cdot-}$ ) si forma per acquisizione netta di un elettrone da parte di  $O_2$ .  $O_2^{\cdot-}$  può essere prodotto non-enzimaticamente, attraverso l'ossidazione dell'ubiquinone semi-ridotto o delle catecolamine, o nel corso della reazione enzimatica promossa dalla nicotinamide di ammine dinucleotide (NADH)-ossidasi o dalla xantina-ossidasi.

$O_2^{\cdot-}$  è in grado di interagire con lipidi, proteine, zuccheri ed acidi nucleici. A causa della carica elettrica, in molti casi non riesce ad attraversare le membrane cellulari potendo quindi agire solo nel sito di produzione. Molti dei suoi effetti sono da attribuire ai prodotti della sua dismutazione o alla generazione di tyl-radicali in seguito alla reazione con gruppi tiolici, frequentemente presenti in proteine e enzimi<sup>12-14</sup>.

La trasformazione di  $O_2^{\cdot-}$  in perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ) e  $O_2$  avviene sia spontaneamente sia per azione delle diverse isoforme della superossido-dismutasi (SOD).

#### *Perossido di idrogeno*

$H_2O_2$  è una piccola molecola con un'elevata capacità di diffondere attraverso la membrana cellulare; non essendo un radicale libero, a differenza delle altre specie reattive dell'ossigeno (ROS, reactive oxygen species), è molto stabile.  $H_2O_2$  in presenza di metalli divalenti (reazione di Haber-Weiss) può generare il radicale idrossilico ( $\cdot OH$ ), altamente reattivo. In ambiente acquoso può agire da forte riducente portando lo ione metallico ( $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ) ad un più basso stato di ossidazione e quindi ad una più elevata reattività, responsabile a sua volta della formazione di  $\cdot OH$ <sup>15,16</sup>.  $H_2O_2$  può reagire con proteine e acidi grassi polinsaturi (PUFA) ossidando in maniera reversibile i residui deprotonati e tiolati di cisteina, con conseguente generazione di acido sulfenico (-SOH). La maggior parte dei residui di cisteina risulta protetta dall'ossidazione<sup>17</sup>, quindi  $H_2O_2$  è in grado di ossidare solo i residui situati in prossimità di aminoacidi carichi positivamente<sup>18</sup>.

#### *Radicale idrossilico*

$\cdot OH$  è un composto neutro con un elettrone

spaiato, responsabile dell'ossidazione di molecole in prossimità del sito di generazione. Oltre ad avviare il processo di lipoperossidazione,  $\cdot OH$  è responsabile anche di un'ampia gamma di danni al DNA (modificazioni strutturali, rotture, inibizione dei processi di riparo)<sup>19</sup>.

#### *Acido ipocloroso*

L'acido ipocloroso (HClO) si forma a partire da  $H_2O_2$  e cloruro ad opera di enzimi, quali le mieloperossidasi, responsabili anche dell'attività battericida del composto. HClO è un potente ossidante rilasciato da fagociti e neutrofili attivati nei siti di infiammazione<sup>20,21</sup>.

#### *Lipoperossidi*

I lipoperossidi sono composti instabili derivanti dalla reazione dei lipidi insaturi con  $O_2$ . La loro decomposizione può dare origine ad una serie di reazioni responsabili della propagazione del danno a carico anche di strutture non lipidiche<sup>22,23</sup>.

#### *Ossido nitrico*

L'ossido nitrico (NO) rappresenta il progenitore delle specie reattive contenenti azoto ed è generato dall'ossido nitrico sintasi (NOS) a partire da L-arginina in presenza di ossigeno<sup>24</sup>. In assenza di questo viene attivata una via alternativa<sup>25</sup> che permette la produzione non enzimatica ( $Fe^{2+}$ -dipendente) di NO a partire da radicale nitrico ( $NO_2$ ). Sono descritte 3 differenti isoforme di NOS: una endoteliale (eNOS) e una neuronale (nNOS), espresse costitutivamente, e una inducibile (iNOS) prodotta in corso di processi infiammatori ed in grado di generare per tempi prolungati elevate quantità di NO<sup>17</sup>.

NO può reagire con  $O_2$  per generare lo ione nitroso ( $NO^+$ ), l'acido nitrico anidro ( $N_2O_3$ ) e  $\cdot NO_2$ , responsabili a loro volta della nitrosilazione di residui proteici cisteinici. Inoltre la reazione tra NO e  $O_2^{\cdot-}$  induce la produzione di perossinitrite ( $ONOO^-$ ) che può ossidare le proteine o generare molecole ( $\cdot OH$  e  $\cdot NO_2$ ), in grado a loro volta di danneggiare componenti cellulari (tabella I).

### **Generazione intracellulare di ROS**

I siti principali di produzione di ROS sono rappresentati dalla membrana plasmatica, dai

Tabella I - Specie reattive dell'ossigeno (ROS) e loro sito di produzione.

Specie	$\cdot\text{OH}$	$^1\text{O}_2$	$\text{O}_2^{\cdot-}$	$\text{H}_2\text{O}_2$	NO
Origine	Reazione Fenton-like	perossidasi	NADH deidrogenasi	SOD	NOS
	ETC mitocondriale	SOD	ubiquinone/cytc	NOS	$\text{NO}_2^-$ (Fe $^{++}$ -mediato)
	decomposizione perossinitrite	UV	xantina-ossidasi	xantina-ossidasi	
			aldeide-ossidasi	riciclo 6BH $_4$	
			NADPH-ossidasi	NADPH-ossidasi	
				ossidazione pteridine	
				MAO-A	
				CoQ ossidazione	
				TNF- $\alpha$	

mitocondri e dai perossisomi. Le attività cellulari fisiologicamente responsabili della loro produzione sono il metabolismo energetico mitocondriale [produzione di adenosin-trifosfato (ATP) tramite la catena di trasporto degli elettroni], il metabolismo dell'acido arachidonico, promosso da tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  o PDGF (platelet derived growth factor) tramite l'attivazione della fosfolipasi A $_2$  (PLA $_2$ ), il rilascio di citochine in grado di agire sulle sfingomielinasi e quindi sul rilascio di ceramide. ROS vengono prodotte anche ad opera degli enzimi nicotinamide di ammine phosphate denucleotide (NADPH)-ossidasi sulla membrana, citocromo P450 (CitP450), nel reticolo endoplasmatico, xantina-ossidasi, ciclossigenasi e liposigenasi<sup>17,26-29</sup>.

L'enzima NADPH-ossidasi è associato alla membrana plasmatica ed è costituito da 4 subunità: 2 transmembrana (gp91phox e p22phox) e 2 citosoliche (p47phox e p67phox). L'assemblaggio delle differenti subunità è possibile grazie ad una riorganizzazione del citoscheletro e può essere quindi inficiato dalle modificazioni (ossidazione proteica e lipidica) della struttura della membrana. Il complesso enzimatico NADPH-ossidasi è presente ed è attivo sia in cellule fagocitiche che in cellule non fagocitiche come i linfociti B. L'enzima, producendo anione superossido, rappresenta un componente importante nella risposta immune innata nei confronti di microrganismi patogeni<sup>11,26-28,30,31</sup>.

### Sistema di protezione nei confronti dello stress ossidativo

Nella fine regolazione della risposta immune specifica o aspecifica un ruolo cruciale spetta alla differente distribuzione quali-quantitativa di ROS. Le cellule sono dotate di un complesso sistema antiossidante in modo da ridurre al minimo i possibili effetti dannosi esercitati da ROS<sup>32</sup>. L'elevata percentuale di PUFA nelle membrane delle cellule immunocompetenti rende necessario un livello intracellulare di antiossidanti (acido ascorbico, vitamina E, glutathione ridotto), sufficienti per un corretto bilanciamento redox. La cellula risponde ad un incrementato livello di ROS non solo aumentando l'attività di alcuni enzimi antiossidanti ma modulandone anche l'espressione genica (glutathione perossidasi, quinone-reduttasi, catalasi, SOD2, eme-ossigenasi, ciclossigenasi)<sup>19</sup>. Anche il livello di trascrizione dei geni codificanti per alcune chemochine [interleuchina (IL)-8] è sensibile a modificazioni dello stato redox cellulare<sup>11,33,34</sup>.

### Antiossidanti a basso peso molecolare

Gli antiossidanti a basso peso molecolare (PM) rappresentano un gruppo eterogeneo di composti caratterizzati dalla capacità di donare elettroni, neutralizzando in tal modo specie

altamente reattive. Molte evidenze sperimentali supportano un'azione concertata dei differenti antiossidanti a basso PM, abitualmente distinti in lipofili e idrofili. La vitamina E, l'acido lipoico, i carotenoidi e l'ubichinone appartengono al primo gruppo, mentre la vitamina C e il glutathione (GSH) appartengono al secondo.

#### *Vitamina E (α-tocoferolo)*

E' assunta con la dieta e, grazie alla sua lipofilità, viene accumulata nelle membrane cellulari, dove neutralizza i radicali perossidici e arresta la propagazione del processo di lipoperossidazione<sup>35</sup>.

#### *Acido lipoico*

Contiene un legame disolfuro ed è in grado di formare legami covalenti con i gruppi ε-amino dei residui lisinici delle proteine citoplasmatiche; è coinvolto nel controllo delle diverse fasi del processo di lipoperossidazione, ed è in grado di compensare eventuali deficit di vitamina E o C<sup>36-38</sup>.

#### *Acido ascorbico*

Ha una localizzazione intracellulare e intercellulare. All'interno delle cellule è presente in forma ridotta mentre nello spazio intercellulare è rappresentato dall'acido deidroascorbico, forma altamente instabile, che deve essere ridotto a livello della membrana prima di entrare nella cellula. E' un composto in grado di contrastare l'effetto antiproliferativo esercitato da HClO nei confronti dei linfociti<sup>39-45</sup>.

#### *Glutathione*

E' un tripeptide (γ-L-glutamyl-L-cisteinyl-L-glicina), la cui concentrazione intracellulare varia da 1 a 10 mM ed è regolata dall'equilibrio tra i processi di ossidazione e riduzione e dall'attività di neo-sintesi. La sintesi del GSH è un processo che avviene in 2 fasi: la prima è rappresentata dalla formazione di γ-glutamyl-cisteina (a partire da glutamato e cisteina, per azione della γ-glutamylcisteina-sintetasi (GCS); la seconda fase è data dall'aggiunta di glicina (per azione della glutathione-sintetasi).

Il GSH agisce sia direttamente come scavenger di ROS, sia da substrato per la glutathione-perossidasi (GPx) che produce la forma ossidata (GSSG) nuovamente ridotta a GSH dalla glutathione-reduttasi (GR). Nelle cellule immuno-

competenti il corretto funzionamento degli enzimi responsabili della sintesi e del riciclo del GSH è essenziale per un'efficace difesa nei confronti dello stress ossidativo anche nelle cellule immunocompetenti<sup>46,47</sup>.

#### *Catalasi*

La catalasi è l'enzima maggiormente responsabile della rimozione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Si tratta di una proteina tetrameric<sup>48</sup> il cui sito attivo contiene un gruppo eme. L'enzima stesso è sensibile agli agenti pro-ossidanti<sup>49,50</sup>.

#### *Glutathione perossidasi*

GPx<sup>13,51,52</sup> può ridurre vari perossidi, tra cui H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e idroperossidi organici. GPx è in realtà rappresentata da 2 differenti isoforme enzimatiche: una citosolica (cGPx1-3) ed un'altra con localizzazione nucleare, citosolica e mitocondriale (PHGPx, phospholipid hydroperoxide GPx). PHGPx è principalmente responsabile della protezione delle membrane mitocondriali dal danno ossidativo<sup>49</sup>; previene la reazione tra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe<sup>++</sup> ed impedisce la generazione di •OH e lipidi idroperossidi, responsabili dell'attivazione della "cascata della cardiolipina" e del rilascio mitocondriale di citocromo c (cite). Inoltre, inibisce l'attività di alcune lipossigenasi, riducendo il livello di prostaglandine e leucotrieni, noti mediatori dell'infiammazione<sup>52</sup>.

#### *Superossido-dismutasi*

Gli enzimi SOD catalizzano la dismutazione di O<sub>2</sub><sup>•-</sup> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. All'interno delle cellule sono presenti 2 isoforme: una con prevalente distribuzione citosolica (Cu/ZnSOD, SOD1, PM 32.000) e l'altra localizzata principalmente nella matrice mitocondriale (MnSOD, SOD2, PM 88.000). Nello spazio extra-cellulare è presente un'ulteriore isoforma, indicato come EC-SOD (SOD3, PM 135.000), contenente Cu e Zn. MnSOD, in maniera più marcata rispetto alle altre isoforme, è indotto da differenti mediatori dell'infiammazione, inclusi ROS, endotossine e citochine pro-infiammatorie<sup>53-56</sup> (tabella II).

### **ROS come messaggeri intracellulari**

La capacità di ROS di comportarsi da mediatori intracellulari del segnale dipende dalla possibilità di rispondere alle modificazioni dell'ambiente esterno, di intervenire su vie metaboliche non necessariamente contigue

Tabella II - Pattern antiossidante cellulare.

Antiossidante	Proprietà	Attività	Localizzazione
SOD	MnSOD (tetrameric, 80 kDa) CuZnSOD (dimetrica, 32 kDa costitutiva)	$2H^+ + O_2^{\bullet -} \rightarrow H_2O_2 + O_2$	Mitocondri Citosol e mitocondri
Catalasi	Contiene gruppo eme (costitutiva)	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Perossisomi
Acido lipoico	Acido lipoico+ lipoamide deidrogenasi	Rigenerazione di GSH, Vit E, ascorbante e CoQ	Membrana cellulare e mitocondri
GSH	$\gamma$ -L-glutamyl-L-cisteinil-L-glicina (costitutivo)	Scavenger di radicali liberi, substrato per GPx	Mitocondri e citosol
Vit E	Liposolubile, UV-sensibile (inducibile)	Riduzione lipoperossidi	Membrane
GPx	Se-indipendente	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ riduzione lipoperossidi	Mitocondri e citosol
GSH-reduttasi		Rigenerazione GSH	Mitocondri e citosol
GSH-s-transferasi		Riduzione lipoperossidi e dimeri pirimidina	Mitocondri e citosol
TrxR	NADPH-dipendente omodimero	$2H^+ + 2O_2^{\bullet -} \rightarrow H_2O_2 + O_2$ riduzione ascorbato	Mitocondri e citosol
Ascorbato	Idrosolubile (inducibile)	Riduzione vitamina E	Citosol
CoQ	Componente della catena di trasporto degli elettroni (costitutivo)	Riduzione lipoperossidi e rigenerazione vitamina E	Membrana mitocondriale interna

al sito di produzione, di agire sia come modulatori che come induttori di una risposta del tipo “tutto o nulla”, e di essere, infine, specifici per i differenti target<sup>27,57-59</sup>. La funzione di secondi messaggeri di ROS è ancora dibattuta poiché si tratta di molecole specifiche facilmente diffusibili e dotate di una breve emivita, mentre abitualmente i secondi messaggeri non hanno specificità per il target. Inoltre, risulta difficile accettare che molecole potenzialmente dannose possano essere coinvolte nella regolazione fisiologica di vie metaboliche. Sicuramente, un criterio per discriminare tra effetto citotossico e attività di mediatore del segnale si basa sulla durata, sull'entità e sulla modalità di produzione di ROS [NO, ad esempio, se prodotto dalle NOS a bassa attività (eNOS e nNOS) attiva i segnali mediati dal calcio mentre, se rilasciato per attività della iNOS, agisce in maniera  $Ca^{++}$ -indipendente ed induce la morte cellulare].

La gamma di componenti cellulari potenzialmente sotto il controllo di ROS è molto

ampia e include canali ionici, recettori associati alle G-proteine, piccole GTPasi, fosfatasi, chinasi, componenti del citoscheletro, regolatori del ciclo cellulare, fattori di trascrizione [nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B)], istone-deacetilasi, DNA-metilasi<sup>1</sup>. Per quanto riguarda le attività cellulari più strettamente connesse al sistema immune, ROS possono favorire il rilascio di citochine, il contatto intercellulare e l'adesione alla matrice extracellulare. Nell'insieme ciò indica un diretto coinvolgimento di ROS nelle risposte immuni, sia innate sia acquisite<sup>60</sup>.

Molte delle attività delle cellule immunocompetenti si esplicano mediante un meccanismo ligando/recettore. La corretta esposizione e il clustering dei recettori rappresentano gli eventi iniziali della trasduzione intracellulare del segnale. La composizione in PUFA delle membrane influisce sulla fluidità della membrana stessa e quindi sulla possibilità di effettuare un corretto clustering dei recettori. Allo stesso tempo, gli acidi grassi rappresentano i

substrati per la sintesi di prostaglandine e leucotrieni, rilasciati dalle cellule durante la risposta infiammatoria. La rilevanza della struttura e della composizione lipidica della membrana è sottolineata dalla presenza di regioni (raft) ricche in sfingolipidi e colesterolo, necessari per un corretto clustering del recettore per il TNF- $\alpha$ . Tali raft rappresentano la fase "liquida" del bilayer lipidico di membrana, dove avviene il legame del recettore che attiva il reclutamento delle chinasi, responsabili a loro volta di modificazioni nucleari e mitocondriali<sup>61</sup>.

Durante la trasformazione blastica dei linfociti T vi è un incremento della fluidità della membrana, determinato dalla modificazione del pattern degli acidi grassi della membrana stessa. In questa fase, il controllo esercitato da ROS sui segnali Ca<sup>++</sup>-mediati si realizza secondo un meccanismo dose-dipendente: bassi livelli di ROS hanno un effetto mitogeno sui linfociti, mentre alti livelli di ROS indirizzano le cellule verso un processo apoptotico. Ciò sembra dipendere anche dalla durata del flusso di calcio, poiché H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a basse concentrazioni (nanomolari) determina un breve e transiente flusso di Ca<sup>++</sup> dai depositi intracellulari, seguito dall'attivazione delle extracellular receptor kinase (ERK1/2), mentre livelli più elevati (micromolari) di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sono responsabili di un flusso prolungato di Ca<sup>++</sup>, proveniente dai compartimenti extracellulari a cui si associa un arresto del ciclo cellulare<sup>28,29,62</sup>.

Il processo di ossidazione/riduzione della cisteina è cruciale nella regolazione dell'omeostasi redox intracellulare e sembra coinvolto nel controllo delle attività delle cellule presentanti l'antigene (APC, antigen presenting cells). La possibilità da parte delle APC di presentare da "professioniste" un antigene dipende dalla capacità di trasportare al proprio interno una proteina, di modificarla e di "presentare" sulla membrana cellulare i suoi prodotti in associazione con molecole di major histocompatibility complex II (MHC II). Lo stato di ossidazione di residui cisteinici degli enzimi coinvolti in tutta questa serie di processi influenza l'intera processazione dell'antigene<sup>59</sup>.

Il sistema monocitico/macrofagico rappresenta la principale fonte di NO, sottolineando in tal modo come NO svolga un ruolo cruciale nei meccanismi di difesa antimicrobiale<sup>63</sup>. Nelle cellule fagocitiche gli enzimi NOS e

NAD(P)H-ossidasi sono contemporaneamente iper-espressi in seguito a stimolazione con citochine, peptidi ad attività ormonale e tossine batteriche<sup>26</sup>. E' probabile quindi che NO agisca da molecola effettrice nell'ambito del network citotossico e come modulatore della produzione citochinica favorendo uno shift verso una risposta Th2<sup>64</sup>. L'attività stessa dei fattori di trascrizione NF- $\kappa$ B e AP-1 è regolata da NO, attraverso il rilascio di fosfoinositolo (PI<sub>3</sub>). Piccole quantità di NO attivano NF- $\kappa$ B, favorendone il legame con il DNA, mentre livelli elevati di NO determinano la nitrosilazione della cisteina nella subunità p50 di NF- $\kappa$ B, impedendone il legame con il DNA.

Inoltre, NO è in grado di attivare il recettore nucleare peroxisome proliferating associated receptor (PPAR)- $\gamma$  nei macrofagi con un effetto inibitorio sul burst ossidativo. Nelle cellule monocitiche/macrofagiche NO è in grado sia di favorire il legame tra PPAR- $\gamma$  e DNA sia di transattivare nell'arco di 1-2 ore i geni responsivi a PPAR<sup>65</sup>. Tale processo è responsabile di un controllo negativo che permette il contenimento del rilascio di specie radicaliche.

L'azione di NO sui fattori di trascrizione si realizza in maniera bimodale: quando la concentrazione di NO e ROS è elevata si ha l'attivazione di alcune chinasi [apoptosis signal kinase (ASK)1 e janus kinase (JNK)] e la promozione del fenomeno apoptotico. Al contrario, quando la concentrazione di anione superossido è bassa si ha un'attivazione di Bcl-2 con soppressione del fenomeno apoptotico. Il coinvolgimento di NO nel processo apoptotico dei linfociti T è confermato dall'osservazione che fattori pro-apoptotici, quali TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , ne favoriscono il rilascio<sup>26,28</sup>.

Il potenziale redox intracellulare condiziona l'attività di differenti fattori di trascrizione (Hif-1 $\alpha$ , Ref-1, AP-1, Nrf, STAT, NF- $\kappa$ B, Sp-1, c-Myb, p53) controllando l'espressione di una serie di geni coinvolti nei processi di sopravvivenza, attivazione e morte cellulare<sup>65-67</sup>.

Le molecole appartenenti al gruppo STAT (signal transducers activators transcription) mediano segnali indotti da citochine e ormoni. STAT può essere attivato da ROS intra- e extracellulari. NF- $\kappa$ B controlla l'espressione di diversi geni coinvolti nella modulazione della risposta immune naturale e adattativa, nella protezione cellulare nei confronti dello stress ossidativo e nel processo apoptotico<sup>66</sup>. Nei fago-

citi e nei linfociti il lipopolisaccaride (LPS), come altre endotossine, determina un incremento della generazione di ROS, del rilascio di TNF- $\alpha$  e del processo di lipoperossidazione, altera il rapporto tra forma ridotta e ossidata di GSH, riduce l'attività di alcuni enzimi ad attività antiossidante. L'esito finale è comunque un'attivazione di NF- $\kappa$ B<sup>68</sup>. Una deplezione di GSH determina la stabilizzazione di I $\kappa$ B $\alpha$  con una conseguente inibizione della traslocazione nucleare di NF- $\kappa$ B<sup>69-71</sup>. L'attivazione di NF- $\kappa$ B ad opera di ROS è dovuta ad un meccanismo differente da quello responsabile dell'attivazione ad opera delle citochine. La presenza di residui cisteinici nei siti di legame per il DNA di c-Jun, c-Fos e p50 rende queste proteine particolarmente sensibili al processo di ossidazione, responsabile quindi dell'inattivazione di activator protein (AP)-1 e NF- $\kappa$ B<sup>26,72</sup>.

## ROS come mediatori della risposta immune

### *Linfociti*

L'entità della produzione di ROS influisce su molteplici attività cellulari sia direttamente, a livello di enzimi coinvolti nella traduzione del segnale, sia indirettamente, modificando l'integrità delle membrane. Infatti, il corretto assetto lipidico della membrana plasmatica permette il giusto alloggiamento al suo interno delle differenti componenti dell'apparato di traduzione del segnale. Di conseguenza, fenomeni di lipoperossidazione che determinano una perdita della fluidità del bilayer lipidico, possono inficiare la corretta disposizione dei recettori e il processo di richiamo e assemblaggio delle componenti del complesso recettoriale.

Per quanto riguarda gli effetti diretti dello stato redox cellulare su alcuni specifici momenti della risposta immune, ROS sono in grado di modulare l'attivazione antigene-mediata agendo sull'equilibrio tra l'attività delle chinasi e delle fosfatasi associate al recettore. L'attivazione del BCR (B cell receptor), del TCR (T cell receptor), così come il recruitment delle molecole costimolatorie CD2/LFA3<sup>73</sup>, sono tutti fenomeni associati alla produzione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, responsabile quindi dell'amplificazione della traduzione del segnale. Inoltre, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> è in grado di mimare il ligando specifico attivando il TCR mediante un processo di ossidazione proteica.

BCR è direttamente responsabile della sopravvivenza dei linfociti B essendo in grado di modulare l'espressione genica di Bcl-2 e Bcl-X<sub>l</sub>. Il legame del BCR da parte dello specifico ligando<sup>17,74</sup> causa rapidamente la traslocazione del recettore in prossimità di un generatore di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, come la NADPH-ossidasi, confermando in tal modo la stretta associazione funzionale e fisica tra i due complessi<sup>73-79</sup>.

Gli antiossidanti acido ascorbico e N-acetilcisteina possono contrastare l'adesione linfocitaria e il rilascio di TNF- $\alpha$ , confermando in tal modo un diretto coinvolgimento di ROS in entrambi i fenomeni<sup>80,81</sup>. Le molecole ad attività antiossidante, e in particolare il GSH, sono in grado di condizionare in maniera più o meno rilevante numerose specifiche attività dei linfociti, dato che nella cascata di attivazione linfocitaria i siti redox-sensibili sono estremamente precoci (p56<sup>lck</sup>, p59<sup>fyn</sup>)<sup>82</sup>.

Nei linfociti T resting naive, l'attività della  $\gamma$ -GT è estremamente bassa mentre nei resting memory subisce un significativo incremento. Anche l'attività della GSH sintasi cambia in base allo stato funzionale linfocitario, condizionando quindi in maniera differente la risposta in seguito a stimoli pro-apoptotici, quali quelli mediati da Fas. Le cellule T memory rispondono allo stress ossidativo, indotto dal legame della molecola di membrana CD28 o da elevati livelli extra-cellulari di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, attraverso la modulazione di NF- $\kappa$ B. La concomitante produzione di IL-2 dipende dall'attivazione della 5-lipoxygenase (LOX) ed è associata ad un decremento del livello intracellulare di GSH<sup>79</sup>.

Una stretta associazione tra stato funzionale dei linfociti T, livello di GSH e risposta a NO è stata più volte sottolineata da diversi autori. I linfociti T, incapaci di produrre quantità significative di GSH, sono anche caratterizzati da un fenotipo "non-attivato" e da una esagerata risposta apoptotica a NO<sup>83-85</sup>. NO è in grado di interferire anche con la produzione di IFN- $\gamma$ . La stretta relazione tra bilancio redox e processo di morte cellulare nei linfociti è ulteriormente supportata dall'osservazione di un incremento della sopravvivenza cellulare e della riduzione della generazione mitocondriale delle ROS in seguito all'assunzione, per via sistemica, di antiossidanti<sup>86,87</sup>.

### *Monociti*

Uno stimolo fisico o chimico è in grado di in-

durre i monociti a produrre e rilasciare ROS nello spazio extracellulare in quantità sicuramente superiori a quelle rilasciate dai linfociti. La produzione di ROS sembra correlabile al processo di differenziazione macrofagica, in cui è rilevante l'attivazione della cyclooxygenase (COX)-2<sup>88</sup>. La produzione di ROS interferisce anche con le vie metaboliche ceramide-dipendenti, coinvolte nel processo di morte cellulare. Alcuni analoghi sintetici delle ceramidi (C2/C6) conducono ad incremento della produzione di ROS e alla deplezione di GSH, cui segue l'arresto della crescita<sup>89,90</sup>.

#### *Eosinofili*

Gli eosinofili sono coinvolti nelle risposte allergiche e infiammatorie e la loro attività sembra modulata da specifiche chemochine, principalmente quelle della famiglia della eotassina. Queste chemochine potenziano la loro funzione effettrice, promuovendo la produzione di  $O_2^{\cdot-}$  e la degranolazione. La produzione di ROS si accompagna al danno tissutale. Le perossidasi degli eosinofili catalizzano l'ossidazione di differenti bersagli per mezzo di  $H_2O_2$ <sup>91</sup>.

#### *Neutrofili*

I neutrofili rappresentano la prima linea di difesa nei confronti dei microrganismi patogeni, che vengono fagocitati e distrutti prevalentemente mediante un sistema ossigeno-dipendente. L'attivazione dei neutrofili provoca quello che comunemente viene indicato come "oxygen burst", caratterizzato da una rapida assunzione di ossigeno e dalla sua riduzione univalente. In tale processo i momenti essenziali sono rappresentati dall'interazione ligando-recettore, dall'attivazione della protein kinase C (PKC), dalla traslocazione in membrana di NADPH-ossidasi e per ultimo dall'oxygen burst. In seguito alla stimolazione le diverse componenti della NADPH-ossidasi vengono assemblate e traslocate in membrana<sup>7,19,26,34,35,92</sup>. La proteina p29 partecipa alla formazione del complesso enzimatico, è dotata di attività  $PLA_2$   $Ca^{2+}$ -indipendente, protegge la GSH sintetasi e inattiva  $H_2O_2$ .

L'attività pro-infiammatoria dei neutrofili viene abitualmente bilanciata da sistemi di feedback negativo, in cui è implicato l'acido arachidonico. L'arachidonato rappresenta il substrato per la 5-LOX il cui prodotto è il leu-

cotriene  $B_4$  ( $LTB_4$ ). Allo stesso tempo, l'arachidonato attiva anche la 15-LOX che genera, anche a partire dall'intermedio leucotriene  $A_4$  ( $LTA_4$ ), lipoxina dotata di attività antinfiammatoria. Attraverso questo meccanismo la cellula provvede ad autoregolare il passaggio da un fenotipo pro-infiammatorio ad uno antinfiammatorio. Inoltre, COX-2, indotta dai prodotti batterici, utilizza l'arachidonato come substrato per produrre prostaglandine E2 (PGE2), in grado a loro volta di esercitare un controllo negativo sulla 5-LOX ma non sulla 15-LOX<sup>93</sup>.

L'interruzione della risposta infiammatoria da parte della lipoxina si può realizzare attraverso differenti vie: a) riduzione del richiamo e dell'attivazione dei neutrofili o b) contenimento della formazione di  $O_2^{\cdot-}$ , responsabile anche della produzione di ONOO $^{\cdot}$ , che è in grado di attivare ERK e di comportarsi da secondo messaggero intracellulare per l'espressione dell'mRNA della IL-8, mediante il circuito NF- $\kappa$ B e AP-1. E' interessante notare che lipoxina può inibire l'accumulo nucleare di entrambi i fattori di trascrizione e l'attivazione di ERK. Infatti, lipoxina potrebbe proteggere I $\kappa$ B $\alpha$  dal processo di nitrificazione. Infine, è probabile che lipoxina sia in grado di interferire con l'assemblaggio della NADPH-ossidasi e con la sua interazione con il citoscheletro<sup>94</sup>.

#### *Macrofagi*

I macrofagi sono coinvolti nella risposta immune innata poiché sono in grado di riconoscere i microrganismi patogeni per la presenza di nucleotidi non metilati. I macrofagi, attivati dai linfociti o dai prodotti di degradazione dei patogeni, rilasciano proteasi, citochine (principalmente TNF- $\alpha$ ), ROS e reattive nitrogen species (RNS). LPS induce la produzione NADPH-mediata di ROS, responsabile dell'attivazione della MAP-chinasi e quindi della produzione e rilascio di IL-1. Infatti, LPS può intervenire a livello trascrizionale (sulla p38-chinasi e sul fattore ATF-2), traslazionale e post-traslazionale. Tuttavia, alcuni meccanismi, tra cui quello governato dall'apparato antiossidante, operano un fine controllo del grado di attivazione macrofagica allo scopo di prevenire una eccessiva reazione flogistica.

Il sistema di protezione redox può essere up-regolato da ROS, mediante un'induzione della MnSOD, della CuZnSOD e della catalasi. Allo stesso tempo, un rapido incremento del

livello di GSH assicura un potenziamento della capacità antiossidante. E' stato osservato che l'assunzione dell'antiossidante N-acetilcisteina può ridurre la produzione di ROS e il rilascio di citochine, contrastando in tal modo i processi di chemiotassi, adesione, produzione di ROS e rilascio di citochine. Ciò si realizza soprattutto mediante una modulazione di NF- $\kappa$ B, confermando quindi come un corretto bilancio redox sia in grado di modulare molte attività dei monociti<sup>95-99</sup>.

#### *Tumor necrosis factor e altre citochine*

Lingaggio del recettore specifico (TNFR) rappresenta il primo evento responsabile dell'ampio spettro di attività del TNF- $\alpha$ . Ciò comporta un'elevazione dei livelli intracellulari di ROS, cui segue l'attivazione di effettori intracellulari, quali JNK e NF- $\kappa$ B. Tutti i membri della famiglia del TNFR contengono sino a sei residui di cisteina che li rendono estremamente sensibili a variazione del potenziale ossidoreduztivo del micro-ambiente cellulare.

ROS possono essere considerati anche mediatori di alcuni degli effetti biologici delle citochine e induttori del loro stesso rilascio. In effetti, alcune attività di TNF- $\alpha$  e di IL-1, come l'aumento della permeabilità vasale, sono dovuti al rilascio di ROS da parte dei leucociti polimorfonucleati. Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-3 e la frazione C5a del complemento possono indurre il burst respiratorio. Inoltre, IL-8, GM-CSF e growth-related oncogene- $\alpha$  (GRO $\alpha$ ) portano i neutrofili a produrre O<sub>2</sub><sup>•-</sup>.

La generazione di ROS, mediata dal burst respiratorio, determina, oltre alla morte dell'agente infettivo, l'attivazione dei geni redox-sensibili, tra cui quelli per alcune citochine e chemochine. Le CC-chemochine richiamano le cellule mononucleate e, sebbene in misura minore, gli eosinofili, i basofili e i macrofagi, mentre le CXC-chemochine principalmente i neutrofili. La citochina IL-12, precipuamente coinvolta nell'immunità innata, determina il rilascio di PAF (platelet activating factor) amplificando in tal modo la funzione dei ROS<sup>100-102</sup>.

### **ROS nella disregolazione della risposta immune**

#### *Modificazioni UV-indotte*

Le modificazioni della risposta immune indotte da alcuni agenti chimici (agenti pro-ossi-

danti, allergeni) o fisici (radiazioni UV) sono mediate da alterazioni dello stato redox cellulare. I raggi UV possono promuovere la perossidazione lipidica agendo soprattutto sullo squalene e il grado di perossidazione dello squalene correla con la gravità delle manifestazioni cliniche (eritema). Inoltre, i sottoprodotti dello squalene ossidato sono responsabili di una deregolazione generalizzata della risposta immune che si manifesta con un'alterata espressione delle molecole di adesione (ICAM-1) e del rilascio di alcune citochine (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ).

Alcuni degli effetti degli UV dipendono dalla modificazione della composizione e della fluidità delle membrane, dalla generazione di <sup>1</sup>O<sub>2</sub> e dalla isomerizzazione *trans/cis* dell'acido urocanico. Nel corso dei processi di foto-sensibilizzazione il composto fotosensibilizzante reagisce con l'O<sub>2</sub> e genera ROS, in grado di modificare le componenti proteiche e lipidiche cellulari. Tali modificazioni possono essere la causa della creazione di neo-antigeni con la conseguente perdita di tolleranza verso il self. La produzione di ROS e l'incrementata espressione di ICAM-1 sono, ad esempio, alla base delle esacerbazioni del lupus eritematoso sistemico provocate dall'esposizione al sole. L'irradiazione con UVA determina un'immunosoppressione locale, caratterizzata da una riduzione del numero delle cellule di Langerhans nell'epidermide<sup>103</sup>.

#### *Orticaria e dermatite da contatto irritante*

In corso di orticaria è stato osservato un'alterazione del pattern antiossidante cellulare anche a livello sistemico<sup>104</sup>. Lo stato redox cellulare condiziona la capacità di contrastare in maniera congrua le aggressioni esterne, rappresentate ad esempio da agenti chimici. Infatti, la soglia di sensibilità a irritanti chimici (sodio dodecil solfato) correla con l'attività degli enzimi antiossidanti nell'epidermide e nei linfociti del sangue periferico<sup>105,106</sup>.

#### *Dermatite allergica da contatto*

Lo stato redox extra- e intracellulare condiziona il grado di reattività agli apteni, spesso responsabili dell'insorgenza della dermatite allergica da contatto. La presenza di ROS e di altre specie ossidanti può contribuire infatti alle modificazioni dello stato redox, che rendono alcuni composti chimici (pentaetilenglicole, limonene) o metalli [il nichel da Ni(II) a

Ni(III) e Ni(IV)] più reattivi. Lo stato di ossidazione del metallo condiziona la geometria della molecola e la sua capacità di interagire con peptidi già presenti all'interno della cellula generando quindi un antigene completo. Nelle cellule epidermiche (cheratinociti, linfociti, cellule di Langerhans) i metalli sono in grado di promuovere sia direttamente che indirettamente, attraverso una modulazione dei canali del calcio, l'attivazione delle lipossigenasi di membrana, con conseguente generazione di perossidi responsabili del richiamo di polimorfonucleati e del rilascio di citochine pro-infiammatorie (IL-1 $\alpha$ ). Già quindi nelle fasi pre-immunologiche dell'induzione della dermatite allergica da contatto la generazione di specie radicaliche è coinvolta nel richiamo di cellule immunocompetenti, nell'induzione di fattori di trascrizione, nella promozione dell'espressione di molecole co-stimolatorie e di recettori per fattori di crescita autocrini (figura 1).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, rilasciato dai neutrofilii infiltranti, porta ad esempio ad un incremento dell'espressione di ICAM-1 sulla membrana dei cheratinociti. Dinitro-alo-benzene, come altri agenti in grado di provocare una sensibilizzazione da contatto, determina una riduzione del contenuto in GSH favorendo la produzione di spe-

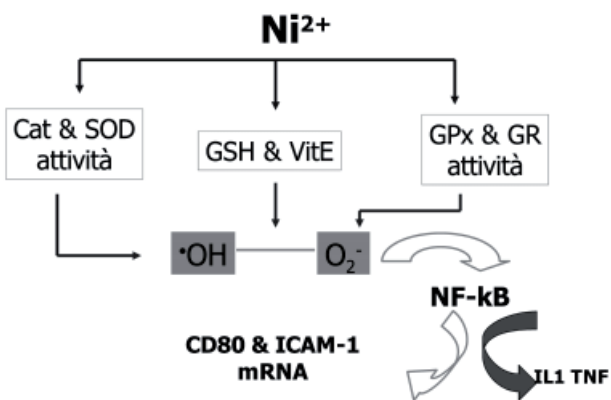


Figura 1 - Stato redox dei cheratinociti.

cie reattive e quindi mantenendo e amplificando il processo infiammatorio mediante la produzione di TNF- $\alpha$  e IL-8 e l'espressione di ICAM-1. E' interessante notare l'esistenza di una correlazione positiva tra diminuzione del GSH e gravità delle manifestazioni allergiche<sup>105,107,108</sup>. Alcuni allergeni chimici, come il nichel, analogamente a quanto si osserva per gli UV, sono in grado di promuovere la fosfo-

rilazione del recettore per i fattori di crescita cheratinocitari (KGF $\alpha$ ). Tale processo è molto probabilmente responsabile delle fasi pre-immunologiche della sensibilizzazione in corso di dermatite allergica da contatto<sup>109-111</sup>.

#### AIDS

Un quadro biochimico caratterizzato da deficit di PUFA, vitamina E, ubiquinone e GPx si associa a sieropositività per HIV, per il quale è stato ipotizzato un difetto dell'attività desaturasica piuttosto che un aumento del processo lipoperossidativo. Nei soggetti HIV<sup>+</sup> è spesso presente una sindrome ipereosinofila con prurito, dovuta ad un incremento di IL-4 e IL-5 prodotte dai linfociti CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> o CD4<sup>+</sup>CD8<sup>dim</sup>. Negli stessi soggetti un processo apoptotico, mediato da specie radicaliche, dei linfociti partecipa alla generazione dell'immunodeficienza per perdita dei TCD4<sup>+</sup>. Le proteine strutturali p24 e gp120 e la proteina regolatoria Tat del virus possono favorire la produzione di ROS da parte dei neutrofilii e il rilascio di NO da parte dei macrofagi. Tuttavia, lo stress ossidativo in corso di infezione da HIV non è da ricondurre esclusivamente ad un processo mediato da proteine virali<sup>112,113</sup> potendo dipendere anche da uno squilibrio tra specie ossidanti e molecole ad attività antiossidante.

#### Vitiligine

Un'iperproduzione di specie reattive è stata ipotizzata come possibile meccanismo patogenetico della vitiligine. Sebbene la patogenesi della vitiligine non sia stata ancora del tutto definita, si potrebbe ipotizzare che un'incrementata produzione di ROS da parte dei mitocondri, per un meccanismo primario o secondario ad un deficit di antiossidanti, determini il danno melanocitario. Di conseguenza, i melanociti esprimerebbero antigeni criptici in grado di innescare una risposta immune, mantenendo e amplificando, in tal modo, il danno cellulare<sup>114-117</sup>.

#### Senescenza del sistema immune

I radicali liberi partecipano alla generazione delle modificazioni cellulari e tissutali associate all'invecchiamento. Lo stress ossidativo nell'invecchiamento potrebbe essere la conseguenza di uno sbilanciamento tra radicali liberi e difesa antiossidante con un conseguente declino

delle normali attività cellulari anche a carico del sistema immune. L'idea della senescenza del sistema immune è stata suggerita dall'osservazione di una maggiore incidenza di neoplasie e patologie infettive nei soggetti anziani.

Le principali alterazioni del sistema immune riguardano l'immunità cellulare. Difatti, i linfociti mostrano difetti nell'adesione, nella proliferazione, nella produzione di citochine mentre nei fagociti si riscontra un'alterata adesione, migrazione e fagocitosi. Nei granulociti l'incrementata produzione di ROS dipende molto probabilmente da una disregolazione della PKC<sup>37,38,118</sup>.

### Antiossidanti come integratori dietetici

Le strategie terapeutiche utilizzate per ottimizzare il bilancio redox cellulare potrebbero rappresentare un valido aiuto nel trattamento di alcune patologie associate ad uno stress ossidativo. In modelli animali la fisiologica senescenza del sistema immune e le manifestazioni cutanee di una eccessiva esposizione ai radicali liberi possono essere contrastate dall'assunzione di composti ad attività catalasica o dalla restrizione dell'apporto calorico. Nell'uomo è stata proposta l'applicazione di molecole ad attività antiossidante per il trattamento di alcuni disordini della pigmentazione. Allo stesso modo, l'assunzione di un pool bilanciato di antiossidanti può ridurre gli effetti indesiderati derivanti dalla fototerapia con UV ed alcuni difetti del sistema immune riscontrati in alcune patologie di ambito dermatologico<sup>115,119</sup>.

### Sigle

APC, antigen presenting cell  
 AP-1, activator protein-1  
 ASK, apoptosis signal kinase  
 ATP, adenosin-trifosfato  
 BCR, B cell receptor  
 Cat, catalase  
 Citec, cytochrome c  
 CitP450, cytochrome P450  
 COX, cyclooxygenase  
 ERK, extracellular receptor kinase  
 GCS, glutamylcysteine synthetase  
 GPx, glutathione peroxidase  
 GR, glutathione reductase

GRO $\alpha$ , growth-related oncogene- $\alpha$   
 GSSG, glutathione disulfide  
 GSH, glutathione  
 HClO, hypochlorous acid  
 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hydrogen peroxide  
 HSP, heat shock protein  
 ICAM-1, intercellular adhesion molecule 1  
 IFN- $\gamma$ , interferon- $\gamma$   
 IL, interleukin  
 JNK, janus kinase  
 KGFR, keratinocyte growth factor receptor  
 LH, lipide  
 LOO $\cdot$ , hydroperoxide radical  
 LOOH, hydroperoxide  
 LOX, lipoxygenase  
 LPS, lipopolisaccharides  
 LTB<sub>4</sub>, leukotriene B<sub>4</sub>  
 MAO-A, monoamine oxidase-A  
 MAP, mitogen activated protein  
 M-CSF, monocyte colony stimulating factor  
 MHC II, major histocompatibility complex II  
 NADH, nicotinamide diamine dinucleotide  
 NADPH, nicotinamide diamine phosphate dinucleotide  
 NF- $\kappa$ B, nuclear factor kappa B  
 NO, nitric oxide  
 $\cdot$ NO<sub>2</sub>, nitric radical  
 NOS, nitric oxide synthase  
 O<sub>2</sub>, molecular oxygen  
<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, single oxygen  
 O<sub>2</sub> $\cdot^-$ , anion radical superoxide  
 $\cdot$ OH, hydroxylic radical  
 ONOO $\cdot$ , peroxyntirite  
 PAF, platelet activating factor  
 PARP-1, polyADP ribose polymerase 1  
 PDGF, platelet derived growth factor  
 PGE<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>  
 PHGPx, phospholipide hydroperoxide GPx  
 PI<sub>3</sub>, phosphoinositol 3  
 PLA<sub>2</sub>, phospholipase A<sub>2</sub>  
 PKB, protein kinase B  
 PKC, protein kinase C  
 PPAR, peroxisome proliferating associated receptor  
 PTK, protein tyrosine kinase  
 PTP, protein tyrosine phosphatase  
 PUFA, polyunsaturated fatty acids  
 RNS, reactive nitrogen species  
 ROS, reactive oxygen species  
 SOD, dismutase superoxid  
 STAT, signal transducers activators transcription  
 TCR, T cell receptor  
 TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor alpha

**Bibliografia**

1. Nathan C. Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling. *J Clin Invest* 2003; 111: 769.
2. Muller A, Michel L, Basset-Seguin N, et al. Characterization of specific leukotriene C4 binding sites on cultured human keratinocytes. *Br J Dermatol* 1988; 119: 275.
3. Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305: 761.
4. Klotz LO, Kroncke KD, Sies H, et al. Singlet oxygen-induced signaling effects in mammalian cells. *Photochem Photobiol Sci* 2003; 2: 88.
5. Miyamoto S, Martinez GR, Martins AP, et al. Direct evidence of singlet molecular oxygen [ $O_2(^1\Delta_g)$ ] production in the reaction of linoleic acid hydroperoxide with peroxyxynitrite. *J Am Chem Soc* 2003; 125: 4510.
6. Ito T. Cellular and subcellular mechanisms of photodynamic action: the  $^1O_2$  hypothesis as a driving force in recent research. *Photochem Photobiol* 1978; 28: 493.
7. Krutmann J, Morita A. Mechanisms of ultraviolet (UV)B and UVA phototherapy. *J Invest Dermatol, Symp Proc* 1999; 4: 70.
8. Lledias F, Hansberg W. Catalase modification as a marker for singlet oxygen. *Methods Enzymol* 2000; 319: 110.
9. Cantrell A, McGarvey DJ, Truscott TG, et al. Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment. *Arch Biochem Biophys* 2003; 412: 47.
10. Tarr M, Valenzeno DP. Singlet oxygen: the relevance of extracellular production mechanisms to oxidative stress in vivo. *Photochem Photobiol Sci* 2003; 2: 355.
11. Wright A, Hawkins CL, Davies MJ, et al. Photo-oxidation of cells generates long-lived protein peroxides. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 637.
12. Asada K, Kanematsu S, Takahashi M. Superoxide dismutases in photosynthetic organisms. *Adv Exp Med Biol* 1976; 74: 551.
13. Borg DC, Schaich KM, Elmore JJ Jr, et al. Cytotoxic reactions of free radical species of oxygen. *Photochem Photobiol* 1978; 28: 887.
14. Ross D, Norbeck K, Moldeus P. The generation and subsequent fate of glutathionyl radicals in biological systems. *J Biol Chem* 1985; 260: 15028.
15. Rigo A, Stevanato R, Finazzi-Agro A. An attempt to evaluate the rate of Haber Weiss reaction by using OH radical scavengers. *FEBS Lett* 1977; 80: 130.
16. Winterbourn CC. Superoxide as an intracellular radical sink. *Free Rad Biol Med* 1993; 14: 85.
17. Reth M. Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 1129.
18. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radical in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press/Oxford University Press, 1989; 160.
19. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem* 1997; 272: 19633.
20. Smit MJ, Anderson R. Biochemical mechanisms of hydrogen peroxide- and hypochlorous acid-mediated inhibition of human mononuclear leukocyte functions in vitro: protection and reversal by anti-oxidants. *Agents Actions* 1992; 36: 58.
21. Lapenna D, Cucurullo F. Hypochlorous acid and its pharmacological antagonism: an update picture. *Gen Pharmacol* 1996; 27: 1145.
22. Dissemond J, Schneider LA, Brenneisen P. Protective and determining factors for the overall lipid peroxidation in ultraviolet A1-irradiated fibroblasts: in vitro and in vivo investigations. *Br J Dermatol* 2003; 149: 341.
23. Yang Y, Sharma A, Sharma R, et al. Cells preconditioned with mild, transient UVA irradiation acquire resistance to oxidative stress and UVA-induced apoptosis: role of 4-hydroxynonenal in UVA-mediated signaling for apoptosis. *J Biol Chem* (in press).
24. Zwier JL, Wang P, Samouilov A. Enzyme-independent formation of nitric oxide in biological tissues. *Nature Med* 1995; 1: 804.
25. Ignarro LJ. *Nitric oxide: biology and pathobiology*. San Diego: Academic Press, 2000.
26. Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. *Free Rad Biol Med* 2000; 28: 1387.
27. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell Physiol Biochem* 2001; 11: 173.
28. Samavati L, Monick MM, Sanlioglu S, et al. Mitochondrial K(ATP) channel openers activate the ERK kinase by an oxidant-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C273.
29. Turpaev KT. Reactive oxygen species and regulation of gene expression. *Biochem* 2002; 67: 339.
30. Kuribayashi F, Nunoi H, Wakamatsu K, et al. The adaptor protein p40<sup>phox</sup> as a positive regulator of the superoxide-producing phagocyte oxidase. *EMBO J* 2002; 21: 6312.
31. Vignais PV. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1428.
32. Salh B, Assi K, Huang S, et al. Dissociated ROS production and ceramide generation in sulfasalazine-induced cell death in Raw 264.7 cells. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 790.
33. Schindowski K, Leutner S, Kressmann S, et al. Age-related increase of oxidative stress-induced apoptosis in mice prevention by Ginkgo biloba extract (Egb761). *J Neural Transm* 2001; 108: 969.
34. De la Fuente M. Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: S5.
35. Frei BB, Ames BN. Relative importance of vitamin E in antiperoxidative defences in human blood and low density lipoproteins (LDL). In: Packer L, Fuchs J (eds). *Vitamin E in health and diseases*. New York: Marcel Dekker, 1998; 191.
36. Benedetti MS, Russo A, Marrari P, et al. Effects of aging on the content of sulfur-containing amino acids in rat brain. *J Neural Transm Gen Sect* 1991; 3: 191.
37. Podda M, Tritschler HJ, Ulrich H, et al. Alpha-lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency. *Biochim Biophys Res Commun* 1994; 204: 98.
38. Matsugo S, Yan LJ, Han D, et al. Elucidation of antioxidant activity of alpha-lipoic acid toward hydroxyl radical. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208: 161.
39. Frei B, Stocker R, England L, et al. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264: 155.
40. Smit MJ, Anderson R. Inhibition of mitogen-activated proliferation of human lymphocytes by hypochlorous acid in vitro: protection and reversal by ascorbate and cysteine. *Agent Action* 1990; 3: 338.
41. Matsugo S, Yan LJ, Han D, et al. Elucidation of antioxidant activity of dihydroliipoic acid toward hydroxyl radical using a novel hydroxyl generator NP-III. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 37: 375.
42. Tesoriere L, Bongiorno A, Pintaudi AM, et al. Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes. *Arch Biochem Biophys* 1996; 1: 57.
43. Palozza P. Prooxidant actions of carotenoids in biological systems. *Nutr Rev* 1999; 9: 257.
44. Witting PK, Mohr D, Stocker R. Assessment of prooxidant activity of vitamin E in low-density lipoprotein in plasma. In: Packer L (ed). *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, 1999; 362.
45. Goldenberg H, Landertshamer H, Laggner H. Functions of vitamin C as a transmembrane electron transport in blood cells and related cell culture models. *Antiox Redox Signal* 2000; 2: 189.
46. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res* 1994; 54: 1969s.
47. Pietarinen-Runtti P, Lakari E, Raivio KO, et al. Expression of antioxidant enzymes in human inflammatory cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: C118.

48. Schonbaum G, Chance B. Catalase. In: Boyer PD (ed). *The enzymes*. New York: Academic Press, 363; 1976.
49. Jones DP, Eklow L, Thor H, et al. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contribution of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Arch Biochem Biophys* 1981; 210: 505.
50. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, et al. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase inactivation by peroxide and oxygen derived free radicals. *Mech Ageing Dev* 1990; 51: 283.
51. Maiorino M, Thomas JP, Girotti AW, et al. Reactivity of phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase with membrane and lipoprotein lipid hydroperoxides. *Free Rad Res Commun* 1991; 12: 131.
52. Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Rad Biol Med* 2003; 34: 145.
53. Chang DJ, Ringold GM, Heller RA. Cell killing and induction of manganese superoxide dismutase by tumor necrosis factor- $\alpha$  is mediated by lipoxygenase metabolites of arachidonic acid. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 188: 538.
54. Kifle Y, Monnier J, Chesrown SE, et al. Regulation of the manganese superoxide dismutase and inducible nitric oxide synthase gene in rat neuronal and glial cells. *J Neurochem* 1996; 66: 2128.
55. Rogers RJ. Cytokine-inducible enhancer with promoter activity in both the rat and human manganese-superoxide dismutase genes. *Biochem J* 2000; 347: 233.
56. Zelko IN, Mariani T, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 337.
57. Finkel T. Redox-dependent signal transduction. *FEBS Lett* 2000; 476: 52.
58. Finkel T. Reactive oxygen species and signal transduction. *IUBMB Life* 2001; 52: 3.
59. Soberman RJ. The expanding network of redox signaling: new observations, complexities, and perspectives. *J Clin Invest* 2003; 111: 571.
60. Sen CH, Roy S. Antioxidant regulation of cell adhesion. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33: 377.
61. Hueber AO. Role of membrane microdomain in rafts in TNFR-mediated signal transduction. *Cell Death Diff* 2003; 10: 7.
62. Van Montfort RL, Congreve M, Tisi D, et al. Oxidation state of the active-site cysteine in protein tyrosine phosphatase 1B. *Nature* 2003; 423: 773.
63. Kwon J, Devadas S, Williams MS. T cell receptor-stimulated generation of hydrogen peroxide inhibits MEK-ERK activation and I $\kappa$ B serine phosphorylation. *Free Rad Biol Med* 2003; 35: 406.
64. Holan V, Krulova M, Zajicova A, et al. Nitric oxide as a regulatory and effector molecule in the immune system. *Mol Immunol* 2002; 38: 989.
65. Rutter J, Reich M, Wu LC, et al. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors. *Science* 2001; 293: 510.
66. Zhang Q, Piston DW, Goodman RH. Regulation of corepressor function by nuclear NADH. *Science* 2001; 295: 1895.
67. Angkeow P. Redox factor-1: an extra-nuclear role in the regulation of endothelial oxidative stress and apoptosis. *Cell Death Diff* 2002; 9: 717.
68. Victor VM, De la Fuente M. Immune cells redox state from mice with endotoxin-induced oxidative stress: involvement of NF- $\kappa$ B. *Free Rad Res* 2003; 37: 19.
69. Accaoui MJ, Enouï M, Merghy M, et al. Gamma-glutamyl-transpeptidase-dependent glutathione catabolism results in activation of NF- $\kappa$ B. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 1062.
70. Haddad JJ. Glutathione depletion is associated with augmenting a proinflammatory signal: evidence for an antioxidant/pro-oxidant mechanism regulating cytokines in the alveolar epithelium. *Cytokines Cell Mol Ther* 2000; 6: 177.
71. Haddad JJ. Redox regulation of pro-inflammatory cytokines and IkappaB-alpha/NF-kappaB nuclear translocation and activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 296: 847.
72. Schoonbroodt S, Piette J. Oxidative stress interference with the nuclear factor-kappa B activation pathway. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1075.
73. Frossi B, Tell G, Spessotto P, et al. H(2)O(2) induces translocation of APE/Ref-1 to mitochondria in the Raji B-cell line. *J Cell Physiol* 2002; 193: 180.
74. Moscat J, Diaz-Meco MT, Rennert P. NF- $\kappa$ B activation by protein kinase C isoforms and B-cell function. *EMBO report* 2003; s4: 31.
75. Matheny HE, Deem TL, Cook-Mills JM. Lymphocyte migration through monolayers of endothelial cell lines involves VCAM-1 signaling via endothelial cell NADPH oxidase. *J Immunol* 2000; 164: 6550.
76. Tudor KS, Hess KL, Cook-Mills JM. Cytokines modulate endothelial cell intracellular signal transduction required for VCAM-1-dependent lymphocyte transendothelial migration. *Cytokine* 2001; 15: 196.
77. Chiaradia E, Gaiti A, Scaringi L, et al. Antioxidant systems and lymphocyte proliferation in the horse, sheep and dog. *Vet Res* 2002; 33: 661.
78. Lindvall J, Islam TC. Interaction of Btk and Akt in B cell signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 1319.
79. Carlisle ML, King MR, Karp DR.  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase activity alters the T cell response to oxidative stress and Fas-induced apoptosis. *Int Immunol* 2003; 15: 17.
80. Tatla S, Woodhead V, Foreman JC, et al. The role of reactive oxygen species in triggering proliferation and IL-2 secretion in T cells. *Free Rad Biol Med* 1999; 26: 14.
81. De la Fuente M, Victor VM. Ascorbic acid and N-acetylcysteine improve in vitro the function of lymphocytes from mice with endotoxin-induced oxidative stress. *Free Rad Res* 2001; 35: 73.
82. Hehner SP, Breitzkreutz R, Shubinsky G, et al. Enhancement of T cell receptor signaling by a mild oxidative shift in the intracellular thiol pool. *J Immunol* 2000; 165: 4319.
83. Balamurugan K, Rajaram R, Ramasami T, et al. Chromium(III)-induced apoptosis of lymphocytes: death decision by ROS and Src-family tyrosine kinases. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 1622.
84. Roozendaal R, Kauffman HF, Dijkhuis AJ, et al. Interaction between nitric oxide and subsets of human T lymphocytes with differences in glutathione metabolism. *Immunology* 2002; 107: 334.
85. Shenker BJ, Pankoski L, Zekavat A, et al. Mercury-induced apoptosis in human lymphocytes: caspase activation is linked to redox status. *Antiox Redox Signal* 2002; 4: 379.
86. Hildeman DA, Mitchell T, Teague TK, et al. Reactive oxygen species regulate activation-induced T cell apoptosis. *Immunity* 1999; 10: 735.
87. Mosca L, Marcellini S, Perluigi M, et al. Modulation of apoptosis and improved redox metabolism with the use of a new antioxidant formula. *Biochem Pharmacol* 2002; 63: 1305.
88. Barbieri SS, Eligini S, Brambilla M, et al. Reactive oxygen species mediate cyclooxygenase-2 induction during monocyte to macrophage differentiation: critical role of NADPH oxidase. *Cardiovasc Res* 2003; 60: 187.
89. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death in the immune system. *Toxicol Lett* 1998; 102: 355.
90. Phillips DC, Allen K, Griffiths HR. Synthetic ceramides induce growth arrest or apoptosis by altering cellular redox status. *Arch Biochem Biophys* 2002; 407: 15.
91. Badewa AP, Hudson CE, Heiman AS. Regulatory effects of eotaxin, eotaxin-2, and eotaxin-3 on eosinophil degranulation and superoxide anion generation. *Exp Biol Med* 2002; 227: 645.

92. Leavey PJ, Gonzales-Aller C, Thurman G, et al. A 29-kDa protein associated with p67<sup>phox</sup> expresses both peroxiredoxin and phospholipase A<sub>2</sub> activity and enhances superoxide anion production by a cell-free system of NADPH oxidase activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 45181.
93. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002; 420: 846.
94. József L, Zouki C, Petasis NA, et al. Lipoxin A<sub>4</sub> and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A<sub>4</sub> inhibit peroxynitrite formation, NF-κB and AP-1 activation, and IL-8 gene expression in human leukocytes. *PNAS* 2002; 99: 13266.
95. Nathan C, MU Shiloh. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. *PNAS* 2000; 97: 8841.
96. Hsu HY, Wen MH. Lipopolysaccharide-mediated reactive oxygen species and signal transduction in the regulation of interleukin-1 gene expression. *J Biol Chem* 2002; 277: 22131.
97. Kirsch JD, Yi AK, Spitz DR, et al. Accumulation of glutathione disulfide mediates NF-kappaB activation during immune stimulation with CpG DNA. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2002; 12: 327.
98. Victor VM, De la Fuente M. N-acetylcysteine improves in vitro the function of macrophages from mice with endotoxin-induced oxidative stress. *Free Rad Res* 2002; 36: 33.
99. Victor VM, Rocha M, M De la Fuente. Regulation of macrophage function by the antioxidant N-acetylcysteine in mouse-oxidative stress by endotoxin. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 97.
100. Bussolati B, Mariano F, Cignetti A, et al. Platelet-activating factor synthesized by IL-12-stimulated polymorphonuclear neutrophils and NK cells mediates chemotaxis. *J Immunol* 1998; 161: 1493.
101. Chandel NS, Schumacker PT, Arch RH. Reactive oxygen species are downstream products of TRAF-mediated signal transduction. *J Biol Chem* 2001; 276: 42728.
102. Wajant H, Pfizenmaier K, P Scheurich. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Diff* 2003; 10: 45.
103. Yuen KS, Nearn MR, Halliday GM. Nitric oxide-mediated depletion of Langerhans cells from the epidermis may be involved in UVA radiation-induced immunosuppression. *Nitric Oxide* 2002; 6: 313.
104. Briganti S, Cristaudo A, D'Argento V, et al. Oxidative stress in physical urticarias. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26: 284.
105. Santucci B, Camera E, Picardo M. Biochemical aspects of nickel hypersensitivity: factors determining allergenic action. In Hostynek JJ, Maibach HI (eds). *Nickel and the skin: absorption, immunology, epidemiology, and metallurgy*. London: CRC Press Boca Raton, 2002; 201.
106. Camera E, Lisby S, Dell'Anna ML, et al. Levels of enzymatic antioxidants activities in mononuclear cells and skin reactivity to sodium dodecyl sulphate. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2003; 16: 49.
107. Palumbo A, Astarita G, Picardo M, et al. Ni<sup>2+</sup>, a double-acting inhibitor of neuronal nitric oxide synthase interfering with L-arginine binding and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent enzyme activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 142.
108. Paganelli R, Buttari B, Camera E, et al. In vitro effects of nickel-sulphate on immune functions of normal and nickel-allergic subjects: a regulatory role for zinc. *J Trace Elem Med Biol* 2003; 17: 2003.
109. Peus D, Meves A, Vasa RA, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is required for UVB-induced EGF receptor and downstream signaling pathway activation. *Free Rad Biol Med* 1999; 27: 1197.
110. Belleudi F, Ceridono M, Capone A, et al. The endocytic pathway followed by the keratinocyte growth factor receptor. *Histochem Cell Biol* 2002; 118: 1.
111. Marchese C, Maresca V, Cardinali G, et al. UVB-induced activation and internalization of keratinocyte growth factor receptor. *Oncogene* 2003; 22: 2422.
112. Paganelli R, Scala E, Mazzone AM, et al. Th2-type cytokines, hypereosinophilia, and interleukin-5 in HIV disease. *Allergy* 1997; 52: 110.
113. Bautista AP. Free radicals, chemokines, and cell injury in HIV-1 and SIV infections and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1527.
114. Maresca V, Roccella M, Roccella F, et al. Increased sensitivity to peroxidative agents as a possible pathogenic factor of melanocyte damage in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 310.
115. Schallreuter KU, Moore J, Wood JM, et al. In vivo and in vitro evidence for hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) accumulation in the epidermis of patients with vitiligo and its successful removal by a UVB-activated pseudocatalase. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4: 91.
116. Dell'Anna ML, Maresca V, Briganti S, et al. Mitochondrial impairment in peripheral blood mononuclear cells during the active phase of vitiligo. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 908.
117. Dell'Anna ML, Urbanelli S, Mastrofrancesco, A et al. Alterations of mitochondria in peripheral blood mononuclear cells of vitiligo patients. *Pigment Cell Res* 2003; 16: 553.
118. Martins Chaves M, Prates Rodrigues AL, Pereira dos Reis A, et al. Correlation between NADPH oxidase and protein kinase C in the ROS production by human granulocytes related to age. *Gerontology* 2002; 48: 354.
119. Leone G. Combined phototherapy in vitiligo. 10<sup>th</sup> Meeting of the European Society for Pigment Cell Research, 26-29 September 2001, Rome, Italy. Abstract book *Pigment Cell Res* 14, p 380.

## Nuovi test diagnostici *in vitro* nell'allergia a farmaci

Ornella De Pità, Alessandra Frezzolini, Silvia Cadoni, Marina Ruffelli e Maria Grazia Sanjust

**Riassunto:** Le reazioni avverse a farmaci (RAF) rappresentano uno dei maggiori problemi sanitari nei paesi occidentali, dovuto essenzialmente all'aumento del consumo dei farmaci. Tuttavia, solo una minima quota (6-14%) di queste reazioni è a patogenesi allergica, cioè indotta da un meccanismo immunitario. Gli effetti indesiderati da farmaci, pertanto, possono essere divisi in reazioni allergiche in senso stretto (a patogenesi immunitaria) e reazioni pseudo-allergiche o da intolleranza. Per quanto riguarda le prime, i farmaci più frequentemente coinvolti sono le penicilline e, in minor misura, sieri eterologhi, insulina, enzimi come la streptochinasi ed alcuni anestetici generali. Le reazioni pseudoallergiche, invece, sono causate da analgesici (acido acetilsalicilico e i farmaci antinfiammatori non steroidei sono responsabili, da soli, di due terzi di tutte le reazioni avverse pseudoallergiche), mezzi di contrasto iodati, sulfamidici e plasma expander. La diagnostica *in vitro* delle RAF rappresenta quindi un problema complesso e si discosta da quella classica per l'allergia respiratoria ed alimentare in quanto il dosaggio delle IgE specifiche circolanti è possibile solo per alcuni farmaci, per lo più antibiotici beta-lattamici e insulina. In questa rassegna sono descritte nuove opportunità diagnostiche, rappresentate da metodiche di attivazione dei basofili *in vitro* (dosaggio dei sulfidoleucotrieni e misura citofluorimetrica del CD63, rispettivamente rilasciati ed espresi dopo stimolo con il farmaco) che attualmente sembrano essere uno strumento di laboratorio molto specifico per svelare sia reazioni IgE-mediate che reazioni pseudoallergiche.

**Parole chiave:** reazioni avverse a farmaci, diagnosi *in vitro*, test.

**Summary:** *New in vitro diagnostic test in drug allergy.* Adverse drug reactions (ADR) are a big problem in western countries, and this is mainly due to the increased use of drugs. Nevertheless, less than 15% of the ADRs are immunologically mediated and that IgE-mediated occur in a small percentage. The latter can be triggered also by low dosage of the drug, require a previous exposure to the same drug or to a chemically related drug and develop quickly after re-exposure. Pseudoallergic reactions to drugs, which may mimic that immunologically mediated, are due to direct release of histamine (opioids) or complement activation (radiocontrast media). They mainly occur after the intake of non-steroidal anti-inflammatory drugs and acetylsalicylic acid. A detailed pharmacological history, knowledge of the signs and symptoms associated with known immune mechanisms, are helpful in identifying the causative drug. Standardized *in vitro* tests for drug reactions are limited, since specific circulating IgE are detectable only in cases of beta-lactams and insulin allergy. This review focused on new *in vitro* diagnostic opportunities for ADRs and particularly on the recently developed methods of basophil activation test (sulphidoleukotrienes assay and cytofluorimetric analysis of CD63 after allergen stimulation) which are actually a highly specific laboratory tool to reveal both IgE and non IgE-mediated responses to drugs.

**Key words:** adverse drug reactions, diagnosis *in vitro*, tests.

### Introduzione

Secondo l'attuale definizione dell'OMS con il termine di "reazione indesiderata ad un farmaco" si intende una risposta dannosa ed inattesa, che interviene dopo somministrazione di

un farmaco alle dosi comunemente usate nell'uomo a scopo di profilassi, diagnosi e terapia. Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento delle reazioni avverse ai farmaci (RAF), soprattutto nei paesi maggiormente industrializzati. Si ritiene che il 15% della popolazione

generale abbia presentato una RAF e che nell'ambito di tali reazioni l'incidenza di quelle allergiche e pseudoallergiche sia pari all'1-3%, mentre il resto dovrebbe essere attribuito a reazioni da sovradosaggio o tossiche<sup>1</sup>. I fattori predisponenti per le RAF sembrano essere l'età (sono più frequenti tra i 15 e i 40 anni), il sesso (da 4 a 8 volte più frequenti nelle donne) e la condizione di atopia, che di per sé rappresenta un fattore favorente il rilascio di alcuni mediatori dell'allergia per una maggiore instabilità di membrana delle cellule effettrici, quali basofili e mastociti.

In base alla loro patogenesi le RAF sono suddivise in immunitarie e non-immunitarie o pseudoallergiche. Le prime possono essere legate alla produzione di anticorpi IgE diretti verso alcuni costituenti del farmaco o dei suoi metaboliti (tipo I secondo la classificazione di Gell e Coombs). Le manifestazioni cliniche più frequenti di questo tipo di RAF comprendono orticaria-angioedema, broncospasmo, prurito, vomito e diarrea, shock anafilattico. Tra le RAF immunitarie sono comprese quelle citotossiche (tipo II), quali l'anemia emolitica; quelle da immunocomplessi (tipo III), come la malattia da siero, le alveoliti e le glomerunonefriti; quelle ritardate cellulose-mediate (tipo IV), quali la dermatite allergica da contatto, le eruzioni esantematiche, l'eritema fisso e la sindrome di Lyell<sup>1</sup>. Le RAF di tipo pseudoallergico invece, pur manifestandosi spesso con gli stessi sintomi clinici della reazione allergica, sono mediate da meccanismi non immunitari, quali la liberazione diretta di mediatori chimici dai mastociti e dai basofili, l'attivazione della via classica e/o alternativa del complemento con formazione di anafilotossine (C3a, C4a, C5a) in grado di provocare degranolazione mastocitaria o lo sbilanciamento del ciclo-ossigenasico/lipo-ossigenasico<sup>1</sup>.

Nell'ambito delle RAF solo una quota molto limitata (6-14%) è indotta da meccanismi allergici IgE mediati<sup>1</sup>.

Nelle RAF, oltre alle manifestazioni cutanee che sono le più comuni, si possono verificare, in ordine decrescente di frequenza, sintomi respiratori (rinite, asma, edema della glottide), cardiovascolari (ipotensione), shock anafilattico, digestivi e neurologici. Meno frequenti risultano le manifestazioni renali ed ematologiche<sup>2</sup>.

I farmaci maggiormente implicati nelle

RAF allergiche sono i beta-lattamici (penicilline, cefalosporine, oxacilline, che hanno in comune l'anello beta-lattamico), i sulfamidici, l'insulina ed i curari miorellassanti<sup>1</sup>. Si tratta, in genere, di reazioni molto pericolose: negli Stati Uniti d'America la sola penicillina provoca decessi per shock anafilattico in misura 10 volte superiore rispetto alle allergie alimentari o da veleno di imenotteri. Le RAF pseudoallergiche sono provocate invece soprattutto da analgesici, antireumatici, mezzi di contrasto iodati. L'acido acetilsalicilico e i farmaci antinfiammatori non steroidei, tuttavia, sono in causa nei 2/3 circa dei casi e provocano, nella maggior parte dei casi, uno sbilanciamento nella formazione dei derivati dell'acido arachidonico, con ridotta formazione di prostaglandine ed aumentata formazione di sulfidoleucotrieni (sLT)<sup>3,4</sup>. Per tutti gli altri farmaci coinvolti nelle RAF pseudoallergiche si è invece ipotizzata una liberazione diretta dei mediatori chimici mastocitari, un'attivazione della via alternativa del complemento e, infine, uno sbilanciamento del ciclo ossigenasico-lipossigenasico<sup>5</sup>.

### **Diagnostica *in vitro* delle allergie a farmaci**

Vista la complessità dei meccanismi che provocano la comparsa di RAF e la disponibilità limitata di estratti utilizzabili, la diagnostica di tali fenomeni costituisce un problema complesso, in quanto si discosta da quella classica per l'allergia respiratoria ed alimentare.

Premesso che sono basilari la raccolta accurata dei dati anamnestici del paziente, l'accertamento dei rapporti cronologici tra l'assunzione del farmaco e le manifestazioni cliniche, l'accertamento della presenza o assenza di pregresse reazioni, anche di modesta entità, allo stesso farmaco, i test diagnostici *in vitro* attualmente a disposizione per la diagnosi di RAF sono essenzialmente di 3 tipi e comprendono: la ricerca di IgE specifiche verso metaboliti dei farmaci<sup>6</sup>; il dosaggio dei sulfidoleucotrieni (sLT) da leucociti attivati in seguito a stimolazione allergenica (Cellular Allergen Stimulation Test, CAST 2000 ELISA - Buhlmann Laboratories, Switzerland)<sup>7,8</sup>; l'analisi citofluorimetrica di basofili attivati dopo stimolo con il farmaco<sup>9,10</sup>.

### *IgE specifiche sieriche*

Il metodo più validato dalla letteratura è il metodo FEIA (CAP System FEIA, Pharmacia, Sweden)<sup>6</sup>. Questo test, nel campo dell'allergia ai farmaci, è particolarmente prezioso per l'assenza di rischi e per questo è indicato in prima istanza. A differenza delle prove cutanee, per di più, non subisce interferenze da parte di eventuali farmaci assunti; quindi, è utile nei casi in cui non si possano eseguire le prove cutanee. Inoltre ha maggiore specificità e fornisce risultati quantitativi. Tuttavia, i risultati devono essere sempre interpretati alla luce della storia clinica del paziente e ad eventuali test *in vivo*. La limitazione maggiore è che tale test *in vitro* può essere effettuato solo verso i farmaci per i quali sia stato dimostrato un meccanismo allergico IgE-mediato e nulla ci svela circa la presenza di RAF pseudoallergiche. Al momento, inoltre, sono disponibili solo estratti allergenici per beta-lattamici, insulina (porcina, bovina, umana), succinilcolina, ACTH, protamina, tetano tossoide, chimopapaina.

### *Dosaggio dei sulfidoleucotrieni*

Tale test *in vitro*, eseguibile mediante un kit standardizzato commercialmente disponibile (CAST 2000 ELISA), effettua il dosaggio quantitativo dei sLT prodotti in seguito a contatto con un antigene (in questo caso il farmaco) da leucociti isolati.

I sLT, che possiedono una potente azione spasmogenica e vasodilatatoria, vengono sintetizzati da vari tipi cellulari, quali eosinofili, mastociti, basofili, macrofagi e cellule mesangiali del rene. Giocano un ruolo importante in vari eventi patologici, particolarmente nelle reazioni IgE-mediate, ma anche in quelle non IgE-mediate; per tale motivo risultano particolarmente utili nella diagnostica delle RAF pseudoallergiche.

L'esecuzione del test prevede la separazione dei leucociti dal sangue periferico per sedimentazione su destrano, la loro stimolazione con il farmaco a concentrazione nota in presenza di IL-3 e il dosaggio dei sLT nel supernatante cellulare mediante metodica ELISA. Si considerano positivi valori di sLT >40 pg/ml. Pur essendo la specificità del test abbastanza alta (70-100%), una risposta negativa non esclude la presenza di una pseudoallergia, in quanto la sensibilità può variare tra

60-80% per acido acetilsalicilico e FANS<sup>7,8</sup> ed è pari al 52% per metamizolo<sup>11</sup>.

### *Analisi citofluorimetrica dei basofili attivati in risposta al farmaco*

Per quanto riguarda l'attivazione dei basofili quale mezzo diagnostico, va rilevato che, fin dall'inizio degli anni '80, venivano effettuati test che quantificavano i mediatori rilasciati dai basofili (come istamina) dopo contatto con un allergene specifico, oppure si eseguiva la diretta osservazione microscopica della degranolazione dei basofili dopo colorazione dei granuli con alcian blu<sup>12,13</sup>. Quest'ultima metodica, in particolare, risultava poco pratica a causa dello scarso recupero dei basofili e per il tempo di esecuzione eccessivamente lungo.

Nei primi anni '90 venne introdotto il FAST (Flow cytometric cellular Allergen Stimulation Test), ora disponibile in commercio con diversi reagenti e caratteristiche, come FLOW-CAST (Buhlmann Laboratories, Switzerland) o BASOTEST (Orpegen Pharma, Germany), ed applicabile allo studio di reazioni verso i più comuni allergeni (inalanti, alimenti, lattice, veleno di imenotteri), nonché verso farmaci mediatori di RAF pseudoallergiche<sup>14-23</sup>. La metodica rappresenta attualmente un efficace strumento per svelare sia reazioni di ipersensibilità di tipo IgE-mediate che reazioni non IgE-mediate e si basa sulla valutazione in citofluorimetria del CD63. Questa molecola di membrana, che viene espressa sulla superficie cellulare dei basofili sia *in vivo* che *in vitro* solo dopo stimolo antigenico, rappresenta un marker estremamente specifico e sensibile di attivazione cellulare<sup>9,10</sup>.

L'efficacia del metodo è stata recentemente aumentata dall'introduzione in commercio di un nuovo test monoclonale (Becton Dickinson, BD Biosciences, San José, CA, USA) che consente la contemporanea valutazione in citofluorimetria del CD63 (espresso solo dai basofili attivati), del CD123 (recettore per IL-3 espresso da tutti i basofili) e dell'HLA-DR (molecola del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II, totalmente assente nei basofili) e che pertanto considera attivati i basofili con fenotipo CD63+CD123+HLA-DR<sup>-10</sup>.

Il test si esegue su sangue intero eparinato e prevede l'incubazione del campione,

precedentemente stimolato con buffer contenente IL-3, con allergene o farmaco specifico a concentrazioni note. E' necessario, per una corretta interpretazione dei risultati, allestire anche un controllo negativo (incubando il sangue con solo buffer di lavaggio) e un controllo positivo del test, incubando il sangue con attivatori dei basofili, quali peptidi chemotattici (f-MLP) o anticorpi anti-IgE o anti-recettore per le IgE.

La metodica prevede l'incubazione del campione con l'anticorpo monoclonale CD63/CD123/HLA-DR e la successiva lisi dei globuli rossi; il campione di sangue viene poi lavato e risospeso nel buffer di lavaggio per la lettura al citofluorimetro. L'analisi citofluorimetrica deve essere eseguita disegnando una regione che comprenda almeno 500 cellule; all'interno di tale regione vengono identificati i basofili attivati con fenotipo CD63+CD123+HLA-DR-.

In base alla differente capacità delle classi di allergeni di indurre l'attivazione dei basofili *in vitro*, sono stati stabiliti differenti valori soglia per l'interpretazione dei risultati. Nel caso di stimolo con allergeni inalanti e/o alimentari, si considera il test positivo quando la percentuale di basofili attivati risulta superiore al 15%; nel caso invece di stimolo con farmaci, il valore soglia si abbassa al 5%.

Numerosi lavori della letteratura hanno documentato che tale test è estremamente specifico per la diagnosi delle reazioni IgE-mediate causate da differenti allergeni, quali inalanti e alimenti<sup>16,17,20</sup>, lattice<sup>21</sup> e veleno di imenotteri<sup>22</sup>, con una validità diagnostica superiore anche ai test cutanei e/o al dosaggio delle IgE-specifiche. La metodica è stata recentemente impiegata anche nella diagnosi dell'allergia a farmaci quali beta-lattamici<sup>19</sup>, miorilassanti<sup>15,18</sup> e analgesici<sup>23</sup>, sia per la conferma in casi di reazioni IgE-mediate che per la diagnosi di RAF pseudoallergiche (tabella I).

Tabella I - Sensibilità e specificità dell'analisi citofluorimetrica dei basofili CD63+ attivati *in vitro* dall'allergene.

Allergeni	Pazienti (No.)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	Riferimenti bibliografici
Cipresso	34	91	100	16
<i>Lolium perenne</i>	51	93,3	98,4	17
<i>Dermatophagoides pt</i>	53	93,3	98,4	17
Alimenti	29	85	80	20
<i>Hevea latex</i>	43	93	100	21
Miorilassanti	21	64-80	100	15,18
Beta-lattamici	58	50	93	19
Metamizolo	26	42,3	100	11
FANS	60	60-70	>90	23

## Nostra esperienza e conclusioni

Nel laboratorio di Immunologia ed Allergologia dell'Istituto Dermopatico dell'Immacolata di Roma (IDI) sono state standardizzate entrambe le metodiche del FAST e del CAST-ELISA per la diagnosi *in vitro* delle pseudoallergie in pazienti con storia suggestiva di ipersensibilità a farmaci. In particolare, abbiamo effettuato il FAST in 27 pazienti (8 maschi e 19 femmine), che riferivano RAF a uno o più farmaci. I risultati sono riportati nella tabella II.

Il CAST-ELISA è stato eseguito in 11 pazienti (3 maschi e 8 femmine), in 3 dei quali è stato effettuato anche il FAST per gli stessi farmaci (tabella III). Due delle 3 pazienti testate contemporaneamente con le 2 metodiche hanno mostrato concordanza di risultati; per una si è riscontrata invece una lieve positività per metamizolo con il CAST (52 pg/ml), mentre con il FAST si è ottenuto un risultato negativo, aven-

Tabella II - Valutazione *in vitro* dell'ipersensibilità a FANS e ciprofloxacina mediante BASOTEST.

Farmaci	Pazienti (No.)	Risultati (positivi)
Ibuprofene	4	1/4
Diclofenac	5	3/5
Paracetamolo	6	2/6
Dipirone/metamizolo	11	3/11
ASA	15	8/15
Ciprofloxacina	5	2/5

Tabella III - Valutazione *in vitro* dell'ipersensibilità a FANS e ciprofloxacina mediante CAST-ELISA.

Farmaci	Pazienti (No.)	Risultati (positivi)
Diclofenac	6	3/6
Paracetamolo	3	-
Dipirone/metamizolo	5	2/5
ASA	9	4/9
Ciprofloxacina	1	1/1

do documentato una percentuale di basofili attivati dal metamizolo inferiore al 5%.

Dai risultati ottenuti è emerso che in realtà non esiste una stretta concordanza tra i 2 metodi; ciò può in parte essere dovuto al diverso numero di pazienti analizzati, ma anche al fatto che il FAST e il CAST sono 2 mezzi diagnostici che si basano sull'osservazione di 2 fenomeni (rispettivamente attivazione cellulare e rilascio di mediatori) che, seppur correlati tra loro in quanto indotti dallo stesso fattore (la stimolazione dei basofili da parte dell'allergene), possono essere differenti per dinamica e meccanismi molecolari.

Analizzando invece separatamente i risultati, vediamo che queste 2 metodiche riescono a confermare in buona percentuale, soprattutto per quanto riguarda i FANS e in particolare l'acido acetilsalicilico, la presenza di un'ipersensibilità verso i farmaci testati in pazienti con un'anamnesi positiva. Possiamo quindi concludere che la valutazione del CD63 (FAST) e quella dei sLT (CAST-ELISA) rappresentano al momento 2 validi mezzi diagnostici per la diagnosi e il monitoraggio *in vitro* delle reazioni a farmaci sia IgE- che non IgE-mediate.

Naturalmente, ulteriori studi saranno necessari per aumentare la sensibilità dei test e per cercare di produrre estratti allergenici sempre più standardizzati e vicini il più possibile alla struttura del farmaco assunto *in vivo*.

## Bibliografia

1. Gruchalla RS. Drug allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: S548.
2. Sicherer SH, Leung DY. Advances in allergic skin disease, anaphylaxis, and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect stings. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 118.
3. Simon RA, Namazy J. Adverse reactions to aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). *Clin Rev Allergy Immunol* 2003; 24: 239.
4. Ventura MT, Muratore L, Calogiuri GF, et al. Allergic and pseudoallergic reactions induced by glucocorticoids: a review. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 1956.
5. Szebeni J. Hypersensitivity reactions to radiocontrast media: the role of complement activation. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004; 4: 25.
6. Blanca M, Mayorga C, Torres MJ, et al. Clinical evaluation of Pharmacia CAP System RAST FEIA amoxicilloyl and benzylpenicilloyl in patients with penicillin allergy. *Allergy* 2001; 56: 862.
7. Czech W, Schopf E, Kapp A. Release of sulfidoleukotrienes in vitro: its relevance in the diagnosis of pseudoallergy to acetylsalicylic acid. *Inflamm Res* 1995; 44: 291.
8. Kubota Y, Imayama S, Toshitani A, et al. Sulfidoleukotriene release test (CAST) in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114: 361.
9. De Weck AL, Sanz ML. Flow Cytometric Cellular Allergen Stimulation Test (FAST/FLOW CAST): technical and clinical evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy. *ACI International* 2002; 14: 204.
10. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, et al. In vitro allergy diagnosis: should we follow the flow? *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 332.
11. Gamboa PM, Sanz ML, Caballero MR, et al. Use of CD63 expression as a marker of in vitro basophil activation and leukotriene determination in metamizol allergic patients. *Allergy* 2003; 58: 312.
12. Benveniste J. The human basophil degranulation test as an in vitro method for diagnosis of allergy. *Clin Allergy* 1981; 11: 1.
13. Siraganian HP. Histamine secretion from mast cells and basophils. *Trends Pharmacol Sci* 1983; 4: 432.
14. Knol EF, Mul FP, Jansen H, et al. Monitorin human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 328.
15. Abuaf N, Rajoely B, Ghazouani E, et al. Validation of a flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of muscle relaxant allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 411.
16. 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.
17. Sanz ML, Sanchez G, Gamboa PM, et al. Allergen-induced basophil activation: CD63 cell expression detected by flow cytometry in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Lolium perenne*. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1007.
18. Monneret G, Benoit Y, Debard AL, et al. Monitoring of basophil activation using CD63 and CCR3 in allergy to muscle relaxant drugs. *Clin Immunol* 2002; 102: 192.
19. Sanz ML, Gamboa PM, Antepara I, et al. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 277.
20. Erdmann SM, Heussen N, Moll-Slodowy S, et al. CD63 expression on basophils as a tool for the diagnosis of pollen-associated food allergy: sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 607.
21. Sanz ML, Gamboa PM, Garcia-Aviles C, et al. Flow-cytometric cellular allergen stimulation test in latex allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 130: 33.
22. Sturm GJ, Bohm E, Trummer M, et al. The CD63 basophil activation test in Hymenoptera venom allergy: a prospective study. *Allergy* 2004; 59: 1110.
23. Gamboa P, Sanz ML, Caballero MR, et al. The flow-cytometric determination of basophil activation induced by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is useful for in vitro diagnosis of the NSAID hypersensitivity syndrome. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1448.

## Nichel e dispositivi medico-chirurgici

Paolo Daniele Pigatto<sup>1</sup> e Gianpaolo Guzzi<sup>2</sup>

**Riassunto.** I dispositivi medico-chirurgici (DMC) sono essenziali nella medicina moderna. La loro funzione precipua è di migliorare la sopravvivenza e la qualità della vita nei pazienti affetti da diverse patologie o malformazioni. La maggior parte dei DMC contengono nichel associato ad altri metalli. E' noto che il nichel può dare luogo ad eventi collaterali indesiderati in individui suscettibili. La prevalenza di allergia a nichel nella popolazione generale nei paesi industrializzati è stimata essere pari al 7-10% nelle donne e al 2-3% negli uomini. Tuttavia, si è portati a pensare che le reazioni avverse associate a DMC a base di nichel accadano solo nel 1-3% dei pazienti con allergia a nichel. Tra queste sono state segnalate in letteratura internazionale: dermatite da contatto, reazioni allergiche locali e sistemiche, stomatiti, lesioni lichenoidi orali, cheiliti, eczema disidrosico, rash cutanei pruriginosi, osteonecrosi, ritardo nella riparazione delle ferite, dolore locale, reazioni sarcoidosiche, restenosi di stent coronarici. Reazioni avverse a nichel possono coinvolgere meccanismi sia immunitari che non-immunitari. Il presente lavoro evidenzia che l'aumentato rischio di allergia a nichel è anche associato all'uso di DMC contenenti nichel.

**Parole chiave:** dispositivi medico-chirurgici, reazioni avverse, nichel.

**Summary.** *Nickel and medico-surgical devices.* Medical and surgical devices (DMC) are essential to modern medicine and their purpose is to improve the survival and quality of life in patients with various diseases. Most DMCs contain nickel, which may cause adverse side effects to develop in susceptible persons. The prevalence of nickel allergy in the general population in developed countries is about 7-10% in women, and 2-3% in men. However, potential adverse events associated to nickel-containing devices occur only in 1-3% of patients with evidence of nickel sensitization. By reviewing reports we have found: contact dermatitis, local and/or systemic allergic reactions, stomatitis, lichenoid contact stomatitis, cheilitis, eczema, pompholyx eczema, pruritic rash, osteonecrosis, delayed and poor wound healing, local pain, sarcoid reactions and coronary in-stent restenosis. Adverse side effects to nickel involve both immune and non-immune mechanisms. This overview provided evidence of an increased risk of allergy to nickel associated with the use of devices containing nickel.

**Key words:** medico-surgical devices, adverse side effects, nickel.

### Introduzione

I materiali estranei all'organismo sono indispensabili per sostituire parti anatomiche o aree dell'organismo, in modo parziale o totale, in termini di forma e di funzione. Lo sviluppo tecnologico ha reso possibile la realizzazione di dispositivi medico-chirurgici (DMC) utilizzando leghe metalliche. Tra di essi sono elencati anche i mini-apparecchi che, impiantati nell'organismo, rilasciano farmaci o determinano lo svolgimento di funzioni di vita-

le importanza (ad esempio, pace-maker, defibrillatori).

Le leghe metalliche associate a nichel trovano un largo impiego, in quanto possiedono la caratteristica fondamentale di resistere ai processi di corrosione che inesorabilmente si verificano nei tessuti adiacenti alla protesi, una volta allocato il dispositivo in lega metallica all'interno dell'organismo umano<sup>1</sup>. Altre caratteristiche attraenti delle leghe a base di nichel sono, senza dubbio, le loro proprietà di resistenza e durezza. A

<sup>1</sup>Istituto di Scienze dermatologiche, Fondazione IRCCS, Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena e Università degli studi di Milano, Milano; <sup>2</sup>Associazione Italiana Ricerche Metalli e Biocompatibilità, (AIRMEB), Milano.  
Prof. Paolo Daniele Pigatto, Istituto di Scienze dermatologiche, Università di Milano, Via Pace 9, 20122 Milano (e-mail: paolopigatto@libero.it).  
Accettato per la pubblicazione il 28 aprile 2005

questo proposito ricordiamo le innovative leghe metalliche a base di nichel-titanio<sup>2-4</sup>. Queste ultime sono specificatamente utilizzate nella costruzione di stent, piccoli tubi metallici che vengono introdotti permanentemente in arterie o nel tratto gastro-intestinale (tabella I).

Tabella I - *Dispositivi medico-chirurgici in metallo a base di nichel.*

---

Stent (endocoil) per l'ostruzione delle vie biliari
Stent per la rivascularizzazione delle arterie coronarie
Stent espandibile per l'ostruzione dell'esofago
Stent espandibile per l'ostruzione del duodeno
Stent espandibile per l'ostruzione del colon-retto
Occlusori per difetti murali vascolari (occlusori in nitinol)

---

In genere si pensa che tra le branche della medicina l'ortopedia sia la disciplina che più di ogni altra necessita di leghe metalliche al fine di fissare e contenere le fratture ossee. Tuttavia, altri settori della medicina utilizzano leghe metalliche per impianti nell'organismo: su tutte, comunque, prevale l'area di competenza chirurgica. Infatti, gli impianti attuati nei tessuti sono generalmente costituiti da metallo o da metallo associato a composti polimerici (ad esempio, le protesi del ginocchio in ortopedia).

Tra i DMC a base di leghe metalliche, sono da includere anche quelli che vengono a contatto con le mucose visibili: tra questi gli apparecchi per ortodonzia e le protesi odontoiatriche in metallo.

Il DMC, per quanto tecnologicamente avanzato, rimarrà tuttavia un corpo estraneo e, come tale, passibile di potenziali trasformazioni chimiche a contatto con l'organismo, che potranno dare origine a infiammazione, reazioni granulomatose e, infine, fibrosi. Queste reazioni non sono prevedibili dipendendo molto dal make-up genetico dell'individuo. Possono essere sia di tipo immunologico sia di tipo non-immunologicamente mediato. Tuttavia, è bene ricordare che dal punto di vista statistico, la prevalenza dell'allergia a nichel nella popolazione generale dei paesi industrializzati è di circa il 7-10% nelle donne e del 1-3% negli uomini. Si ritiene, comunque, che la frequenza di significative reazioni avverse ai DMC sia al momento ancora molto contenuta: circa 1-2% dei soggetti con allergia a nichel.

## Dispositivi medico chirurgici come "biomateriali"

Nonostante gli enormi progressi tecnologici, i DMC, sia in lega metallica che non, continuano a rappresentare corpi estranei per l'organismo umano. Una volta inseriti in modo provvisorio o permanente, i materiali non devono essere velocemente riassorbiti; anzi la loro caratteristica principale affinché siano altamente performanti è quella di non rilasciare parti della loro struttura. La potenziale disgregazione della struttura del dispositivo non deve avvenire né a livello di chimica superficiale né tanto meno a livello della struttura chimica interna, profonda: infatti, la conseguenza di tali processi corrosivi porterebbe alla perdita di funzione non solo dell'impianto ma, con tutta probabilità, anche della parte biologica interfacciata al dispositivo stesso (ad esempio, l'articolazione coxo-femorale).

Questa caratteristica insieme ad altre, tra cui spicca sicuramente un basso indice di citotossicità, definiscono il grado di biocompatibilità. Il termine biocompatibilità è strettamente associato alla definizione di "biomateriale".

## Ortopedia e dispositivi medico-chirurgici

E' ormai consolidato in ortopedia il concetto che la sostituzione parziale o totale di un'articolazione con un impianto di protesi in lega metallica può essere seguita da reazioni avverse dovute al rilascio di prodotti di degradazione e corrosione da parte dell'impianto metallico stesso<sup>5</sup>. Il rilascio di residui metallici, infatti, può dare luogo ad effetti sistemici che variano a seconda della natura fisico-chimica delle particelle metalliche.

Gli impianti definiti "statici", impiegati per favorire la guarigione delle fratture ossee, sono entrati in uso durante gli anni '50 del secolo scorso. La comprensione e la coscienza, invece, del possibile fallimento di un impianto metallico protesico di un'articolazione, dovuto a dissoluzione dei componenti metallici, sono piuttosto recenti.

Le leghe metalliche impiegate per la sostituzione protesica erano costituite, inizialmente, dalla lega detta "Vitallium", a base di cromo, cobalto, molibdeno e tracce di nichel. Successivamente, sono state introdotte le leghe in

acciaio che in genere contengono cromo 17-19%, nichel 13-15%, molibdeno 2-3% e carbone (in quantità inferiore allo 0,03%). Tuttavia, anche le protesi articolari in acciaio inossidabile hanno mostrato problemi di diffusione dei costituenti della lega a livello dei tessuti adiacenti, con perdita delle protesi per stress da "usura frizionale" in un quarto circa dei casi. Contemporaneamente si è messa in evidenza la presenza di un'elevata concentrazione dei metalli costituenti la lega d'acciaio (cromo, cobalto e nichel) a livello del sangue periferico<sup>6</sup>. Per di più, si è dimostrato che i prodotti di degradazione della corrosione delle protesi, come gli ioni metallici solubili, sono in grado di diffondere nell'organismo, trasportati dal plasma o dalle cellule del torrente circolatorio, fino a raggiungere e a distribuirsi in tessuti distanti dalla sede originaria dell'impianto ortopedico.

Biochimicamente parlando, gli ioni metallici mobilizzati dalle leghe protesiche sono in grado di legarsi saldamente a proteine, a macromolecole e anche al DNA, oppure di essere attivamente metabolizzate in composti ancora più citotossici<sup>7-9</sup>.

Un ruolo rilevante sembra essere esplicitato dai macrofagi che, inglobando alcune particelle solubili delle leghe metalliche, possono dare luogo, fondendosi tra loro, alle cosiddette "cellule giganti multinucleate da corpo estraneo".

Questo nuovo problema per gli ortopedici ha rappresentato una nuova sfida anche per gli allergologi e i dermatologi per due ragioni:

primariamente perché la concentrazione elevata di metalli di transizione a livello ematico implicava la domanda: saranno sensibilizzanti?

secondariamente perché in molti casi, anche se aneddotici, si è evidenziata la presenza di dermatiti o forme pruriginose-eczematose in sede dell'impianto della protesi metallica<sup>10</sup>.

Alcune ricerche osservative hanno valutato la frequenza di sensibilizzazione ai metalli in individui sottoposti a intervento di sostituzione protesica dell'articolazione con leghe in acciaio: il 28% ha mostrato allergia ai metalli; la prevalenza dell'allergia ai metalli, inoltre, aumentava dopo l'intervento fino alla percentuale del 74%. In altri lavori, tuttavia, si sono evidenziati dati differenti, ossia una prevalenza del 46% in una ricerca e del 13% in un'altra.

## **Polimorfismo genetico e allergia a nichel**

In letteratura è stata descritta una possibile associazione tra l'allergia a nichel e una maggiore predisposizione conferita da alcuni alleli del complesso maggiore di istocompatibilità, sia di classe I che di classe II. Tra gli aptotipi associati all'allergia a nichel sono stati segnalati: DRB1\*0405<sup>11</sup>, e DQA1-\*0601<sup>12</sup>, DQA1\*0101 e DQB1\*0501<sup>13</sup>, DRB4\*0404 DRB1\*0401 DRB1\*0408<sup>14</sup>. In questi studi, tuttavia, manca un'univoca correlazione.

## **Odontoiatria e dispositivi medico-chirurgici**

Le leghe metalliche trovano ampia utilizzazione in odontoiatria: otturazioni, protesi fisse in metallo e protesi scheletrate possono contenere nichel nella loro composizione. Tuttavia, la branca odontoiatrica che più frequentemente utilizza DMC ad alto contenuto di nichel è senza dubbio l'ortodonzia. Infatti, i fili intraorali, le bande, gli attacchi (brackets) e i fili per gli archi facciali, che vengono utilizzati per lo spostamento dei denti affetti da malposizionamento nelle arcate dentarie soprattutto di bambini e adolescenti, possono contenere fino al 50% di nichel in associazione a titanio.

## **Otturazioni con amalgama dentale**

L'amalgama dentale è il materiale da otturazione preferito dai dentisti di tutto il mondo. Il lungo ed irrisolto dibattito riguardo alla sua potenziale tossicità, dovuta soprattutto alla presenza del mercurio metallico come maggiore costituente, ha oscurato i potenziali effetti avversi che possono essere dovuti anche agli altri suoi componenti, benché presenti in quota minoritaria. Nello specifico, si tratta di alcuni metalli.

Alcune nostre ricerche hanno mostrato, ad esempio, che il nichel è presente nella polvere dell'amalgama dentale in quantità compresa tra 3,5 e 8,87 µg/g. Questi nostri dati potrebbero avere rilevanza in una patologia che da tempo è stata associata all'amalgama dentale: il lichen planus orale e le stomatiti lichenoidi da contatto. Noi ipotizziamo che la presenza di nichel nell'amalgama possa interagire immunologicamente con le lesioni da contatto a livello delle mucose orali<sup>15</sup>.

### *Protesi dentale fissa*

Leghe metalliche contenenti nichel (ISO 6871-2) sono utilizzate per il confezionamento di corone e ponti (protesi fissa) nella sostituzione di denti mancanti. Per verificare l'eventuale quantità di nichel presente nella lega, è bene far riferimento alla scheda tecnica del materiale oppure sottoporre la protesi alle opportune rilevazioni in laboratorio d'analisi. Il dato, ovviamente, assume maggiore valore nei casi di sospetta sensibilizzazione a nichel derivante da manufatti odontoiatrici.

### *Procedimenti ortodontici*

E' importante ricordare che i trattamenti ortodontici sono più frequentemente adottati in una fascia di età che varia dai 6 ai 20 anni e che la permanenza dei dispositivi ortodontici può essere anche di diversi anni. Di conseguenza, è necessario valutare potenziali effetti immuno-tossicologici nei pazienti.

I metalli presenti nei dispositivi per ortodonzia (fili, attacchi, bande) sono: nichel, titanio, cromo, cobalto, ferro, rame, molibdeno. Nonostante l'ampia e documentata resistenza ai fenomeni corrosivi e alla buona biocompatibilità dei suddetti materiali, è possibile individuare eventi avversi in alcuni dei soggetti sottoposti a terapia ortodontica<sup>16-22</sup>. Questi sono da ricondurre al fatto che qualsiasi materiale, dispositivo o protesi odontoiatrica venga introdotto all'interno del cavo orale sarà sottoposto a sollecitazioni fisico-chimiche e meccaniche per cui è normale osservare fenomeni di corrosione e, come conseguenza, liberazione di ioni metallici che si dissolvono nella saliva<sup>23</sup>. Le variazioni di temperatura, pH, potenziale di ossido-riduzione, umidità, insieme alla variabilità della flora batterica del cavo orale, aumentano inesorabilmente la corrosione dei metalli.

### *Chirurgia vascolare e dispositivi medico-chirurgici*

Alcune recenti ricerche<sup>24,25</sup> hanno ipotizzato che la restenosi degli stent vascolari possa essere innescata dall'allergia a nichel e, forse, molibdeno. La lega di acciaio inossidabile con la quale sono costituiti è, nella maggior parte dei casi, la lega 316L. Tra i suoi costituenti metallici sono cromo sotto forma di cromato (17%), nichel (12%) e molibdeno (2%).

Nichel e cromo sono potenzialmente molto allergenici, in quanto a seguito delle mo-

difiche biochimiche che subiscono nell'interno dell'organismo si determina rilascio di ioni metallici. Questo è aumentato dal torrente sanguigno, dai minerali presenti nel sangue e dalle proteine che attuano un legame preferenziale con gli ioni metallici dello stent. Pertanto, l'attivazione delle citochine pro-infiammatorie, i fattori di crescita e gli enzimi implicati nel processo aterosclerotico della placca (ad esempio, mieloperossidasi) potrebbero essere un fenomeno sotteso dalla presenza degli ioni metallici. Conseguentemente, osserviamo il processo infiammatorio e la risposta immune locale che esita in una reazione al biomateriale estraneo all'organismo determinando la stenosi dello stent. L'associazione tra l'allergia a nichel (e forse a molibdeno) e la stenosi degli stent coronarici nei soggetti sottoposti ad angiografia coronaria, tuttavia, deve essere meglio investigata.

### **Allergia a nichel e procedure medico-chirurgiche**

In letteratura sono stati descritti numerosi casi di allergia a nichel causata da differenti DMC o dall'utilizzo di strumenti chirurgici contenenti nichel.

Attualmente si ritiene che in alcuni casi il nichel contenuto nell'acciaio delle clip utilizzate in neurochirurgia sia in grado di indurre dermatite da contatto sistemica o prurito diffuso<sup>26</sup>. Le clip metalliche cutanee contenenti nichel, inoltre, potrebbero rallentare la guarigione delle ferite chirurgiche nei soggetti sensibilizzati a nichel<sup>27</sup>.

I fili in acciaio che contengono nichel utilizzati in chirurgia (ad esempio, per la sternotomia) sono stati associati all'insorgenza di dolori e prurito nella sede dei fili. Istologicamente si è evidenziata una reazione sarcoidosica<sup>28</sup>.

Alcune patologie infettive, come l'osteonecrosi, sono state correlate con l'allergia al nichel presente nel materiale metallico utilizzato per la fissazione di segmenti ossei fratturati<sup>29</sup>.

Infine, l'impianto di DMC semi-permanenti, come i pace-maker, è stato segnalato come potenziale evento scatenante di reazioni allergiche da contatto in soggetti sensibilizzati a nichel<sup>30</sup>.

## Conclusione

L'associazione tra gli eventi avversi indotti da nichel e i DMC costituiti con questo metallo è ormai documentata. Il rischio di una reazione avversa da DMC sembra più evidente in ortopedia dove la frequenza di una reazione allergica a nichel, con rilevanza clinica, può raggiungere fino al 75% nei casi post-chirurgici.

In tempi recenti, anche sulla base della nostra esperienza, emerge pure un'associazione fra patologie infiammatorie del cavo orale e la presenza di restauri dentali contenenti tracce di nichel. Inoltre, l'esposizione a nichel in leghe dentali può avere un ruolo nello sviluppo di manifestazione cutanee sistemiche distanti dalla sede del contatto.

L'ortopedia e l'odontoiatria appaiono essere le branche della medicina dove l'allergologo deve approfondire l'indagine anamnestica e approfondire l'esame clinico obiettivo.

## Bibliografia

- Venugopalan R. Corrosion testing of stents: a novel fixture to hold entire device in deployed form and finish. *J Biomed Mater Res* 1999; 48: 829.
- Guidoin R, Marois Y, Douville Y, et al. First-generation aortic endografts: analysis of explanted stentor devices from the EUROSTAR Registry. *J Endovasc Ther* 2000; 7: 105.
- Baron TH. Expandable metal stents for the treatment of cancerous obstruction of the gastrointestinal tract. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1681.
- Perry MJ, Roodhouse AJ, Gidlow AB, et al. Thermo-expandable intraprostatic stents in bladder outlet obstruction: an 8-year study. *BJU Int* 2002; 90: 216.
- Gawkrodger DJ. Metal sensitivities and orthopaedic implants revisited: the potential for metal allergy with the new metal-on-metal joint prostheses. *Br J Dermatol* 2003; 148: 1089.
- Sunderman FW Jr, Hopfer SM, Swift T, et al. Cobalt, chromium, and nickel concentrations in body fluids of patients with porous-coated knee or hip prostheses. *J Orthop Res* 1989; 7: 307.
- Savarino L, Stea S, Granchi D, et al. Sister chromatid exchanges and ion release in patients wearing fracture fixation devices. *J Biomed Mater Res* 2000; 50: 21.
- Stea S, Visentin M, Granchi D, et al. Sister chromatid exchange in patients with joint prostheses. *J Arthroplasty* 2000; 15: 772.
- Faccioni F, Franceschetti P, Cerpelloni M, et al. In vivo study on metal release from fixed orthodontic appliances and DNA damage in oral mucosa cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 124: 687.
- Gimenez-Arnau A, Riambau V, Serra-Baldrich E, et al. Metal-induced generalized pruriginous dermatitis and endovascular surgery. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 35.
- Saito K. Analysis of a genetic factor of metal allergy-polymorphism of HLA-DR, -DQ gene. *Kokubyo Gakkai Zasshi* 1996; 63: 53.
- Ikaheimo I, Tiilikainen A, Karvonen J, et al. HLA-DQA1 and DQB1 loci in nickel allergy patients. *Int Arch Allergol Immunol* 1993; 100: 248.
- Vollmer J, Weltzien HU, Gamedinger K, et al. Antigen contacts by Ni-reactive TCR: typical alpha chain cooperation versus alpha chain-dominated specificity. *Int Immunol* 2000;12:1723.
- Emtestam L, Zetterquist H, Olerup O. HLA-DR, -DQ and -DP alleles in nickel, chromium, and/or cobalt-sensitive individuals: genomic analysis based on restriction fragment length polymorphisms. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 271.
- Pigatto PD, Guzzi G, Arancio L. Ruolo dell'allergia a nichel nelle patologie del cavo orale. 3° Congresso Nazionale SIDAPA, Bari, 23-24 ottobre 2003.
- Lowey MN. Allergic contact dermatitis associated with the use of an Interlandi headgear in a patient with a history of atopy. *Br J Dermatol* 1993; 175: 67.
- Veien NK, Borchorst E, Hattel T, et al. Stomatitis or systemically-induced contact dermatitis from metal wire in orthodontic materials. *Contact Dermatitis* 1994; 30: 210.
- Kerouso H, Kanerva L. Systemic contact dermatitis caused by nickel in a stainless steel orthodontic appliance. *Contact Dermatitis* 1997; 36: 112.
- De Silva BD, Doherty VR. Nickel allergy from orthodontic appliances. *Contact Dermatitis* 2000; 42: 102.
- Wataha JC, O'Dell NL, Singh BB, et al. Relating nickel-induced tissue inflammation to nickel release in vivo. *J Biomed Mater Res* 2001; 58: 537.
- Mancuso G, Berdondini RM. Eyelid dermatitis and conjunctivitis as sole manifestations of allergy to nickel in an orthodontic appliance. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 245.
- Pigatto PD, Guzzi G. Systemic contact dermatitis to nickel associated with orthodontics appliances. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 100.
- Strauss FG, Eggleston DW. IgA nephropathy associated with dental nickel alloy sensitization. *Am J Nephrol* 1985; 5: 395.
- Koster R, Vieluf D, Kiehn M, et al. Nickel and molybdenum contact allergies in patients with coronary in-stent restenosis. *Lancet* 2000; 356: 1895.
- Hillen U, Haude M, Erbel R, et al. Evaluation of metal allergies in patients with coronary stents. *Contact Dermatitis* 2002; 47: 353.
- Ross IB, Warrington RJ, Halliday WC. Cell-mediated allergy to a cerebral aneurysm clip: case report. *Neurosurgery* 1998; 43: 1209.
- Lhotka CG, Szekeres T, Fritzer-Szekeres M, et al. Are allergic reactions to skin clips associated with delayed wound healing? *Am J Surg* 1998; 176: 320.
- Gordon PM, Buxton PK, McLaren KM, et al. Sensitivity to sternotomy wires may cause postoperative pruritus. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1514.
- Hake DH, Holte D, Thobe SA. Osteonecrosis secondary to internal fixation. *J Foot Surg* 1992; 31: 186.
- Landwehr AJ, van Ketel WG. Pompholyx after implantation of a nickel-containing pacemaker in a nickel-allergic patient. *Contact Dermatitis* 1983; 9: 147.

## Allergia agli additivi della gomma ed al lattice in parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci

Caterina Foti<sup>1</sup>, Valentina Scrimieri<sup>1</sup>, Monica Corazza<sup>2</sup>, Massimo Gola<sup>3</sup>, Francesca Giusti<sup>4</sup>, Stefania Seidenari<sup>4</sup>, Luca Stingeni<sup>5</sup>, Paolo Lisi<sup>5</sup>, Fabrizio Guarneri<sup>6</sup>, Rossano Hermes Valsecchi<sup>7</sup>, Nicola Balato<sup>8</sup>, Antonio Cristaudo<sup>9</sup>, Paolo Daniele Pigatto<sup>10</sup>, Rosella Gallo<sup>11</sup>, Donatella Schena<sup>12</sup>, Eustachio Nettis<sup>13</sup>, Vito Ingordo<sup>14</sup> e Gianni Angelini<sup>1</sup>

**Riassunto.** *Introduzione:* i parrucchieri rappresentano una categoria professionale ad alto rischio di sviluppare dermatite allergica da contatto (DAC) a causa della prolungata esposizione cutanea, nel corso dell'attività lavorativa, a sostanze notevolmente irritanti e sensibilizzanti. Ciò rende necessario l'uso di guanti protettivi in gomma sintetica o in lattice naturale, anch'essi potenzialmente allergizzanti per la presenza sia di antiossidanti o additivi utilizzati come acceleranti del processo di vulcanizzazione della gomma, sia di antigeni proteici, rilasciati in particolare dal lattice naturale. *Obiettivo:* lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la prevalenza della sensibilizzazione agli additivi della gomma ed al lattice in una popolazione di parrucchieri con eczema delle mani e/o degli avambracci. *Materiali e metodi:* dal marzo 2003 al novembre 2004 sono stati reclutati 170 parrucchieri afferenti a 14 Centri italiani di Dermatologia allergologica. I pazienti sono stati tutti sottoposti a patch test con serie standard SIDAPA, serie gomma, serie parrucchieri e lattice, e prick test con lattice. *Risultati:* il più alto numero di positività ai patch test è stato riscontrato per: nichel solfato (37,1%), *p*-fenilendiamina (36,5%), ammonio persolfato (16,5%), disperso arancio 3 (14,7%), *p*-toluendiamina solfato (14,7%). L'allergia ritardata agli apteni della gomma era presente nel 21,7% dei soggetti presi in esame, con il più alto numero di positività per carba mix, tiurami mix e difenilguanidina. L'allergia IgE-mediata alle proteine del lattice interessava il 12,5% dei 136 parrucchieri in cui è stato eseguito il prick test con lattice. *Conclusioni:* i risultati del nostro studio confermano che nei parrucchieri la DAC rappresenta l'affezione cutanea più frequente, essendo presente nel 54,1% dei soggetti presi in esame. L'allergia immediata alle proteine del lattice è rilevante (12,5%): fattore di rischio per il suo sviluppo sembra essere un'alta frequenza d'esposizione al contatto con il lattice.

**Parole chiave:** dermatite da contatto professionale, allergia da contatto, allergia immediata, additivi della gomma, lattice, parrucchieri.

**Summary.** *Prevalence of sensitivity to rubber additives and latex in hairdressers with hand and/or forearm contact dermatitis. Background:* hairdressers have a high risk to develop allergic contact dermatitis (ACD) because of long-term exposure to irritating and sensitizing substances. Therefore, it is necessary to protect skin with chemical rubber or natural rubber latex gloves, which can cause allergy due to the presence of antioxidant or vulcanizing additives, and natural rubber latex proteins. *Objective:* the aim of this study was to verify the prevalence of sensitivity to rubber additives and latex in a population of hairdressers with hand and/or forearm contact dermatitis. *Materials and methods:* from March 2003 to November 2004, a total of 170 hairdressers were studied in 14 Allergologic Dermatologic Italian Centers with the following screening: SIDAPA standard series patch test, rubber series, hairdressers series plus latex, and skin prick test with latex. *Results:* the following substances gave the highest number of positive patch test reaction: nickel sulphate (37.1%), paraphenyldiamine (36.5%), ammonium persulphate (16.5%), disperse orange 3 (14.7%), paratoluendiamine sulphate (14.7%). Rubber additives delayed allergy occurred in 21.7% of subjects, with a higher number of positive reaction for carba mix, thiuram mix and diphenylguanidine. Latex proteins IgE-related allergy was observed in 12.5% of

<sup>1</sup>Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Medicina interna, Immunologia e Malattie infettive, Università di Bari; <sup>2</sup>Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Medicina clinica e sperimentale, Università di Ferrara; <sup>3</sup>U.O. di Dermatologia allergologica, Dipartimento di Scienze dermatologiche, Università di Firenze; <sup>4</sup>Clinica dermatologica, Università di Modena e Reggio Emilia; <sup>5</sup>Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venerologica, Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche e Sanità pubblica, Università di Perugia; <sup>6</sup>Istituto di Dermatologia, Università di Messina; <sup>7</sup>U.O. di Dermatologia e Medicina del lavoro, Azienda ospedaliera, Ospedali riuniti di Bergamo; <sup>8</sup>Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Patologia sistematica, Università di Napoli Federico II; <sup>9</sup>Istituto dermatologico San Gallicano, IFO - IRCSS, Roma; <sup>10</sup>Istituto di Scienze Dermatologiche, IRCSS, Università di Milano; <sup>11</sup>Clinica dermatologica, Università di Genova; <sup>12</sup>U.O. di Clinica dermatologica, Università di Verona; <sup>13</sup>Sezione di Allergologia, Dipartimento di Medicina interna, Immunologia e Malattie infettive, Università di Bari; <sup>14</sup>Reparto di Dermatologia, Ospedale Principale Marina Militare, "Giulio Venticinque", Taranto.  
Prof.ssa Caterina Foti, Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Medicina interna, Immunologia e Malattie infettive, Policlinico, Piazza Giulio Cesare 11, 70124 Bari (e-mail: c.foti@dermatologia.uniba.it).  
Accettato per la pubblicazione il 15 marzo 2005

136 hairdressers who were skin prick tested with latex. *Conclusions:* the results confirm that ACD, which occurred in 54.1% of evaluated subjects, is the most frequent cause of cutaneous disease in hairdressers. Latex proteins Ig-E related allergy is considerable (12.5%): high frequency contact exposure to latex seems to be a risk factor for the development of latex allergy in these workers.

**Key words:** occupational contact dermatitis, contact allergy, IgE-related allergy, rubber additives, latex, hairdressers.

## Introduzione

La dermatite da contatto (DC) delle mani nei parrucchieri costituisce una patologia occupazionale di frequente osservazione. A differenza di quella riscontrata in altre categorie professionali, quest'affezione tende ad insorgere all'inizio dell'attività lavorativa: diversi studi, infatti, dimostrano che la maggior parte dei pazienti sono giovani apprendisti<sup>1-3</sup>.

I fattori che predispongono all'insorgenza dell'affezione sono endogeni, come ad esempio l'eczema atopico, ed esogeni, come l'eccessiva umidità e macerazione cui sono costrette le mani, in associazione al frequente e prolungato contatto con agenti irritanti e sensibilizzanti, quali *para*-fenilendiamina (PFD), glicerilmonotioiglicolato (GMTG), ammonio persolfato, profumi e sostanze presenti nei guanti protettivi di gomma. Questi ultimi sono spesso utilizzati dai parrucchieri nel corso dell'attività lavorativa quando è già insorta la dermatite delle mani; ciò predispone allo sviluppo di allergia nei confronti degli apteni contenuti nella gomma.

L'allergia da contatto alla gomma può essere IgE-mediata nei confronti delle proteine del lattice, come heveina e proheveina. Lo sviluppo della reazione è favorito dalla polvere a base di amilosio, amilopectina, ossido di magnesio e fosfato di calcio, presente all'interno di alcuni tipi di guanti in lattice. Le reazioni IgE-mediate si manifestano più frequentemente con orticaria localizzata alle mani; è possibile anche l'evenienza di manifestazioni cutanee generalizzate per contatto diretto o aero-mediato (orticaria generalizzata, edema angioneurotico del volto, rino-congiuntivite) e di manifestazioni sistemiche (asma, shock anafilattico). Fra i fattori favorevoli l'allergia al lattice prevalgono l'atopia, una preesistente DC delle mani e, soprattutto, la elevata frequenza dei contatti.

I guanti di gomma possono anche provoca-

re reazioni di ipersensibilità ritardata cellulo-mediata, indotte da sostanze impiegate nella lavorazione della gomma. Tra queste sono da ricordare gli antiossidanti (PFD), gli acceleranti il processo di vulcanizzazione, quali sostanze del gruppo mercapto (come mercaptobenzotiazolo e *n*-cicloesilbenzotiazilsulfenamide), del gruppo tiuramico (tetrametiltiuramdisolfuro, tetraetiltiuramdisolfuro), del gruppo carbamati (difetilguanidina, *bis*-dibutilditiocarbamato di zinco) e le tiouree (difentilurea)<sup>4</sup>.

L'allergia da contatto agli additivi della gomma può insorgere primitivamente oppure può aggravare una preesistente dermatite eczematosa da altre cause. Le manifestazioni cliniche sono di solito confinate alla superficie dorsale delle mani, alle articolazioni metacarpo-falangee, alle eminenze tenari ed ipotenari, ai polsi ed alle regioni distali degli avambracci.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la prevalenza della sensibilizzazione agli additivi della gomma ed al lattice in una popolazione di parrucchieri con DC delle mani e/o degli avambracci, afferenti alle Unità operative di Dermatologia allergologica di 14 Centri italiani: Bari (sezione di Dermatologia e sezione di Allergologia), Bergamo, Ferrara, Firenze, Genova, Messina, Milano, Modena, Napoli, Perugia, Roma (San Gallicano), Taranto e Verona.

## Materiali e metodi

Dal marzo 2003 al novembre 2004 sono stati arruolati 170 pazienti di età compresa tra 13 e 75 anni (età media: 30,3 anni), così distribuiti: 24 maschi (età compresa tra 18 ed 66 anni) e 146 femmine (età compresa tra 13 ed 75 anni). I pazienti in esame svolgevano la professione di parrucchiere da un minimo di 1 mese ad un massimo di 50 anni e presentavano o avevano pre-

sentato DC delle mani e/o degli avambracci, in tutti comparsa dopo l'inizio dell'attività lavorativa. Tutti i soggetti hanno partecipato allo studio dopo adeguata ed esaustiva informazione sulle modalità e procedure del protocollo.

In tutti i casi è stata compilata una scheda di raccolta dati anagrafici ed anamnestici (tabella I). Particolare attenzione è stata volta alla valutazione della dermatite delle mani in atto o preesistente, alle sue caratteristiche cliniche (acuta ed essudante, cheratosico-fissurata, xerotico-desquamativa, disidrosiforme) ed all'interessamento di altre sedi cutanee. All'anamnesi i pazienti hanno fornito dati relativi alla loro professione (durata, tipo di mansione svolta, relazione temporale tra comparsa della DC ed inizio dell'attività lavorativa), all'eventuale miglioramento dei sintomi nei periodi di astensione dal lavoro, alla tipologia dei guanti utilizzati (latice naturale, vinile, polietilene), al numero di ore di loro utilizzo per giorno e per settimana, e all'impiego di mezzi protettivi indossati sotto i guanti di gomma, quali guanti di cotone, creme o schiume barriera, o di sostanze emollienti. L'anamnesi allergologica mirava ad evidenziare uno stato di atopia, mediante la valutazione della presenza o della preesistenza di dermatite atopica, rino-congiuntivite e/o asma allergici.

I pazienti, inoltre, descrivevano i sintomi (prurito, bruciore, formicolio, riduzione della sensazione tattile), aggravati o meno dall'uso dei guanti.

In tutti i soggetti in esame sono stati eseguiti:

1. patch test con la serie standard SIDAPA;
2. patch test con le serie addizionali "parrucchieri" e "gomma" (Euromedical, Calolziocorte, Lecco - Chemotechnique Diagnostic, Malmö, Sweden) (tabella II);
3. patch test con latice (Euromedical, Calolziocorte, Lecco - Chemotechnique Diagnostic, Malmö, Sweden);
4. prick test con latice (Lofarma, Milano, Italia).

In presenza di positività al prick test con latice, è stato eseguito anche il prick test con alcuni alimenti che possono reagire in senso crociato con le proteine del latice, quali pomodoro, banana, kiwi, avocado, castagna.

La lettura dei patch test è stata eseguita dopo 48 h e le reazioni sono state valutate in accordo con i criteri raccomandati dalla SIDAPA<sup>5</sup>. Per la modalità d'esecuzione dei prick test, ci si è

attenuti alle linee guida suggerite dalla SIAIC<sup>6</sup>.

## Risultati

I dati clinico-anamnestici complessivi ed i risultati dei test cutanei eseguiti sono elencati nelle tabelle III-VIII.

I test epicutanei con la serie standard SIDAPA hanno evidenziato reazioni positive ad uno o più apteni in 122 casi (71,8%). I patch test con la "serie parrucchieri" hanno evidenziato reazioni positive in 54 casi (31,8%), mentre quelli con la "serie gomma" hanno fornito risultati positivi in 26 pazienti (15,3%). I principali allergeni responsabili di allergia da contatto sono riportati nelle tabelle V e VI.

Il prick test con il latice è risultato positivo in 17 dei 136 pazienti testati (12,5%). Le caratteristiche clinico-anamnestiche dei pazienti sensibilizzati al latice sono indicate nella tabella VII. In 8 pazienti (47,1%) con ipersensibilità IgE-mediata al latice sono risultati positivi i prick test con alimenti e, soprattutto, quelli con banana e kiwi. Il patch test con il latice, infine, è risultato positivo in un solo soggetto (0,6%) che, peraltro, ha mostrato reazione positiva anche al prick test con la stessa sostanza.

## Discussione

La DC occupazionale è una comune causa di tecnopatia professionale<sup>7</sup>. I parrucchieri hanno un alto rischio di sviluppare la DC irritante (DCI), verosimilmente in relazione all'eccessivo uso di detergenti o di altre sostanze irritanti. La DCI nei parrucchieri si manifesta normalmente con un quadro clinico di tipo xerotico-desquamativo o cheratosico-fissurato. Tali aspetti clinici sono quelli di più comune riscontro anche nella dermatite allergica da contatto (DAC) professionale, da cui la necessità di ricorrere ai test epicutanei, per distinguere le due patologie.

Nella nostra casistica risultano affetti da DAC professionale il 54,1% dei parrucchieri esaminati (tabella VIII). L'aptene più spesso positivo è risultato essere nichel solfato (37,1%), per il quale non sempre è facile stabilire la rilevanza professionale, data la sua ubiquità. Sicuramente responsabili di DAC profes-



Tabella II - Serie addizionale "Parrucchieri" e "Gomma" saggiate mediante patch test.

Serie parrucchieri	
<i>p</i> -Toluendiamina solfato 1%	
Glicerilmonotioiglicolato 2%	
Ammoniotioiglicolato 2%	
Ammonio persolfato 1%	
Disperso arancio 3 1%	
<i>o</i> -Nitro- <i>p</i> -fenilendiamina 1%	
Serie gomma	
Cicloesil-benzotiazilsulfenamide 1%	
Tetrametiltiuramdisolfuro 1%	
Carba mix 3%	
Dietilditiocarbamato di zinco 1%	
Dibutilditiocarbamato di zinco 1%	
Esametilentetramina 1%	
Difenilguanidina 1%	
Dibutiltiourea 1%	
Difeniltiourea 2%	
Diaminodifenilmetano 0,5%	
N,N1-difenil- <i>p</i> -fenilendiamina 1%	
Cicloesiltioftalidamide 1%	
Fenil-beta-naftilamina 1%	
Latex standard 10%	
Latex LAN/960 10%	
Tutti in vaselina	

Tabella III - Tipologia e modalità d'uso dei guanti in 170 parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci.

Tipo di guanto	
Lattice monouso con polvere	63,5%
Lattice naturale senza fodera	25,8%
Vinile	15,8%
Lattice monouso senza polvere	12,9%
Lattice naturale felpato	8,2%
Polietilene	7,0%
Mezzi di protezione sotto i guanti	
No	56,5%
Sì	43,5% di cui:
guanti di cotone	50%
creme emollienti	36,4%
creme barriera	27%
Modalità d'uso dei guanti	
Per più di 2h/dì	66,5%
Per meno di 2h/dì	33,5%
Per meno di 20 volte/settimana	60%
Per più di 20 volte/settimana	40%

sionale sono invece PFD (36,5%) e ammonio persolfato (16,5%), sostanze peraltro ancora molto utilizzate dai parrucchieri in quanto non facilmente sostituibili con altre a minore capacità sensibilizzante. La sensibilizzazione a *para*-toluendiamina solfato e disperso arancio 3, al contrario, è spesso concomitante con quella a PFD (nel 92,3% e nell'84% dei casi, rispet-

Tabella IV - Caratteristiche clinico-anamnestiche di 170 parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci.

Atopia	
No	61,2%
Sì	38,8%
Aspetto clinico delle mani	
Normale	13,6%
Patologico (eczema)	86,4%
Sintomatologia	
No	15,8%
Sì	84,2% di cui:
Prurito	94,4%
Bruciore	56%
Riduzione del tatto	16%
Formicolio	15,4%

Tabella V - Reazioni positive ai patch test osservate in 170 parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci.

Apteni	Reazioni positive	
	No.	%
Nichel solfato	63	37,1
<i>p</i> -Fenilendiamina	62	36,5
Ammonio persolfato	28	16,5
Disperso arancio 3	25	14,7
<i>p</i> -Toluendiamina solfato	25	14,7
Carba mix	10	5,9
Tiurami mix	10	5,9
Difenilguanidina	6	3,5
Euxyl K400®	5	2,9
Profumi mix	5	2,9
Ammonio tioglicolato	4	2,3
Dibutiltiourea	4	2,3
Mercaptobenzotiazolo	4	2,3
Benzocaina	3	1,8
Disperso giallo 3	3	1,8
Fenilisopropil- <i>p</i> -fenilendiamina	3	1,8
Glicerilmonotioiglicolato	3	1,8
N,N-difenil- <i>p</i> -fenilendiamina	3	1,8
Dibutilditiocarbamato di zinco	2	1,2
Dietilditiocarbamato di zinco	2	1,2
Kathon CG®	2	1,2
<i>o</i> -Nitro- <i>p</i> -fenilendiamina	2	1,2
Parabeni mix	2	1,2
Tetrametiltiuramdisolfuro	2	1,2
Cicloesiltioftalidamide	1	0,6
Latex LAN/960	1	0,6

tivamente), come già osservato da Lisi *et al*<sup>8</sup>.

Altre rilevanti positività ai patch test sono quelle a profumi mix (2,9%), ammonio tioglicolato (2,3%) e GMTG (1,8%). Degna di interesse è la marcata riduzione dell'incidenza dell'allergia a quest'ultima sostanza, contenuta nei liquidi per permanenti. E' stata ritenuta altamente sensibilizzante e responsabile di gravi quadri clinici, persistenti anche dopo lungo tempo dall'interruzione del contatto diretto, a causa

Tabella VI - Reazioni positive agli apteni della gomma osservate in 170 parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci.

Apteni	Reazioni positive	
	No.	%
Carba mix	10	5,9
Tiurami mix	10	5,9
Difenilguanidina	6	3,5
Dibutiltiourea	4	2,3
Mercaptobenzotiazolo	4	2,3
Fenilisopropil-p-fenilendiamina	3	1,8
N,N-difenil-p-fenilendiamina	3	1,8
Dibutilditiocarbamato di zinco	2	1,2
Dietilditiocarbamato di zinco	2	1,2
Tetrametiltiuramdisolfuro	2	1,2
Cicloesiltioftalidamide	1	0,6
Latex LAN/960	1	0,6

Tabella VII - Caratteristiche anamnestiche, cliniche ed allergologiche dei 17 pazienti positivi al prick test con lattice.

Tipo di guanto utilizzato	
Lattice monouso con polvere	70,6%
Altro (lattice monouso senza polvere, lattice naturale felpato, lattice naturale senza fodera, vinile, polietilene)	29,4%
Modalità d'uso dei guanti	
Per più di 2h/di	76,5%
Per meno di 2h/di	23,5%
Per più di 20 volte/settimana	58,9%
Per meno di 20 volte/settimana	41,1%
Contemporanea sensibilizzazione ad altre sostanze:	
88,2% dei pazienti sensibilizzati al lattice	
p-Fenilendiamina	76,4%
Ammonio persolfato	35,2%
Disperso arancio 3	29,4%
p-Toluendiamina solfato	29,4%
Nichel solfato	23,5%
Presenza di eczema in atto:	
82,3% dei pazienti sensibilizzati al lattice	
Mani	76,5%
Mani e avambracci	23,5%
Atopia	
Sì	58,9%
No	41,1%

della contaminazione dei piani di lavoro e della sua persistenza per vari mesi nei capelli, insieme ai suoi prodotti di metabolizzazione, con conseguente rilascio durante gli shampoo. Nel 1989 la sensibilizzazione a GMTG nei parrucchieri era del 37,9% e nel 1992 dell'11,3%<sup>9</sup>. La ridotta frequenza di reazioni positive a GMTG potrebbe essere imputabile alla minore

Tabella VIII - Diagnosi definitiva in 170 parrucchieri con dermatite da contatto delle mani e/o degli avambracci.

Diagnosi	No.	%
DAC professionale	79	46,5
DAC professionale + allergia immediata al lattice*	13	7,6
DAC extraprofessionale	39	22,9
DAC extraprofessionale + allergia immediata al lattice*	2	1,2
DCI professionale	33	19,4
DCI professionale + allergia immediata al lattice*	1	0,6
DCI extraprofessionale	2	1,2
Orticaria da lattice*	1	0,6

## Conclusioni diagnostiche:

DAC professionale	92	54,1
DAC extraprofessionale	41	24,1
DCI professionale	34	20,0
DCI extraprofessionale	2	1,2
Orticaria da lattice	1	0,6
Allergia immediata al lattice*	17	12,5

DAC = dermatite allergica da contatto; DCI = dermatite da contatto irritante; \* = nei 136 pazienti testati con prick test con lattice

richiesta di permanenti da parte dell'utenza: uno studio epidemiologico condotto in Piemonte sui rischi da sostanze chimiche nelle acconciature per capelli, infatti, ha dimostrato che i liquidi per permanenti rappresentano solo il 5% dei prodotti cosmetici utilizzati nei saloni di acconciatura italiani<sup>10</sup>.

Nella casistica da noi esaminata Kathon CG®, Euxyl K400® e parabeni mix sono risultati raramente responsabili di DAC, probabilmente per l'impermeabilità dei mezzi protettivi a queste sostanze.

L'alta incidenza di DC nei parrucchieri rende indispensabile l'uso dei guanti (in gomma o in lattice naturale). In uno studio non più recente sull'allergia da contatto alla gomma sintetica<sup>11</sup> questa era di origine professionale nel 70,4% dei casi ed era prevalentemente legata all'uso dei guanti. Gli addetti ai lavori domestici, di pulizia e cucina erano soggetti a maggior rischio, con un'incidenza di allergia da contatto ai guanti di gomma nel 44,1%, (ed in particolare ai tiurami). Seguivano i muratori (27,6%), quindi i meccanici, gli autisti, i contadini, gli infermieri e, infine, i parrucchieri, con un'incidenza di sensibilizzazione compresa tra l'8,3% ed il 3,1%. Una discreta quota di soggetti con allergia professionale alla gomma era rappresentata dagli addetti alla sua lavorazione.

Nei parrucchieri esaminati nel presente studio, l'incidenza di sensibilizzazione alla gom-

ma era abbastanza alta (21,7%), anche se inferiore a quella riscontrata in altre categorie professionali. Gli apteni più frequentemente in causa erano tiurami mix (5,9%), di cui solo il 20% positivo a tetrametiltiuramidisolfuro e carba mix (5,9%), di cui il 70% positivo ad uno o più dei suoi componenti e precisamente a difenilguanidina (40,0%), dietilditiocarbamato di zinco (20,0%) e dibutilditiocarbamato di zinco (10,0%). Viceversa, 2 pazienti positivi a difenilguanidina e 1 a dibutilditiocarbamato di zinco sono risultati negativi a carba mix. In alcuni pazienti erano pure positivi dibutiltiourea (2,3%), mercaptobenzotiazolo (2,3%), fenilisopropil-PFD e N,N-difenil-PFD (1,8%) (tabella V). Dalla stessa tabella emerge che i mercaptani avevano indotto reazioni positive solo nel 2,3% dei casi, a differenza di quanto osservato in altre casistiche<sup>11</sup>.

Il lattice naturale può essere responsabile anche di allergia immediata alle proteine in esso contenute. Per la valutazione dell'ipersensibilità immediata alle proteine del lattice è essenziale il prick test, eseguito con estratti commerciali o con estratti estemporanei ad opportuna diluizione. Al riguardo è anche valida la ricerca di immunoglobuline specifiche mediante RAST, che tuttavia presenta una sensibilità inferiore rispetto a quella del prick test.

Secondo diversi studi, l'incidenza dell'allergia al lattice è più alta nei pazienti con spina bifida (dal 10 al 60%), a causa dei numerosi interventi chirurgici a cui sono sottoposti sin dalle prime ore di vita, e negli operatori sanitari (dal 2,5% al 17%), per l'esposizione continua al lattice. In ambiente non sanitario, invece, l'incidenza dell'allergia al lattice è sensibilmente più bassa, ma non tra gli addetti alla manipolazione ed alla lavorazione dei generi alimentari (17,1%). Essa è pari a 6,6% tra i muratori, 6,2% tra i verniciatori e 3,8% tra gli addetti alle pulizie<sup>12</sup>. Tra i parrucchieri varia da poco più del 5% al 18% a seconda delle casistiche esaminate<sup>12-15</sup>. Nella nostra popolazione di parrucchieri il prick test con lattice è risultato positivo in 17 dei 136 pazienti testati e pertanto in una percentuale considerevole di soggetti (12,5%).

Alla luce dei dati clinico-anamnestici a disposizione, si può affermare che la modalità d'esposizione al contatto con il lattice è rilevante nel determinismo della sensibilizzazione alle proteine in esso contenute. In particolare un'alta frequenza settimanale di utilizzo

dei guanti in associazione ad un prolungato uso giornaliero, incidono positivamente sullo sviluppo della sensibilizzazione al lattice nei parrucchieri. Infatti, il 58,9% di quelli positivi al prick test usava i guanti per più di 20 volte a settimana e il 76,5% di essi per più di 2 ore al giorno. Inoltre, l'uso di guanti in lattice monouso con polvere, cioè quelli utilizzati dal 70,6% dei pazienti positivi al prick, porterebbe alla veicolazione di particelle di lattice nell'ambiente da parte delle polveri a base di amilosio o amilopectina in essi contenute, favorendo l'insorgenza dell'allergia. L'allergia, inoltre, sarebbe agevolata dall'azione prolungata nel tempo di fattori irritanti associati alla costante macerazione della cute in acqua, caratteristica di questa professione. Ciò, probabilmente, facilita l'assorbimento di apteni rilasciati dai guanti di lattice, favorendo la comparsa della sensibilizzazione.

Il problema dell'allergia al lattice è particolarmente rilevante poiché la sostanza, benché meno influenzata dalla degradazione rispetto alle gomme sintetiche, è più vulnerabile alla permeazione delle sostanze, essendo un materiale naturale, soprattutto per tempi d'esposizione relativamente lunghi (superiori ai 15 min) ed a temperature piuttosto elevate, condizioni frequenti nell'attività quotidiana del parrucchiere. Tutto ciò potrebbe consentire a sostanze ad alto potere tensioattivo, oli, solventi, alcol e tinture di penetrare attraverso i guanti e favorire il rilascio di apteni proteici dal lattice<sup>16</sup>. I pazienti sensibilizzati al lattice spesso presentano una DAC che, infatti, nella nostra casistica interessa l'88,2% dei pazienti. Tale associazione, anche se non statisticamente significativa (Chi-quadro = 0,966; P = 0,3257), dimostra come il danneggiamento della barriera cutanea renda la cute più ricettiva all'assorbimento di apteni rilasciati dal lattice, e rappresenta, dunque, un fattore di rischio per lo sviluppo della sensibilizzazione al lattice<sup>17</sup>. Nel nostro studio, gli allergeni più frequentemente responsabili di DAC nei pazienti sensibilizzati al lattice, sono rappresentati dalla PFD (76,4%), ammonio persolfato (35,2%), disperso arancio 3 (29,4%), *para*-toluendiamina solfato (29,4%) e nichel solfato (23,5%). Un solo paziente positivo al prick con lattice è risultato positivo anche al patch test con la stessa sostanza.

L'atopia, nelle sue varie manifestazioni cliniche, rappresenta un discreto fattore di rischio

per lo sviluppo dell'allergia al lattice: il 58,9% dei nostri pazienti positivi al prick test con lattice aveva infatti anamnesi positiva per atopia.

E' da sottolineare, infine, che in tutti i parrucchieri sensibilizzati al lattice le manifestazioni si limitavano al sintomo prurito aggravato dall'uso dei guanti, senza una chiara evidenza di manifestazioni orticarioidi. Ciò può essere legato al coesistente eczema delle mani, in grado di mascherare l'espressione di tali lesioni. Pertanto, poiché nei parrucchieri sensibilizzati al lattice le manifestazioni cliniche possono essere sfumate, è opportuno eseguire routinariamente test in grado di svelare tale allergia. Inoltre, data la rilevante incidenza di allergia al lattice tra i parrucchieri, sarebbe opportuno consigliare l'utilizzo di guanti meno allergizzanti, come quelli in vinile, polietilene, neoprene o in materiali alternativi di recente introduzione, quale il lattice estratto da specie botaniche alternative ad *Haevea brasiliensis*, come *Parthenium argentatum* e *Ficus elastica*, contenenti minori quantità di proteine allergizzanti.

## Bibliografia

1. Majoie IM, von Blomberg BM, Bruynzeel DP. Development of hand eczema in junior hairdressers: an 8-year follow-up study. *Contact Dermatitis* 1996; 34: 243.
2. John SM, Uter W, Schwanz HJ. Relevance of multiparametric skin bioengineering in a prospectively-followed cohort of junior hairdressers. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 161.
3. Ling TC, Coulson IH. What do trainee hairdressers know about hand dermatitis? *Contact Dermatitis* 2002; 47: 227.
4. Francalanci S, Sertoli A. Dermatosi professionali nei principali settori lavorativi. Industria della gomma. In: Sertoli A (ed). *Dermatologia allergologica professionale ed ambientale*. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore, 1991; vol I: 296.
5. Angelini G, Grandolfo M, Cusano F, et al. Linee guida sulla diagnostica delle dermatiti da contatto. *G Ital Dermatol Venereol* 1990; 134: 521.
6. Diagnostica delle Allergopatie, Memorandum SIAIC. *Giorn It Allergol Immunol Clin* 1992; 2: 351.
7. Koch P. Occupational contact dermatitis: recognition and management. *Am J Clin Dermatol* 2001; 2: 353.
8. Lisi P, Hansel K, Cristaudo A, et al. Prevalenza della sensibilizzazione da contatto ad alcuni coloranti per capelli. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2001; 55: 29.
9. Guerra L, Tosti A, Bardazzi F, et al. Contact dermatitis in hairdressers: the Italian experience. Gruppo Italiano Ricerca Dermatiti da Contatto e Ambientali. *Contact Dermatitis* 1992; 26: 101.
10. Assessorato della Sanità-Regione Piemonte. Documento regionale sui rischi da sostanze chimiche in acconciatura. Novembre 2002.
11. Vena GA, Foti C, Angelini G. Allergia da contatto alla gomma: studio con le misture della gomma ed i loro componenti. *Boll Allergol Dermatol Profes* 1988; 3: 161.
12. Valks R, Conde-Salazar L, Cuevas M. Allergic contact urticaria from natural rubber latex in healthcare and non-healthcare workers. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 222.
13. Valsecchi R, Leghissa P, Pomesano A, et al. Orticaria da contatto professionale da lattice nei parrucchieri. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2002; 56: 17.
14. Nettis E, Dambra P, Soccio AL, et al. Latex hypersensitivity: relationship with positive prick test and patch test responses among hairdressers. *Allergy* 2003; 58: 57.
15. Valls A, Pascual CY, Caballero MT, et al. Latex allergy. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2004; 32: 295.
16. Ansell. Chemical Resistance Guide: permeation & degradation data (2003). [www.ansell-edmont.com/download/Ansell-7thEditionChemicalResistanceGuide.pdf](http://www.ansell-edmont.com/download/Ansell-7thEditionChemicalResistanceGuide.pdf)
17. Taylor JS, Praditsuwan P. Latex allergy: review of 44 cases including outcome and frequent association with allergic hand eczema. *Arch Dermatol* 1996; 132: 265.

## Le istruzioni stampate nella gestione dei pazienti con dermatite da contatto\*

Gabriella Fabbrocini<sup>1</sup>, Laura Adinolfi<sup>1</sup>, Nicola Balato<sup>1</sup>, Donatella Schena<sup>2</sup>, Monica Corazza<sup>3</sup>, Maria Letizia Musumeci<sup>4</sup> e Fabio Ayala<sup>1</sup>

**Riassunto.** *Obiettivo:* lo scopo di questo studio è stato quello di verificare il livello di utilità delle istruzioni stampate nella gestione di pazienti con dermatite da contatto afferenti presso diversi ambulatori nazionali di Dermatologia allergologica. Sono stati valutati, a distanza di tempo, i gradi di apprendimento e di memoria del paziente in riferimento alle informazioni ricevute e le variazioni della sintomatologia in base all'osservanza delle istruzioni. *Materiali e metodi:* lo studio è stato condotto attraverso un questionario in 400 soggetti selezionati in maniera random tra 4 diversi centri di Dermatologia allergologica delle seguenti città: Napoli, Catania, Ferrara e Verona. Ai pazienti sono state formulate una serie di domande, alcune delle quali relative all'utilità delle istruzioni stampate, alla frequenza di consultazione delle medesime, agli eventuali miglioramenti ottenuti in seguito all'osservanza delle istruzioni. *Risultati:* 2/3 dei pazienti hanno ritenuto utili le istruzioni stampate; avendole osservate con costanza, hanno tratto miglioramenti nell'andamento della loro patologia. Il ricordo-apprendimento di alcune informazioni, tra le quali ad esempio quelle relative agli oggetti ed ai materiali da evitare, è rimasto invariato anche a distanza di 5 anni dalla consegna delle istruzioni stampate. Le categorie che ricordano meno sono risultate quelle socialmente e culturalmente più deboli, in particolare gli anziani e coloro che possiedono un basso livello di istruzione. *Conclusioni:* le istruzioni stampate hanno dimostrato un'evidente utilità nei pazienti intervistati, la maggioranza dei quali ha tratto soddisfacenti benefici dall'osservanza delle regole in esse contenute. Questo particolare canale di contatto con il medico è accettato da quasi tutti i pazienti, per cui è auspicabile una maggiore diffusione di questo tipo di informazione e di educazione e un miglioramento della presentazione di tali istruzioni al fine di raggiungere anche soggetti socialmente e culturalmente più deboli.

**Parole chiave:** foglio istruzione, questionario, dermatite allergica da contatto, patch test, follow up.

**Summary.** *Printed instruction sheets in the management of patients with contact dermatitis. Objective:* the aim of this research was to verify the level of usefulness of the printed instruction sheets in the management of patients suffering from allergic contact dermatitis. We have estimated the level of knowledge and long term memory of the patients, concerning the pieces of information contained in the printed instructions. We wanted to establish if patients derived any improvement in symptoms by following the rules written in the instructions. *Materials and methods:* we started our research by asking 400 randomly selected patients, from the Italian cities of Naples, Catania, Ferrara and Verona to fill in a questionnaire. Patients were asked several questions concerning the usefulness of the printed instructions, how often they consulted them and if their compliance helped improve their condition. *Results:* about 75% of the patients considered the printed instructions useful; by observing the instructions regularly they reported improvements in the course of their disease. Some pieces of information concerning the objects and the materials to avoid, for example, have remained the same for 5 years, since the printed instructions were first received. We noted that the categories who remembered less information were older people and, above all, patients who were socially disadvantaged. *Conclusions:* the printed instruction sheets were useful for the majority of the patients, who derived satisfactory benefits from observing them; therefore we recommend that all physicians use this means of communication to give information. The language in the instruction sheets should be used friendly to make it accessible to people from all social groups.

**Key words:** printed instruction sheets, questionnaire, allergic contact dermatitis, patch test, follow up.

<sup>1</sup>Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Patologia sistematica, Università di Napoli Federico II; <sup>2</sup>U.O. di Clinica dermatologica, Azienda ospedaliera Istituti ospitalieri di Verona, Dipartimento di Scienze biomediche e chirurgiche, Università di Verona; <sup>3</sup>Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Medicina clinica e sperimentale, Università di Ferrara; <sup>4</sup>Sezione di Dermatologia e venereologia, Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche, Università di Catania.

Prof. Fabio Ayala, Sezione di Dermatologia, Università di Napoli Federico II, Via S. Pansini 5, 80131 Napoli (e-mail: ayala@unina.it).

\* Studio condotto a cura del Gruppo di ricerca "Epidemiologia, biostatistica ed informatica" della Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e Ambientale (SIDAPA).

Accettato per la pubblicazione il 30 marzo 2005

## Introduzione

Le dermatiti da contatto (DC) sono processi infiammatori della cute, a eziologia mono- o multifattoriale, a patogenesi irritativa e/o immunitaria, rispettivamente denominate dermatite da contatto irritante (DCI) e dermatite allergica da contatto (DAC). Esse rappresentano un evento clinico molto frequente sia nell'ambiente lavorativo che extraprofessionale e sono causate dal contatto, in genere ripetuto, con agenti chimici, fisici o biologici. Le DC hanno spesso un decorso lungo e tormentato; la prevenzione riveste un ruolo fondamentale nel ridurre la frequenza di questa patologia e risulta essere uno dei mezzi più efficaci per la risoluzione definitiva di essa.

Il presente studio si è proposto di verificare il livello di utilità delle istruzioni stampate, come supporto informativo alla prevenzione delle DC, al fine di migliorare la gestione di questa patologia<sup>1-3</sup>. È stato valutato, a distanza di tempo, il grado di apprendimento e di memoria del paziente in riferimento alle informazioni contenute negli stampati. L'obiettivo è stato quello di stabilire in che misura l'utilizzo di informazioni scritte, volte a fornire chiarimenti sulla natura della DC e sulla gestione e prevenzione di essa, potesse aiutare il paziente a migliorare nel tempo la propria condizione, e se tale metodologia potesse essere uno strumento utile ad ottimizzare il rapporto medico-paziente<sup>4-7</sup>.

## Materiali e metodi

L'indagine è stata effettuata, contestualmente, in 4 città d'Italia: Napoli (città con l'unità di ricerca coordinatrice), Catania, Ferrara e Verona, in cui esistono unità di Dermatologia allergologica che collaborano con la Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e Ambientale (SIDAPA), omogenee nelle metodiche diagnostiche e nel trattamento di pazienti con DC, nonché nei fogli di istruzioni da rilasciare a coloro che, affetti da DAC, hanno effettuato patch test con risultato positivo nei confronti di uno o più apteni. Le istruzioni sui singoli apteni sono state elaborate e diffuse negli ultimi anni dal Consiglio Direttivo della SIDAPA.

Il campione esaminato è stato di 400 pazien-

ti. Come strumento primario, per reperire dati e informazioni, ci si è avvalsi di un questionario (tabella I) appositamente ideato, articolato in più sezioni, che ha consentito di intervistare un campione di soggetti selezionati in maniera random. Nella prima parte del questionario vengono richieste le generalità, il titolo di studio, l'attività lavorativa; nella seconda si indaga in maniera più specifica sui dati della patologia, ossia: sul tipo di aptene risultato positivo al patch test, sulla sua rilevanza e sugli anni trascorsi dalla prima diagnosi mediante patch test; nella terza parte, che rappresenta l'aspetto peculiare del presente lavoro, vengono formulate domande sull'utilità, secondo il paziente, delle istruzioni stampate fornitegli al termine delle prove allergologiche, sulla frequenza di consultazione delle medesime, sulle informazioni acquisite dai pazienti mediante le istruzioni stampate riferite agli oggetti da evitare per prevenire le ricadute della malattia, sulla conoscenza - dovuta ai fogli informativi - degli apteni a cui si è allergici e dei materiali in cui sono presenti, sull'influenza delle istruzioni stampate nella gestione della DC. Infine, nell'ultima sezione del questionario, si chiede al paziente di suggerire eventuali modifiche da apportare per rendere più utili e consultabili le istruzioni stampate che gli sono state fornite. Il questionario è stato compilato dai pazienti in tutte le sue parti e quindi restituito al medico.

### *Analisi statistica*

È stata effettuata un'analisi univariata e delle tavole di contingenza, utili strumenti di analisi descrittiva che forniscono diverse misure di associazioni tra 2 variabili con le rispettive modalità. È stata poi condotta una regressione logistica binaria che è usata per situazioni in cui si vuole prevedere la presenza o l'assenza di una modalità o conoscere il risultato di un'analisi basata su variabili di previsione. I coefficienti della regressione logistica possono essere utilizzati per stimare l'odds ratio (l'indice che rapporta la probabilità del verificarsi di una modalità sulla probabilità contraria della variabile indipendente) per ognuna delle variabili indipendenti nel modello.

La variabile dipendente era nel 1° modello rappresentata dal ritenere utili le istruzioni oppure no, mentre nel 2° modello era rappresentata dal miglioramento o non della sintomato-

Tabella I - Questionario.

---

**Cognome e nome** (iniziali)        **Età**       **Sesso** M  F

**Stato civile:** celibe/nubile ;      coniugato/a ;      altro

**Titolo di studio:**  
 scuola elementare       licenza media       diploma scuola superiore   
 laurea       altro

**Attività lavorativa** \_\_\_\_\_

**Apteni positivi al patch test:** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**Diagnosi:**  
 DAC (positività rilevante)       DAC (senza positività rilevante)

**Quanti anni fa ha effettuato i patch test?**  
 1  2  3  4  5  più di 5

**Ritiene utili le istruzioni scritte fornite al termine delle prove allergiche?**  
 Molto  abbastanza  poco  per niente

**Dal momento in cui le ha ricevute, quante volte le ha consultate?**  
 Molte  abbastanza  poche  mai

**Ricorda quali sono i principali oggetti o materiali (indicati nelle istruzioni scritte) da evitare per prevenire le ricadute della malattia?**  
 Sì  no

**Se sì, quanto?**  
 Molto  abbastanza  poco

**Quale aspetto dei fogli informativi ricorda maggiormente? (anche più di una risposta)**

Come si può guarire dall'allergia      sì  no

Qual'è l'aptene (la sostanza) a cui è allergico/a      sì  no

Dove si trova l'aptene (la sostanza) a cui è allergico/a      sì  no

**L'osservanza delle istruzioni scritte ha modificato l'andamento della dermatite da contatto?**  
 No  non saprei  sì, poco  sì, molto

**Quali modifiche suggerisce per rendere più utili le istruzioni stampate che ha ricevuto?**  
 Nessuna   
 Le seguenti \_\_\_\_\_

---

logia. Le variabili indipendenti inserite nel 1° modello erano: l'età, il sesso, il titolo di studio, la professione, gli apteni positivi al patch test, la diagnosi, gli anni trascorsi dal patch test, il ricordo degli oggetti o materiali da evitare, il ricordo di come si possa guarire dall'allergia, la conoscenza dell'aptene a cui si è allergici e dove esso si trovi, i possibili miglioramenti dell'andamento della DAC in seguito all'osservanza delle istruzioni stampate e infine gli eventuali suggerimenti del paziente per

rendere più efficienti le istruzioni stampate. Le variabili indipendenti inserite nel 2° modello erano: l'età, il sesso, il titolo di studio pos-seduto, la professione, gli apteni positivi al patch test, la diagnosi, gli anni trascorsi dal patch test, quanto siano utili le istruzioni stampate, il ricordo degli oggetti o materiali da evitare, la conoscenza dell'aptene a cui si è allergici e dove esso si trovi, i possibili miglioramenti dell'andamento della DAC in seguito all'osservanza delle istruzioni stampate e infine

gli eventuali suggerimenti del paziente per rendere più efficienti le istruzioni stampate.

L'analisi statistica è stata condotta con SPSS II 2003.

## Risultati

Il campione, costituito da 400 soggetti, 132 maschi e 268 femmine, tra i 4 e gli 82 anni, presentava un'età media di 42 anni, con una deviazione standard di 17. Per i soggetti con età inferiore a 14 anni all'epoca dell'esecuzione del patch test il questionario è stato compilato da uno dei genitori, di norma la madre.

Il 63,3% dei soggetti intervistati era coniugato. Il grado di istruzione era medio-alto, con la maggioranza dei pazienti (41%) che possiede un diploma di scuola media superiore. Rispetto all'attività professionale, al primo posto tra coloro che hanno effettuato patch test figurano le casalinghe. I risultati dell'indagine mostrano che il 67% del campione intervistato ritiene che le istruzioni fornite fossero abbastanza utili, a prescindere dai tempi decorso dall'esecuzione dei patch test. Se il campione viene stratificato per la variabile sesso, si vede che 2 donne contro 1 maschio si ritengono soddisfatte dell'ausilio del supporto cartaceo; in relazione all'età risulta, invece, un accordo quasi totale sulla funzionalità delle istruzioni. Considerando le diverse categorie lavorative, la maggioranza di esse ha espresso un parere positivo sulle informazioni da osservare; soltanto nella categoria dei pensionati il 14% ha ritenuto che tali informazioni fossero poco utili.

Dai risultati riportati nella tabella II, che pone in relazione il titolo di studio con il grado di utilità riscontrata nell'utilizzo delle istruzioni, emerge che, al crescere del titolo di studio, corrisponde la convinzione sempre più

marcata dell'utilità degli stampati. Inoltre, coloro che li hanno ritenuti utili hanno consultato con maggiore frequenza. I pazienti con un basso titolo di studio, invece, avevano consultato poco o per niente le istruzioni stampate.

Nel campione esaminato il 42% dei pazienti, con età inferiore a 30 anni, aveva effettuato gli ultimi patch test da un anno; tale tempo diveniva più lungo nei soggetti di età superiore a 30 anni.

Alle domande tendenti a verificare il numero dei pazienti che ricordavano gli oggetti e i materiali da evitare per prevenire il manifestarsi dell'allergia, l'aptene a cui erano allergici, nonché dove esso si trovasse, la percentuale delle risposte positive è molto elevata, indipendentemente dagli anni trascorsi dall'ultimo patch test. Ciò indicherebbe, quindi, che le informazioni apprese correttamente vengono poi ricordate nel tempo.

Le maggiori titubanze riguardano le modalità di guarigione dall'allergia, come illustrato nella tabella III.

Tabella III - *Tavola di contingenza: "Anni trascorsi dagli ultimi patch test" in relazione alla variabile "Ricorda come si può guarire dall'allergia".*

Anni dall'ultimo patch test	Ricorda come guarire (%)		
	sì	no	nessuna risposta
1	52,5	41,5	6,0
2	51,9	28,8	19,3
3	37,3	31,4	31,3
4	63,6	27,3	9,1
5	77,8	11,1	11,1
> 5	27,8	44,4	27,8
Totale	50,2	35,0	14,8

Tra le categorie professionali del campione esaminato, i pensionati sono quelli che più difficilmente ricordavano gli oggetti o i materiali da evitare. Le categorie professionali

Tabella II - *Tavola di contingenza: utilità dell'utilizzo delle istruzioni stampate, secondo giudizio del paziente, rispetto al titolo di studio.*

Utilità istruzioni	Titolo di studio indicato (%)				
	Elementare	Licenza media	Scuola superiore	Laurea	Nessuno
Molto	11,1	26,7	46,7	13,3	2,2
Abbastanza	14,8	31,2	43,9	8,5	1,6
Poco	32,4	35,2	24,3	-	8,1
Per niente	42,8	28,6	28,6	-	-
Totale	18,0	30,7	41,0	7,8	2,5

che non ricordavano come guarire dall'allergia sono molte e non rientravano necessariamente tra i pazienti con livelli culturali bassi. Si sono evidenziati, al riguardo, molti casi tra coloro che possedevano la licenza media o il diploma di scuola superiore. Ad ogni modo, rispetto alla domanda riguardante l'aptene al quale si era allergici, la percentuale più alta di persone che non ricordavano la sua corretta denominazione apparteneva a coloro che avevano un'istruzione elementare (tabella IV).

Dallo studio della regressione logistica (tabella V), il valore dell'odds ratio evidenzia che la probabilità di ritenere utili le istruzioni è

Tabella IV - Tavola di contingenza: "ricorda a quale aptene è allergico" secondo il titolo di studio.

Titolo di studio	Ricorda a quale aptene è allergico (%)		
	sì	no	nessuna risposta
Elementare	72,0	22,0	6,0
Licenza media	81,7	12,6	5,7
Scuola superiore	85,3	6,9	7,8
Laurea	95,5	-	4,5
Totale (%)	81,6	11,3	7,1

pari tra chi ha una positività rilevante e chi ha una positività non rilevante e si evidenzia che né il sesso, né il titolo di studio, né la professione, né gli anni trascorsi dall'ultimo test modificano in maniera statisticamente significativa (5% di significatività ricercata mediante il test di Wald) il ritenere utili o meno le istruzioni stampate. Rispetto alla domanda sulle eventuali modifiche dell'andamento della DC conseguenti all'osservanza delle istruzioni stampate, il 67,1% dei pazienti ha affermato di aver ottenuto, anche se con gradi diversi, miglioramenti.

Nella regressione logistica (tabella VI) si evidenzia che il titolo di studio rappresenta un fattore importante ai fini del ritenere che l'osservanza delle istruzioni stampate abbia modificato l'andamento della DC (significatività <0,05 al test di Wald); le altre variabili considerate (sesso e anni trascorsi dall'ultimo patch test) non sono risultate invece statisticamente significative. Nella categoria dei laureati si riscontra la percentuale più alta di coloro che hanno risposto di aver ottenuto miglioramenti seguendo le istruzioni; sono quindi le categorie dei liberi professionisti e

Tabella V - Regressione logistica per i pazienti affetti da dermatite allergica da contatto con variabile dipendente "Ritiene utili le istruzioni".

Ritiene utili le istruzioni		Odds ratio	95% I. C.	Test di Wald
Sesso	Maschi	14,321	12,8 - 15,8	341,748
	Femmine	13,877	13,9 - 13,9	-
Titolo di studio	Elementare	18,992	17,2 - 20,8	417,282
	Media	17,962	15,9 - 19,9	316,091
	Superiore	17,666	17,7 - 17,7	-
Professione	Casalinghe	18,716	16,9 - 20,5	434,023
	Operai	18,533	16,3 - 20,8	260,750
	Pensionati	20,405	20,4 - 20,4	-
	Impiegati	- 1	0,368 - 0,368	-
Esito patch test	Positivo	-21,333	24,7 - 24,7	-
	Negativo	- 0,768	6,27 - 1,4	0,482
Diagnosi	Positività rilevante	18,080	15,9 - 20,2	272,833
	No positività rilevante	18,089	18,1 - 18,1	-
Anni trascorsi dall'ultimo test	1	16,938	14,1 - 19,8	138,249
	2	19,258	16,9 - 21,5	277,094
	3	- 2	0,135 - 0,135	-
	4	18,234	15,4 - 21,1	158,488
	5	- 1	0,368 - 0,368	-
	> 5	18,992	18,9 - 18,9	-
Modifiche dall'osservanza delle istruzioni	No	19,405	16,9 - 21,9	235,177
	Non saprei	17,656	15,2 - 20,1	203,436
	Si, poco	17,030	14,6 - 19,4	190,109
	Si, molto	17,172	17,2 - 17,2	-

Tabella VI - *Regressione logistica della variabile dipendente "L'osservanza delle istruzioni scritte ha modificato l'andamento della dermatite da contatto" nei pazienti affetti da dermatite allergica da contatto.*

Modifiche avvenute in seguito all'osservanza delle istruzioni		Odds ratio	95% I. C.	Test di Wald	P
Sesso	Maschi	15,897	15,3 – 16,5	2911,495	-
	Femmine	15,276	15,3 – 15,3		-
Titolo di studio	Elementare	- 1,843	5,7 – 0,2	3,038	0,081
	Media	- 1,290	5,6 – (-0,04)	4,018	0,045
	Superiore	- 2,093	6,1 – 0,5	2,025	0,155
	Laurea	-20,476	5,04 – (-0,01)	3,905	0,048
Anni trascorsi dall'ultimo test	1	-19,807	25,1 – 22,8	1155,484	-
	2	-19,593	25,2 – 18,5	976,902	-
	3	-19,421	20,8 – 18,6	960,378	-
	4	-20,603	23,9 – 22,3	773,298	-
	5	-20,291	23,8 – 18,5	424,820	-

dei dirigenti ad aver ottenuto, a loro giudizio, i risultati più soddisfacenti. Le donne hanno ottenuto i migliori risultati dall'osservanza delle istruzioni; gli uomini, invece, non sempre sono stati in grado di esprimere un giudizio sull'evoluzione dell'allergia in rapporto alle istruzioni fornite.

Anche nel caso in cui l'osservanza delle istruzioni scritte non ha modificato sensibilmente l'andamento della DC, la fiducia nell'utilità delle istruzioni rimane comunque molto alta. Di conseguenza, nei casi di miglioramenti della dermatite per l'osservanza delle istruzioni, le risposte tendono quasi all'unanime accordo sulla loro utilità.

Alla richiesta di proporre modifiche per rendere più utili le istruzioni, il 70% dei pazienti non ha dato alcuna risposta. Tra coloro che hanno fornito dei suggerimenti, in alcuni si evidenzia la necessità di notizie più dettagliate sui prodotti a cui si è allergici e sui nomi e sulla reperibilità di quelli anallergici; in altri rimane determinante il rapporto tra medico e paziente.

## Discussione

La prevenzione riveste un ruolo fondamentale nel ridurre la frequenza delle DC<sup>7-11</sup>. Importanti mezzi di prevenzione sono le creme barriera, i detergenti appropriati, l'uso di guanti e vestiti protettivi e soprattutto l'educazione del paziente attraverso l'utilizzo di istruzioni stampate come supporto informativo.

Attualmente i dati della letteratura sugli effetti protettivi delle creme barriera non sono concordi; unanime è invece la convin-

zione che, nei pazienti affetti da DC, l'educazione e l'istruzione abbiano un'importanza notevole nel far regredire questa patologia<sup>12,13</sup>. Dal presente studio è emerso che 2/3 dei pazienti intervistati ritengono utili le istruzioni stampate fornite loro, in quanto convinti di aver ottenuto miglioramenti dall'osservanza delle indicazioni ricevute. La convinzione sull'utilità delle istruzioni stampate è direttamente proporzionale alla cultura ed al titolo di studio di ogni soggetto. Infatti, nessun laureato ritiene che non siano utili le istruzioni stampate, mentre la percentuale di coloro che non ritengono utili le istruzioni stampate comincia a crescere con il diminuire del livello culturale e del titolo di studio.

Ai soggetti intervistati è stato chiesto se ricordassero l'aptene al quale erano allergici: hanno risposto positivamente circa il 95,5% dei soggetti laureati e l'85,3% di quelli diplomati di scuola superiore; la percentuale diminuisce notevolmente nei soggetti con un basso titolo di studio. Alla domanda se l'osservanza delle istruzioni stampate avesse determinato modifiche nell'andamento della DC, il 67,1% degli intervistati ha affermato di aver riscontrato sensibili miglioramenti. Dato ugualmente significativo è che da 1 a 5 anni dalla consegna delle istruzioni stampate non emergono differenze nel ricordo-apprendimento riguardo ad alcune informazioni contenute negli stampati. In particolare, i pazienti ricordano bene gli oggetti e i materiali da evitare, indipendentemente dal numero di anni trascorsi dalla diagnosi mediante patch test. Ciò dimostra che se i pazienti hanno compreso le informazioni fornite loro, le ricordano bene anche nel tempo.

Le categorie che tendono a ricordare meno sono quelle degli anziani e dei soggetti meno istruiti. Bisognerebbe pertanto rivolgere una particolare attenzione verso questi soggetti, cercando di migliorare ulteriormente la presentazione delle istruzioni stampate al fine di renderle comprensibili a tutti.

## Conclusioni

Il presente studio ha avuto quale finalità primaria la raccolta di informazioni utili al miglioramento della gestione di una patologia di frequente riscontro, la DC, con particolare riferimento alla valutazione delle istruzioni stampate quale mezzo di ausilio al paziente con DAC nella prevenzione di questa patologia. Elaborando i dati ottenuti, è stato verificato il miglioramento derivante dall'utilizzo di un supporto cartaceo, quale promemoria e guida verso la conoscenza della patologia. A conclusione del lavoro possiamo affermare che la maggioranza degli intervistati ha tratto beneficio dall'osservanza delle regole contenute nelle istruzioni fornite. Questo specifico canale di contatto con il medico, basato sull'informazione e sull'educazione, deve quindi essere particolarmente curato, in quanto il paziente è sempre più desideroso di conoscere e comprendere dettagliatamente la natura e la gestione della sua patologia. E' emerso inoltre che le categorie che tendono a ricordare meno le in-

formazioni ricevute sono quelle degli anziani e dei soggetti meno istruiti. E' auspicabile quindi una maggiore diffusione delle istruzioni stampate e un miglioramento della loro presentazione, al fine di raggiungere anche soggetti socialmente e culturalmente più deboli.

## Bibliografia

1. Epstein E. Strategies for using patient instruction sheets. *Sem Dermatol* 1991; 10: 98.
2. Katz LG. The use of printed instruction sheets to enhance patient compliance. *Sem Dermatol* 1991; 10: 91.
3. Richards RN. Preparation and mechanics of patient instruction sheets. *Sem Dermatol* 1991; 10: 96.
4. Larsen WG. How to instruct patients sensitive to fragrances. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 880.
5. Van der Walle HB. Dermatitis in hairdressers (II): management and prevention. *Contact Dermatitis* 1994; 30: 265.
6. Sherertz EF, Byers SV. Common patch test allergens: general guidelines for avoidance. *Dermatol Nurs* 1997; 9: 122.
7. Fisher AA. Management of allergic contact dermatitis due to rubber gloves in health and hospital personnel. *Cutis* 1991; 47: 301.
8. Mathias CG. Prevention of occupational contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23: 742.
9. Drake LA, Dorner W, Goltz RW, et al. Guidelines of care for contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 109.
10. Wigger-Alberti W, Elsner P. Preventive measures in contact dermatitis. *Clin Dermatol* 1997; 15: 661.
11. Ling TC, Coulson IH. What do trainee hairdressers know about hand dermatitis? *Contact Dermatitis* 2002; 47: 227.
12. Goh CL. Prognosis of contact dermatitis following secondary preventive measures. *Curr Probl Dermatol* 1996; 25: 154.
13. Bauer A, Kelterer D, Stadeler M, et al. The prevention of occupational hand dermatitis in bakers, confectioners and employees in the catering trades: preliminary results of a skin prevention program. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 85.

## Analisi dei livelli sierici di citochine in pazienti con orticaria cronica idiopatica

Vania Rizzuti<sup>1</sup>, Emanuela Di Lella<sup>2</sup>, Paola Cordiali Fei<sup>1</sup>, Mario Pietravalle<sup>1</sup>, Maria-  
grazia De Rocco<sup>2</sup>, Antonio Cristaudo<sup>2</sup>

**Riassunto.** *Introduzione:* nell'orticaria cronica idiopatica (OCI) la caratterizzazione degli eventi che regolano la degranulazione di mastociti e basofili e il conseguente rilascio di istamina e altri mediatori dell'infiammazione nella cute sono ancora incompleti. La reattività cutanea verso il siero autologo, riscontrata mediante l'esecuzione di un test intradermico (TISA) e la presenza di anticorpi di classe IgG rivolti contro la subunità  $\alpha$  del recettore ad alta affinità per le IgE ( $Fc\epsilon RI\alpha$ ), rilevata in un ampio gruppo di soggetti affetti da OCI, hanno consentito di formulare l'ipotesi di una patogenesi autoimmune. *Obiettivo:* scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare i livelli sierici di citochine infiammatorie (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-8) e regolatorie (IL-10 e IL-12) o del tipo TH2 (IL-4, IL-5, IL-6) in soggetti con OCI in relazione ad un gruppo di controllo. Abbiamo valutato, inoltre, una possibile correlazione tra la presenza di livelli elevati di citochine sieriche e la reattività cutanea al siero autologo o al sintomo prurito. *Materiali e metodi:* sono stati collezionati i sieri di 50 soggetti con OCI, prelevati contestualmente all'esecuzione del TISA, e di 15 soggetti senza storia e manifestazioni cliniche di orticaria. I livelli di citochine sono stati determinati mediante un test citofluorimetrico che si basa sull'impiego di biglie fluorescenti e che consente la determinazione simultanea di 5 analiti. *Risultati:* l'analisi dei risultati ha mostrato una percentuale significativamente più elevata di IFN- $\gamma$ , IL1- $\beta$ , IL-4, IL-6 o IL-12 nel gruppo dei pazienti affetti da OCI rispetto al gruppo di controllo. Nessuna differenza significativa è stata, invece, evidenziata nei livelli sierici delle suddette citochine tra il gruppo di soggetti con TISA positivo e il gruppo con TISA negativo. Livelli significativamente più elevati di IL-6 sono stati riscontrati nei soggetti con intensa sintomatologia pruriginosa rispetto ad un gruppo di pazienti in cui la sintomatologia pruriginosa era scarsa e/o assente, suggerendo un ruolo di questa citochina nell'espressione clinica della malattia.

**Parole chiave:** citochine,  $Fc\epsilon RI\alpha$ , orticaria cronica autoimmune, orticaria cronica idiopatica, test intradermico con siero autologo.

**Summary.** *Cytokine serum levels in patients with chronic idiopathic urticaria.* *Background:* in chronic idiopathic urticaria (CIU) the events which regulate mastocytes and basophils degranulation and the consequent histamine release in the skin, are still unknown. Cutaneous activity to autologous serum, tested by the autologous serum skin test (ASST), was found in a large proportion of patients with CIU. Moreover, the presence of IgG-antibodies directed to the  $\alpha$  subunit of the high affinity IgE-receptor had led to the hypothesis of an autoimmune etiology in this disease. *Objective:* the aim of this study has been to evaluate the serum levels of inflammatory (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-8), regulatory (IL-10 and IL-12) and TH2 (IL-4, IL-5, IL-6) cytokines, in subjects with CIU in comparison to a group of control subjects. Moreover we have evaluated the correlation between high serum levels of cytokines and the reactivity to ASST or the clinical symptoms. *Materials and methods:* the sera of 50 patients with CIU and of 15 subjects without history or clinical manifestations of CIU were collected. The cytokine levels were determined by a cytofluorimetric test, based on the use of fluorescent beads, which allows the simultaneous determination of 5 different molecules. *Results:* the results evaluation showed that a significant proportion of subjects with CIU had higher levels of IFN- $\gamma$ , IL1 $\beta$ , IL-4, IL-6 o IL-12 compared to the control group. No significant differences were found in cytokine levels between the ASST positive or ASST negative groups. However, IL-6 levels were found to be significantly higher in subjects with more severe clinical symptoms, suggesting this cytokine has a role of in the development of CIU.

**Key words:** autologous serum skin test, chronic autoimmune urticaria, chronic idiopathic urticaria, cytokines,  $Fc\epsilon RI\alpha$ .

<sup>1</sup>Laboratorio di Patologia clinica e Microbiologia, <sup>2</sup>Servizio di Dermatologia allergologica, professionale e ambientale, Istituto dermatologico San Gallicano, IRCCS, Roma.

Dr. Antonio Cristaudo, Istituto San Gallicano, IRCCS, Via Elio Chianesi 53, 00144 Roma (e-mail: cristauddo@ifo.it).

Accettato per la pubblicazione il 7 maggio 2005

## Introduzione

L'orticaria cronica (OC) è una dermopatia caratterizzata dall'insorgenza pressoché quotidiana di lesioni eritemato-pomfoidi di forma e dimensione varia, più o meno numerose, fugaci, pruriginose, spesso associate ad angioedema, persistenti da più di 6 settimane<sup>1</sup>. I pomfi sono di tonalità roseo-rossastra, con superficie liscia, sono spesso circondati da un alone eritematoso e, talora, presentano un'area ischemica centrale assumendo aspetto anulato. Essi si accompagnano ad intenso prurito, possono comparire ovunque e hanno durata generalmente inferiore alle 24 ore<sup>2</sup>. L'angioedema, eventualmente presente, può coinvolgere la cute e/o le mucose localizzandosi per lo più alle labbra, alle palpebre e alla lingua; è generalmente aflegmasico, scarsamente pruriginoso e ha durata maggiore rispetto a quella delle lesioni cutanee<sup>1,2</sup>.

LOC è in grado di deteriorare la qualità della vita: in un recente studio, Greaves e O'Donnell<sup>3</sup> hanno affermato che il disagio personale, sociale e occupazionale di un paziente affetto da OC è comparabile a quello di un paziente cardiopatico in attesa di intervento chirurgico.

LOC colpisce prevalentemente soggetti adulti, con un rapporto maschi/femmine pari a 1:2, in un range di età compreso tra 20 e 60 anni<sup>4</sup>. È stato stimato che circa il 15-23% della popolazione generale presenterebbe, nel corso della vita, almeno un episodio di orticaria e che la forma cronica ne rappresenterebbe circa il 25%<sup>4</sup>. È difficile precisare la patogenesi dell'OC, ma tutti i meccanismi coinvolti, sia di ordine immunitario che extra-immunitario, conducono, in ultima analisi, all'attivazione di diversi tipi cellulari e alla liberazione di istamina e altri mediatori, con attivazione dei sistemi enzimatici e aumento della permeabilità vasale<sup>5</sup>. Ancor più complesso è l'inquadramento eziologico dell'OC: nella maggior parte dei casi, infatti, nonostante un'accurata valutazione clinico-anamnestica e l'esecuzione di accertamenti ematochimici e strumentali<sup>6</sup>, non è possibile risalire ad un preciso agente causale.

Recentemente alcuni autori<sup>7-9</sup>, basandosi sull'osservazione della formazione di un pomfo nella sede di inoculo del siero autologo e sulla presenza di anticorpi di classe IgG rivolti contro la subunità  $\alpha$  del recettore ad alta affinità per le IgE (Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ ), rilevate entrambi in un gruppo di soggetti affetti da OC idiopatica (OCI),

hanno proposto un'ipotesi patogenetica autoimmune in questi soggetti.

La ricerca della presenza degli autoanticorpi è possibile con test eseguibili *in vitro* e *in vivo*: tra i primi, le metodiche Western blot e quella ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay); per i test *in vivo* viene impiegato il test intradermico con siero autologo (TISA), basato sulla capacità dello stesso siero di indurre la formazione di un pomfo, quando inoculato in sede intradermica nell'avambraccio<sup>10</sup>. Esistono molte perplessità in letteratura riguardo sensibilità e specificità del test: la percentuale di pazienti con OCI TISA-positivi riportata da diversi autori varia dal 9% al 60%<sup>11-14</sup>. Pertanto il test intradermico è ritenuto non un test diagnostico di orticaria cronica autoimmune (OCAI), ma un test di screening che può solo suggerire una patogenesi autoimmune<sup>15</sup>.

Scopo del nostro studio è stato quello di valutare i livelli sierici di citochine infiammatorie (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-8) e regolatorie (IL-10 e IL-12) o del tipo TH2 (IL-4, IL-5, IL-6) in soggetti con OCI in confronto con un gruppo di controllo. Inoltre abbiamo valutato una possibile correlazione tra: a) presenza di livelli elevati di citochine sieriche e la reattività cutanea al siero autologo; b) livelli sierici delle citochine in relazione ad un parametro clinico di gravità della malattia, il prurito.

## Materiali e metodi

### Pazienti

Sono stati arruolati nello studio 50 pazienti affetti da OCI (10 maschi e 40 femmine), d'età compresa tra 15 e 75 anni (età media: 42 anni). La diagnosi di OCI è stata formulata sulla base di un'accurata indagine anamnestica, sull'esame clinico generale e sui risultati di un protocollo diagnostico che prevede l'esecuzione di numerose indagini laboratoristiche e strumentali eseguite con metodiche standardizzate<sup>6</sup>.

Quale indice di gravità di malattia è stato valutato il sintomo prurito, quantificato secondo Breneman *et al*<sup>16</sup> (0= assente; 1= lieve; 2= moderato; 3= grave).

Come controlli per lo studio sierologico, sono stati reclutati 15 soggetti sani, con caratteristiche sovrapponibili per sesso ed età al gruppo in studio (3 maschi e 12 femmine, età media 41,3 anni).

*Test intradermico con siero autologo*

Dopo aver accertato che tutti i soggetti non avessero assunto i farmaci riportati nella tabella I nei giorni precedenti all'esecuzione del test e dopo aver ottenuto il consenso informato, è stato eseguito il test intradermico con siero autologo, secondo la metodica proposta da Sabroe *et al*<sup>10</sup> e modificata successivamente: il siero è stato preparato lasciando coagulare 5 ml di sangue venoso in una provetta asciutta a temperatura ambiente per 30 min. Dopo centrifugazione a 1.200 g/min per 15 min a temperatura ambiente, è stata effettuata la separazione del siero che veniva stoccato in una siringa da 1 ml con ago 26G (siringa da tubercolina). Il test intradermico è stato eseguito inoculando 20 $\mu$ l nel derma al terzo prossimale della superficie volare dell'avambraccio. Sono state valutate esclusivamente le reazioni eritemato-edematose, quantificate mediante il calcolo del diametro medio, pari alla media dei 2 diametri maggiori ortogonali. Alla distanza di 3 cm, come controllo, è stato praticato un inoculo intradermico di 20 $\mu$ l di soluzione fisiologica a temperatura ambiente, con le stesse modalità di esecuzione e misurazione adottate per il siero autologo. È stata considerata positiva una reazione eritemato-pomfoide o pomfoide presente a 30 min e/o a 60 min dall'esecu-

zione del test e di diametro medio superiore di almeno 1,5 mm rispetto a quello eventualmente indotto dalla iniezione intradermica della soluzione fisiologica.

*Cytometric Bead Array*

Il dosaggio di citochine è stato effettuato mediante il Cytometric Bead Array (CBA), saggio per la valutazione quantitativa simultanea di più molecole mediante citofluorimetria a flusso. La metodica si basa sull'utilizzo di una miscela di biglie di polistirene, rivestite con anticorpi specifici per le singole molecole. Le biglie di cattura con le diverse specificità anticorpali sono coniugate con quantità note di isotiocianato di fluoresceina (FITC) e sono identificabili sulla base di una diversa intensità di fluorescenza. Sono stati utilizzati due pannelli (Human Inflammation e TH1/TH2 CBA kit, BD Pharmingen, San Diego, CA, USA) per il dosaggio di IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12. La metodica prevede l'incubazione di 50  $\mu$ l di siero con 10  $\mu$ l di miscela di biglie (5 specificità) e successivamente l'aggiunta di una miscela di anticorpi, con la stessa specificità delle biglie utilizzate e coniugati con ficoeritrina (FE). Contemporaneamente, sono stati allestiti campioni con concentrazioni note di ciascuna citochina per la valutazio-

Tabella I - *Periodo di wash-out per alcuni farmaci prima dell'esecuzione del test intradermico con siero autologo.*

Farmaci	Periodo di wash-out
Corticosteroidi intramuscolari o intrarticolari	90 giorni
Anticorpi sperimentali per malattie allergiche	90 giorni
Corticosteroidi topici ad alta potenza	14 giorni
Antistaminici: ad azione prolungata (cetirizina, fexofenadina, idrossizina e loratadina) ad azione breve (clorfeniramina, acrivastatina) clemastina topici nasali (azelastina) topici oculari (levocabastina)	4 giorni 12 ore 3 giorni 3 giorni
Inibitori dei leucotrieni (ad esempio: zafirlukast, montelukast)	10 giorni
Preparati a base di erbe o terapie "alternative" con efficacia comprovata o presunta per la rinite allergica	3 giorni
Farmaci antinfiammatori non steroidei	21 giorni
Farmaci immunosoppressivi (ad esempio: ciclosporina A)	30 giorni
Antidepressivi triciclici (ad esempio: amitriptilina, clomipramina, imipramina, trimipramina, desipramina, nortriptilina)	14 giorni
Antidepressivi tetraciclici (ad esempio: maprotilina, mirtazapina)	14 giorni
Antagonisti dei recettori H2 dell'istamina (ranitidina, cimetidina)	7 giorni

ne quantitativa dell'analita nei sieri in esame. La rilevazione delle popolazioni di biglie con doppia intensità di fluorescenza (FITC/FE) è stata effettuata mediante citofluorimetria a flusso (FacsCalibur, B&D Biosciences, S. Josè, CA, USA) e l'analisi quantitativa realizzata mediante l'utilizzo di un software dedicato. I valori dei livelli sierici di citochine superiori alla media, incrementata di due deviazioni standard, ottenuta analizzando 20 sieri appartenenti a donatori abituali, sono stati considerati positivi.

#### Analisi statistica

Per l'analisi statistica dei dati, effettuata mediante il test di Fisher per le tabelle di contingenza e di Mann-Whitney per l'analisi delle differenze dei livelli di citochine in gruppi di pazienti, è stato utilizzato il software Prism 4 (Graph Pad Software, San Diego, CA).

## Risultati

#### Test cutaneo con siero autologo

16 pazienti sui 50 totali (32%) sono risultati positivi al test intradermico con siero autologo. Tra i due gruppi di pazienti TISA+ e TISA- non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa riguardo a età e distribuzione per sesso (tabella II).

Tabella II - Reazioni positive al test intradermico con siero autologo (TISA) nei 50 pazienti con orticaria cronica idiopatica.

	Totale	TISA-	TISA+
Maschi	10	7 (14%)	3 (6%)
Femmine	40	27 (54%)	13 (26%)
Totale pazienti	50	34 (68%)	16 (32%)
Età media	42	43,2	40

#### Citochine sieriche

Nella tabella III sono mostrate le differenze, in termini di soggetti con valori elevati o normali di citochine, tra il gruppo dei pazienti con OCI e il gruppo-controllo di soggetti sani. L'analisi statistica ha evidenziato che un numero più elevato di soggetti affetti da OCI presentava valori più elevati di IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6 e IL-12 rispetto al gruppo di controllo; tale differenza è risultata statisticamente significativa. Nella stessa tabella sono indicati il valore soglia per ogni

Tabella III - Soggetti con orticaria conica idiopatica (OCI) e soggetti sani di controllo con livelli elevati di citochine sieriche.

ANALITA (cut off *)	OCI P/N**	CONTROLLI P/N	P***
IFN- $\gamma$ (35 pg/ml)	22/28	1/14	0,012
TNF- $\alpha$ (5 pg/ml)	3/47	1/14	n.s.
IL-1 $\beta$ (40 pg/ml)	22/28	1/14	0,012
IL-2 (5 pg/ml)	4/36	0/15	n.s.
IL-4 (10 pg/ml)	15/35	0/15	0,03
IL-5 (5 pg/ml)	3/47	0/15	n.s.
IL-6 (10 pg/ml)	17/33	1/14	0,049
IL-8 (10 pg/ml)	3/47	0/15	n.s.
IL-10 (8 pg/ml)	3/47	0/15	n.s.
IL-12 (5 pg/ml)	16/24	0/15	0,014

\* valore medio da 20 soggetti sani + 2 DS

\*\* numero sieri positivi/negativi

\*\*\* test di Fisher significativo per  $p < 0,05$

citochina, ottenuto considerando il valore medio + 2 DS esibito da 20 sieri appartenenti a donatori di sangue abituali.

E' stata quindi eseguita un'analisi dei valori dei livelli sierici delle singole citochine (pg/ml) nei pazienti con OCI per individuare la significatività di alcune molecole in relazione al risultato del TISA o alla valutazione dell'intensità del prurito, come indice dell'attività clinica della malattia (tabella IV). Nessuna differenza significativa è stata riscontrata nei livelli di citochine nei 2 gruppi di pazienti con TISA positivo o negativo. Al contrario i livelli di IL-6 erano significativamente più elevati in soggetti con maggiore intensità del prurito (punteggio 2 e 3) rispetto ai soggetti con sintomatologia lieve (punteggio 1).

## Discussione

La percentuale (32%) di positività al test intradermico con siero autologo, riscontrata nel nostro studio, è comparabile con quelle riportate dal gruppo di Greaves<sup>10</sup> e da altri autori<sup>15</sup>. Per la determinazione dei livelli sierici di citochine è stata utilizzata una metodica innovativa, la citofluorimetria a flusso, che offre il vantaggio, rispetto ai tradizionali saggi immunoenzimatici (EIA), di poter utilizzare quanti-

Tabella IV - Livelli sierici di citochine in relazione ai risultati del test intradermico con siero autologo (TISA) o all'intensità del prurito nei pazienti con orticaria cronica idiopatica

	TISA-(34)	TISA+(16)	P**	Prurito 1 e 2(16)	Prurito 3(34)	P
*IFN- $\gamma$	20,5 (1,5 - 213,4)	20,0 (1,5 - 51,1)	n.s.	20,2 (1,5 - 51,1)	20,0 (1,5 - 213,4)	n.s.
TNF- $\alpha$	1,8 (1,1 - 13,1)	2,0 (1,3 - 4,8)	n.s.	1,9 (1,3 - 4,8)	1,8 (1,1 - 13,1)	n.s.
IL-1 $\beta$	31,1 (1,8 - 1256)	31,95 (1,9 - 225,2)	n.s.	20,9 (1,8 - 741)	31,95 (1,9 - 1256)	n.s.
IL-2	2,2 (1,5 - 18,6)	2,9 (1,1 - 7,5)	n.s.	2,3 (1,1 - 7,5)	2,4 (1,5 - 18,6)	n.s.
IL-4	6,3 (1,8 - 23,0)	7,1 (3,6 - 13,2)	n.s.	7,0 (1,9 - 13,2)	6,8 (1,8 - 23,0)	n.s.
IL-5	1,8 (0,5 - 24,0)	1,9 (1,3 - 4,7)	n.s.	1,7 (0,5 - 2,9)	1,9 (0,7 - 24,0)	n.s.
IL-6	2,3 (1,3 - 90,4)	2,15 (1,5 - 10,5)	n.s.	2,8 (1,7 - 37,3)	2,1 (1,3 - 90,4)	0,049
IL-8	4,8 (1,8 - 44,5)	6,25 (1,8 - 8,1)	n.s.	5,0 (2,1 - 20,1)	5,0 (1,8 - 44,5)	n.s.
IL-10	4,4 (1,3 - 44,0)	4,0 (1,5 - 8,7)	n.s.	4,5 (2,1 - 8,7)	3,8 (1,3 - 44,0)	n.s.
IL-12	2,3 (1,5 - 385)	2,0 (1,2 - 33,6)	n.s.	2,6 (1,5 - 143,9)	2,25 (1,2 - 385)	n.s.

\* pg/ml; mediana (min-max)

\*\* Mann-Whitney t test

tà ridotte di campione per il dosaggio simultaneo di più molecole. Data la recente introduzione del test, i valori riscontrabili in situazioni non patologiche sono stati da noi determinati saggiando sieri di donatori abituali. Abbiamo ottenuto valori comparabili a quelli riportati con metodo immunoenzimatico per tutte le citochine utilizzate, ad eccezione della IL-1 $\beta$  per la quale la metodica citofluorimetrica si è rivelata più sensibile.

In confronto a soggetti apparentemente sani, senza storia clinica d'orticaria, un numero rilevante di soggetti con OCI presentava livelli più elevati di IFN- $\gamma$ , IL1- $\beta$ , IL-4, IL-6 e IL-12 nel sangue periferico. Questi risultati sono in accordo con quanto rinvenuto nelle biopsie lesionali di soggetti con orticaria, in cui i linfociti CD4 infiltranti la lesione sono stati associati alla produzione di citochine sia TH1 che TH2<sup>17,18</sup>. Inoltre è stato dimostrato da altri autori<sup>19,20</sup> che i linfociti CD4 periferici di soggetti con OC sono attivati e producono in vitro IL-4 ed IFN- $\gamma$ . D'altra parte anche i mastociti attivati, che svolgono un ruolo fondamentale nella patogenesi dell'orticaria mediante il rilascio d'istamina e altri mediatori dell'infiammazione, producono citochine<sup>21,22</sup> e possono contribuire all'aumento dei livelli sierici di IL-4. È importante sottolineare che nessuno dei soggetti con livelli elevati di IL-4 mostrava contemporaneamente livelli elevati di IL-12, mentre questi erano associati a livelli elevati di IFN- $\gamma$ . Questo dato, che andrebbe confermato in una casistica più numerosa, indica che, nell'ambito dei pazienti con orticaria, alcuni esibiscono una attivazione delle citochine di tipo TH1 o TH2. L'IL-12 e l'IL-4 infatti sono considerate citochine fondamentali nell'orientare la risposta immune verso un profilo TH1 o TH2, rispetti-

vamente<sup>23</sup>. L'azione di IL-4 che si esplica anche attraverso l'attivazione del proprio recettore sulla membrana cellulare<sup>24</sup>, prevale su quella dell'IL-12 e ne inibisce la secrezione<sup>25</sup>.

Per quanto riguarda la possibilità che il pattern citochinico descritto possa riflettere un'etiologia autoimmune dell'OCI dovuta all'attivazione di basofili e mastociti da parte di autoanticorpi diretti verso epitopi del recettore di membrana per le IgE, i nostri dati non hanno evidenziato differenze tra il profilo citochinico di soggetti con TISA positivo e quello di soggetti con TISA negativo. La mancata correlazione potrebbe essere dovuta alla necessità di analizzare casistiche più numerose ma anche alla scarsa sensibilità e specificità del test intradermico, come ipotizzato da altri autori<sup>13,15</sup>. Inoltre i nostri dati evidenziano un'associazione tra i livelli più elevati di IL-6 e l'intensità della manifestazione clinica, intesa come intensità del prurito e valutata mediante un punteggio da 1 a 3. Questo dato potrebbe significare che i livelli di IL-6 riflettono lo stato di attivazione dei mastociti, come suggerito anche dai risultati di un lavoro clinico in cui si dimostra che i livelli di IL-6 correlano con la progressione di malattia in pazienti con mastocitosi<sup>26</sup>, ma anche potrebbe indicare un'attivazione linfocitaria come suggerito dall'aumentata espressione di IL-6 mRNA nei linfociti del sangue periferico in corso di manifestazioni cliniche acute dell'orticaria<sup>27</sup>.

In conclusione, i livelli aumentati di citochine in corso di OCI riflettono l'attivazione del sistema immunitario in questa patologia, ma solo l'analisi di una casistica più estesa e studi longitudinali potranno fornire informazioni più utili alla comprensione della relazione tra pattern citochinico e patogenesi della malattia.

## Bibliografia

1. Soter NA. Acute and chronic urticaria and angioedema. *J Am Acad Dermatol* 1991; 25: 146.
2. Bindslev-Jensen C, Finzi A, Greaves MW, et al. Chronic urticaria: diagnostic recommendations. *JEADV* 2000; 14: 175.
3. Greaves MW, O'Donnel BF. Not all chronic urticaria is "idiopathic"! *Exp Dermatol* 1998; 7: 139.
4. Greaves MW. Chronic urticaria. *New England Med* 1995; 332: 1767.
5. Marone G, Casolaro V, Spadaro G. I mediatori dell'orticaria. In: Meneghini CL, Valsecchi R, de Costanza F (ed). *Orticaria angioedema*. Brescia: ISED, 1991; 56.
6. Lisi P, Agostinelli D, Assalve D, et al. La sindrome orticaria-angioedema cronica: proposta di un protocollo per l'inquadramento eziologico. *Res Epidemiologica* 1997; 3: 13.
7. Sabroe RA, Greaves MW. The pathogenesis of chronic idiopathic urticaria. *Arch Dermatol* 1997; 133: 1003.
8. Fiebiger E, Hammerschmid F, Stingl G, et al. Anti FcεRIα serum autoantibodies in autoimmune-mediated disorders. Identification of a structure-function relationship. *J Clin Invest* 1998; 101: 243.
9. Greaves MW. Autoimmune urticaria. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002; 23: 171.
10. Sabroe RA, Grattan CE, Francis DM, et al. The autologous serum skin test: a screening test for autoantibodies in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol* 1999; 140: 446.
11. Tong LJ, Balakrishnan G, Kochan JP, et al. Assessment of autoimmunity in patients with chronic urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 461.
12. Cancian M, Bendo R, Bertollo L, et al. Orticaria cronica con reattività cutanea positiva nei riguardi del siero autologo: caratteristiche cliniche biochimiche ed immunologiche. *Giorn It Allergol Immunol Clin* 1998; 8: 518.
13. Sabroe RA, Seed PT, Stat C, et al. Chronic idiopathic urticaria: comparison of the clinical features of patient with and without anti FcεRI or anti-IgE autoantibodies. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 443.
14. Pigatto P, Valsecchi RH. Clinical and laboratory evaluations in 348 chronic urticaria patients. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2000; 54: 13.
15. Di Lella E, Agostinelli D, Brunelli L, et al. il test intradermico con siero autologo nei soggetti con orticaria cronica: possibili fattori interferenti. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2004; 58: 12.
16. Breneman D, Bronsky EA, Bruce S, et al. Cetirizine and astemizole therapy for chronic idiopathic urticaria: a double-blind, placebo-controlled, comparative trial. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33:192.
17. Ying S, Kikuchi Y, Meng Q, et al. TH1/TH2 cytokines and inflammatory cells in skin biopsy specimens from patients with chronic idiopathic urticaria: comparison with the allergen-induced late-phase cutaneous reaction. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 694.
18. Caproni M, Volpi W, Macchia D, et al. Infiltrating cells and related cytokines in lesional skin of patients with chronic idiopathic urticaria and positive autologous serum skin test. *Exp Dermatol* 2003; 12: 621.
19. Ferrer M, Sanchez-Ibarrola A, Morena C, et al. Secretion of cytokines, histamine and leukotrienes in chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129: 254.
20. Irinyi B, Aleksza M, Antal-Szalmas P, et al. Cytokine production of CD4+ and CD8+ peripheral lymphocytes in patients with chronic idiopathic urticaria. *Acta Derm Venereol* 2002; 82: 249.
21. Niimi N, Francis DM, Kermani F, et al. Dermal mast cell activation by autoantibodies against the high affinity IgE receptor in chronic urticaria. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1001.
22. Ohtani T, Aiba S, Mizuashi M, et al. Evaluation of the efficacy of antihistamines using human monocyte-derived dendritic cells stimulated with histamine. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: 234.
23. Murphy KM. T lymphocyte differentiation in the periphery. *Curr Opin Immunol* 1998; 10: 226.
24. Breit S, Steinhoff M, Blaser K, et al. A strict requirement of interleukin-4 for interleukin-4 induction in antigen-stimulated human memory T cells. *J Immunol* 1996; 26: 1860.
25. Paludan SR. Interleukin-4 and interferon-γ: the quintessence of a mutual antagonistic relationship. *Scand J Immunol* 1998; 48: 459.
26. Theoharides TC, Boucher W, Spear K. Serum IL-6 reflects disease severity and osteoporosis in mastocytosis patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 128: 344.
27. Fujii K, Ohgou N. Up-regulation of IL-6 mRNA in peripheral blood mononuclear cells of patients with acute urticaria. *J Dermatol* 2004; 3: 242.

## Eruzione esantematica scarlattiniforme da imatinib in paziente affetto da leucemia mieloide cronica

Licia Zeppa, Danilo Assalve e Paolo Lisi

**Riassunto.** Imatinib (STI571), un inibitore delle tirosin-chinasi, è attualmente uno dei farmaci di prima scelta per il trattamento della leucemia mieloide cronica. Le reazioni avverse cutaneo-mucose in corso di terapia con tale farmaco si manifestano nel 7-21% dei pazienti. Viene riportato il caso di un uomo di 58 anni che ha presentato un'eruzione maculo-papulosa scarlattiniforme in corso di terapia con imatinib. La sintomatologia è recidivata dopo 50 giorni circa dalla riassunzione del farmaco. Viene prospettata una patogenesi non-immunomediata.

**Parole chiave:** imatinib, eruzione scarlattiniforme, reazioni avverse a farmaci, leucemia mieloide cronica, test di tolleranza orale.

**Summary.** *Maculo-papular scarlatiniform eruption in chronic myeloid leukaemia patient treated with imatinib.* Imatinib (STI571), a selective tyrosine-kinase inhibitor is at the moment one of the most active agents for the treatment of chronic myeloid leukaemia. Adverse cutaneous reactions to imatinib have been observed in 7-21% of the patients treated. A maculo-papular scarlatiniform eruption in a 58-year-old man treated with imatinib is reported. The lesions relapsed after about 50 days from drug resumption. A not immunomediated pathogenesis is proposed.

**Key words:** imatinib, scarlatiniform eruption, drug adverse reactions, chronic myeloid leukaemia, oral tolerance test.

### Introduzione

Imatinib (STI571), un derivato della 2-fenilaminopirimidina, è un potente e selettivo inibitore del cromosoma Philadelphia bloccando la sua attività tirosin-chinasica; tuttavia è in grado di inibire altre tirosin-chinasi non specifiche, come il recettore del c-kit e del fattore di crescita piastrinico (PDGF)<sup>1,2</sup>. Attualmente rappresenta il farmaco di prima scelta per il trattamento della leucemia mieloide cronica Philadelphia-positiva di nuova diagnosi e di quella in crisi blastica; è pure indicato dopo il fallimento della terapia con interferone alfa, così come nella terapia dei tumori stromali

gastro-intestinali maligni non operabili e/o metastatici per la sua attività antiproliferativa e proapoptosica<sup>3</sup>.

### Caso clinico

Un uomo di 58 anni è giunto alla nostra osservazione presentando un'eruzione eritemato-maculo-papulosa, prevalentemente scarlattiniforme, a tratti orticarioide, che coinvolgeva diffusamente il tronco e gli arti superiori. La sintomatologia, esordita da circa 1 settimana, si accompagnava a prurito diffuso di modesta entità e a iperpiressia serotina.

All'anamnesi patologica remota emergevano cardiopatia ischemico-ipertensiva e diabete mellito insulino-dipendente, in trattamento da anni con nitroglicerina, ticlopidina, digossina, candesartan, furosemide e insulina (pronta e lenta). Da circa 3 mesi, inoltre, era stata diagnosticata leucemia mieloide cronica; per tale motivo il paziente assumeva da 50 giorni imatinib (mg 400/dì), torasemide (10 mg/dì, in sostituzione di furosemide) e, da 35 giorni, allopurinolo (mg 300/dì).

Il paziente veniva ospedalizzato, imatinib e allopurinolo erano sospesi essendo stati ritenuti i 2 farmaci maggiormente incriminabili sulla base dei dati anamnestici, della morfologia del quadro clinico e, relativamente ad allopurinolo, delle segnalazioni in letteratura.

Gli esami ematochimici e strumentali eseguiti confermavano lo stato leucemico ed evidenziavano lieve anemia, ipereosinofilia, modesta alterazione della funzionalità renale e incremento degli indici di flogosi. L'esame istologico da frammento biopsico prelevato in regione lombare evidenziava ipercheratosi ortoceratosica lieve, spongiosi mite diffusa, edema moderato del derma papillare, infiltrato infiammatorio perivasale a prevalente componente eosinofila e rari mastociti. L'esame radiologico del torace ha dato esito negativo.

Il quadro clinico è risolto progressivamente nell'arco di una decina di giorni con l'impiego di una preparazione a base di ossido di zinco e blandi emollienti.

In considerazione dell'ingravescenza del quadro ematologico e su sollecitazione degli ematologi, si è proceduto a eseguire test di tolleranza orale con imatinib dopo circa 2 settimane dalla risoluzione della sintomatologia, somministrandone mg 50 (pari a 1/8 della dose terapeutica) il 1° giorno. Nei successivi 7 giorni il dosaggio è stato progressivamente aumentato di mg 50 al dì, fino a raggiungere in 8ª giornata la dose terapeutica giornaliera di mg 400. Dopo circa 1 mese dalla reintroduzione della terapia l'obiettività cutaneo-mucosa si manteneva negativa. In considerazione di ciò, si è eseguito patch test con allopurinolo (al 5% e 10% in vaselina), con esito negativo. La sostanza, tuttavia, non è stata reintrodotta, risultando l'uricemia nei limiti della norma. Dopo 52 giorni, però, la sintomatologia cutanea è recidivata al tronco e agli arti superiori, con ampie chiazze eritemato-edemato-papulose, pru-

riginose, e con erosioni non flogistiche alla mucosa geniena. La sintomatologia è regredita spontaneamente dopo 1 settimana circa dalla sospensione di imatinib.

## Discussione

La revisione dei dati della letteratura ha evidenziato che le reazioni avverse più frequenti a imatinib sono, in ordine decrescente, anemia, leucopenia, neutropenia, nausea, vomito, edema, incremento ponderale, crampi muscolari, diarrea, eruzioni cutaneo-mucose<sup>1,2</sup>. Queste ultime sono state osservate nel 7-21% dei casi<sup>4</sup>. Risultano più comuni prurito, eruzioni eritemato-maculose e/o papulose, xerosi cutanea, orticaria con o senza angioedema, cheilite e alterazioni della pigmentazione cutanea; sporadicamente sono state segnalate sindrome di Stevens-Johnson, necrolisi epidermica tossica, pustolosi esantematica acuta generalizzata, sindrome graft versus host disease-simile, mucinosi follicolare, induzione o esacerbazione della psoriasi, carcinoma squamocellulare, sindrome di Sweet, tossidermia lichenoidale, erosioni lichenoidi orali<sup>2,5-11</sup>.

La molteplicità delle manifestazioni cutaneo-mucose viene messa in relazione con la presenza dei bersagli di imatinib su numerose cellule: il recettore di c-kit è infatti espresso su melanociti, cellule basali dell'epidermide, cellule epiteliali delle ghiandole sudoripare, mastociti, etc<sup>9</sup>. Il recettore del PDGF, invece, è espresso a livello dei vasi dermici e ne regola il flusso transcapillare; la sua inibizione, indotta da imatinib, può causare incremento della pressione del fluido interstiziale, a cui conseguono edema, eritema e desquamazione<sup>2</sup>. Entrambi i recettori svolgono un ruolo importante nel normale processo di pigmentazione: la riduzione o il blocco della loro attività determina interruzione della differenziazione dei melanociti e di conseguenza ipopigmentazione<sup>7</sup>.

Le reazioni avverse cutaneo-mucose da farmaci antineoplastici sono spesso classificate in letteratura secondo un modello suggerito dal National Cancer Institute (1998)<sup>12</sup> che indica con: grado 1 - eritema o eruzioni maculose o papulose senza sintomi associati; grado 2 - eritema o eruzioni maculose o papulose pruriginose, interessanti meno del 50% della superficie cutanea; grado 3 - eritrodermia sintomatica o eruzione maculosa o papulosa o vescicolare o desquamazione interessante più del 50% della superficie cutanea; grado 4 - derma-

tite generalizzata esfoliativa o ulcerativa.

Valeyrie *et al*<sup>9</sup> hanno valutato le reazioni cutaneo-mucose causate da imatinib in 54 pazienti; è emerso che queste sono: 1) più frequenti nel sesso femminile, verosimilmente per il minor peso medio corporeo delle donne; 2) hanno tempo di latenza variabile da un minimo di 1 settimana fino a 1 anno dopo l'inizio della terapia; 3) sono dose-dipendenti, verificandosi per lo più a dosaggio maggiore o pari a mg 400 al dì, con reazioni più gravi correlate a dosi giornaliere maggiori o uguali a mg 600; 4) sono più frequenti quelle indicate come grado 2.

Relativamente al nostro paziente, vogliamo sottolineare il lungo periodo di latenza (52 giorni) intercorso tra la riassunzione graduale di imatinib e l'esordio dell'eruzione maculo-papulosa scarlattiniforme. Questo dato sembrerebbe avvalorare l'ipotesi di un meccanismo non-immunomediato. In considerazione di ciò e del fatto che attualmente imatinib è considerato il farmaco più efficace nel trattamento della leucemia mieloide cronica, sembrerebbe corretta la possibilità di associare terapia corticosteroidica orale, come proposto da Rule *et al*<sup>13</sup>; ovviamente solo nei casi in cui non si siano verificate reazioni gravi.

## Bibliografia

1. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukaemia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1031.
2. Breccia M, Carosino I, Russo E, et al. Early and tardive skin adverse events in chronic myeloid leukaemia patients treated with imatinib. *Eur J Haematol* 2005; 74: 121.
3. Dimetri GD, von Mchren M, Blanke CD, et al. Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 2002; 347: 472.
4. Brouard MV, Saurat JH. Cutaneous reactions to STI571. *N Engl J Med* 2001; 345: 618.
5. Brouard MC, Prins C, Mach-Pascual S, et al. Acute generalized exantematous pustulosis associated with STI571 in a patient with chronic myeloid leukaemia. *Dermatology* 2001; 203: 57.
6. Lim DS, Muir J. Oral lichenoid reaction to imatinib (STI571, Gleevec®). *Dermatology* 2002; 205: 169.
7. Raanani P, Goldman JM, Ben-Bassat I. Depigmentation in a chronic myeloid leukaemia patient treated with STI571. *J Clin Oncol* 2002; 20: 869.
8. Baskaynak MG, Kreuzer K-A, Schwarz M, et al. Squamous cutaneous epithelial cell carcinoma in two CML patients with progressive disease under imatinib treatment. *Eur J Haematol* 2003; 70: 231.
9. Valeyrie L, Bastuji-Garin S, Revuz J, et al. Adverse cutaneous reactions to imatinib (STI571) in Philadelphia chromosome-positive leukaemias: a prospective study of 54 patients. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48: 201.
10. Roux C, Boisseau-Garsaud AM, Saint-Cyr I, et al. Toxidermie lichénoïde à l'imatinib (Glivec®). *Ann Dermatol Venereol* 2004; 131: 571.
11. Ayirookuzhi SJ, Li M, Ramshesh P, et al. Imatinib-induced Sweet syndrome in a patient with chronic myeloid leukaemia. *Arch Dermatol* 2005; 141: 368.
12. Cancer therapy evaluation program. Bethesda (MD): National Cancer Institute, 1998.
13. Rule SA, O'Brien SG, Crossman LC. Managing cutaneous reactions to imatinib therapy. *Blood* 2002; 100: 3434.

## **Dermatite atopica** (a cura di Monica Corazza)

### **Dermatite atopica: “Ipotesi dell’igiene” oggi**

Monica Corazza

Da circa 20 anni nella letteratura medica si è aperto un dibattito sulla possibilità che le modificate condizioni ambientali possano avere un ruolo nell’aumento della prevalenza delle patologie allergiche ed autoimmuni verificatosi nei paesi industrializzati negli ultimi decenni. In particolare, la dermatite atopica (DA), che colpisce circa il 15% dei bambini in età scolare nei paesi industrializzati, è aumentata di 2-3 volte negli ultimi 3-4 decenni<sup>1,2</sup>.

#### **Origini dell’ipotesi dell’igiene**

Nel 1989 Strachan<sup>3</sup> formulò la cosiddetta “Hygiene hypothesis”, in cui suggeriva che il rischio di sviluppare malattie allergiche fosse ridotto dalle malattie infettive trasmesse dai fratelli maggiori. Il concetto è stato successivamente allargato in quanto è stato ipotizzato che i cambiamenti del carico microbico ambientale e il miglioramento delle condizioni igieniche generali e della situazione socio-sanitaria potessero influenzare lo sviluppo di funzioni immunologiche post-natali ed aumentare la predisposizione a patologie allergiche nell’infanzia. L’ipotesi, inizialmente formulata per le malattie allergiche respiratorie, è stata estesa alla DA, anche se i dati a supporto sono minori e più contraddittori.

Nonostante un iniziale diffuso scetticismo, “l’ipotesi dell’igiene” risulta abbastanza verosimile. Poiché il lasso di tempo in cui si è verificato l’aumento della prevalenza delle malattie allergiche (pochi decenni) è troppo breve per essere imputato a mutazioni genetiche, sembra logico ritenere che i cambiamenti ambientali possano avere un ruolo di rilievo. E’ noto, però, che i fattori ambientali agiscono su una predisposizione genetica.

#### **Le evidenze epidemiologiche**

Alcuni studi epidemiologici<sup>4-8</sup> negli ultimi anni hanno effettivamente supportato “l’ipotesi dell’igiene”, dimostrando che un ambiente non eccessivamente igienizzato può risultare protettivo nei confronti dello sviluppo delle malattie allergiche. I fattori studiati, che esprimono una maggiore esposizione a stimoli microbici ambientali, sono stati la numerosità dei componenti del nucleo familiare (numero di fratelli), la frequentazione in scuole per l’infanzia, un basso standard socio-economico, il limitato uso di antibiotici, il contatto con animali domestici. La DA è risultata inoltre meno frequente in comunità ristrette come quelle antroposofiche in cui, per convinzioni filosofiche, viene proscritto l’uso di antibiotici e vaccini e lo stile di vita è di tipo prettamente rurale-naturalistico<sup>9</sup>.

Alcuni studi di coorte, tuttavia, hanno mostrato una relazione inversa tra livello igienico e sviluppo di DA<sup>10</sup> e alcune recenti indagini epidemiologiche<sup>8,11</sup> sembrano evidenziare che infezioni diagnosticate clinicamente (intese come infezioni delle vie respiratorie, diarrea...), sviluppatasi entro i 6 mesi di età, non abbiano effetti protettivi sulle malattie allergiche.

La relazione tra endoparassitosi e DA, invece, non è ancora chiara, nonostante un recente lavoro di revisione<sup>9</sup> abbia approfonditamente studiato l’argomento comparando la letteratura disponibile; è emersa, infatti, solo una relazione inversa tra sviluppo di manifestazioni atopiche respiratorie ed endoparassitosi.

#### **Il ruolo del sistema immunitario**

Da un punto di vista immunologico l’ipotesi dell’igiene è stata variamente interpretata. E’ noto che alla base dell’immunopatogenesi dei disordini atopici (rinite, asma, DA) sta una reazione infiammatoria scatenata da un’abnorme risposta immunitaria mediata da Th2 contro antigeni ambientali<sup>12</sup>. Le citochine prodotte dalle cellule Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13) sono responsabili dell’attivazione e del mantenimento della reazione

allergica. La risposta T cellulare che sostiene le riacutizzazioni della malattia è evidenziata dalla produzione di citochine Th2, come IL-4 e 5, che si associa ad un aumento di produzione di IgE, eosinofilia e attivazione delle mastcellule.

Una diminuita esposizione durante l'infanzia ad agenti infettivi ambientali potrebbe portare ad un ridimensionamento dell'attività Th1, con conseguente eccesso di attività Th2<sup>13</sup>. Si verificerebbe una mancata immunodeviazione da Th2 a Th1 a causa di una ridotta produzione di citochine polarizzanti in senso Th1 da parte delle cellule dell'immunità innata in risposta a stimoli microbici<sup>12</sup>.

E' stato anche ipotizzato un ritardo nella maturazione del sistema immune con persistenza di una risposta Th2<sup>14</sup>. Il feto ed il neonato hanno una risposta immunitaria caratterizzata da una prevalente produzione di citochine di tipo Th2. Le basi della maturazione della risposta immunitaria in senso Th1 nella fase post-natale sono ancora in fase di studio. Ricerche su animali suggeriscono che i principali attivatori della maturazione post-natale del sistema immune siano stimoli microbici. Un ambiente eccessivamente "igienizzato" ridurrebbe l'esposizione a segnali ambientali che favorirebbero la risposta Th2 e prolungherebbero la risposta immunitaria di tipo fetale più favorevole allo sviluppo di allergie<sup>14</sup>.

Più recentemente sono stati chiamati in causa altri elementi cellulari, cioè le cellule T regolatorie<sup>13,14</sup>. Queste cellule sarebbero fondamentali nell'evitare un'iperreattività immunitaria nei confronti di agenti biotici ambientali quali micobatteri, lattobacilli, elminti, che un tempo comunemente entravano in contatto con gli individui. Le cellule T regolatorie avrebbero cioè un ruolo protettivo evitando una iper-risposta immunitaria nei confronti di antigeni di batteri o di elminti maggiormente presenti nell'ambiente infantile qualche decennio fa. Le migliorate condizioni socio-sanitarie dei paesi industrializzati, portando ad un minor contatto della popolazione infantile con questi antigeni, determinerebbero una diminuzione dell'attivazione e del numero delle cellule T regolatorie, una relativamente incontrollata risposta di cellule T effettrici ed un aumento della patologia allergica e di altri disordini, come diabete e malattie infiammatorie intestinali.

Trattando di fattori ambientali, uno studio recente ha sottolineato "L'altra faccia" dell'ipotesi dell'igiene, valutando i rapporti tra stimoli antigenici batterici e flare up della malattia<sup>15</sup>. E' noto che la cute del 90% dei bambini affetti da DA è colonizzata da *Staphylococcus aureus*, potenziale produttore di superantigeni, come la endotossina stafilococcica. I superantigeni batterici hanno potenti effetti immunomodulatori, essendo in grado di indurre reazioni infiammatorie quando applicati direttamente sulla cute, in quanto stimolano le cellule T legandosi a particolari recettori. L'enterotossina B è stata trovata stimolare selettivamente la produzione di IL-5 e, conseguentemente, modulare l'ipereosinofilia in pazienti con DA, ma non in atopici asintomatici e in non-atopici. Questa molecola, pertanto, potrebbe essere un co-fattore di rilievo nella progressione della DA verso le forme severe e nelle riacutizzazioni della malattia.

### In conclusione...

Certamente studi ulteriori contribuiranno a definire meglio i rapporti tra genetica, ambiente e sistema immune. Allo stato attuale "l'ipotesi dell'igiene" continua a suscitare interesse e, come sostiene il suo promotore, mantiene ancora, a distanza di anni, dei punti di forza<sup>6</sup>. Pertanto, se è vero che le nozioni teoriche devono sempre adattarsi alla pratica clinica, alla classica domanda posta dai desolati genitori di un bambino atopico: "Dottore, ma tutti questi casi di allergia non dipenderanno da un'eccessiva igiene e da un ambiente che cambia?", potremo forse rispondere con maggior convinzione: "è molto probabile...".

**Summary.** *Atopic dermatitis: the "Hygiene hypothesis" today.* The past 20 years have shown a significant rise in the prevalence of allergic diseases in industrialized countries. Atopic dermatitis, in particular, has increased 2 to 3-fold in the last 3-4 decades. It has been supposed that environmental modifications have played a relevant role in increasing allergic pathologies. In 1989 the "hygiene hypothesis" was formulated; it suggested that fewer infections in childhood and a lower microbial burden could promote atopic responses and increase prevalence. Numerous epidemiological studies have provided evidence supporting the hypothesis that a poor standard of living, large household size, farm residence and a lower use of antibiotics may have been protective against atopic diseases and atopic dermatitis. Furthermore, immunologic studies have provided an immunological basis to the hygiene hypothesis. We present a revision of the literature and discuss recent findings regarding the hygiene hypothesis.

**Key words:** atopy, atopic dermatitis, hygiene hypothesis.

### Bibliografia

1. Williams HC. Is the prevalence of atopic dermatitis increasing? *Clin Exp Dermatol* 1992; 17: 385.
2. Kay J, Gawkrödger DJ, Mortimer MJ, et al. The prevalence of childhood atopic eczema in a general population. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30: 35.
3. Strachan DP. Hay fever, hygiene and household size. *Br Med J* 1989; 299: 1259.
4. Williams HC, Strachan DP, Hay R. Childhood eczema: disease of the advantaged? *Br Med J* 1994; 308: 1132.
5. Bodner C, Godden D, Seaton A. Family size, childhood infections and atopic diseases. *Thorax* 1998; 53: 28.
6. Strachan DP. Family size, infection and atopy: the first decade of the "hygiene hypothesis". *Thorax* 2000; 55: S2.

7. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *New Engl J Med* 2002; 347: 911.
8. Benn CS, Melbye M, Wohlfahrt J, et al. Cohort study of sibling effect, infectious diseases, and risk of atopic dermatitis during first 18 months of life. *Br Med J* 2004; 328: 1223.
9. Flohr C. Dirt, worms and atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2003; 148: 871.
10. Farooqi IS, Hopkin JM. Early childhood infection and atopic disorder. *Thorax* 1998; 53: 927.
11. Gibbs S, Surridge H, Adamson R, et al. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis: a case-control study. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 199.
12. Romagnani S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology* 2004; 112: 352.
13. Watts G. Commentary: the defence of dirt. *Br Med J* 2004; 328: 1226.
14. Martinez FD, Holt PG. Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma. *Lancet* 1999; 354: s12.
15. Heaton T, Mallon D, Venaille T, et al. Staphylococcal enterotoxin induced IL-5 stimulation as a cofactor in the pathogenesis of atopic disease: the hygiene hypothesis in reverse. *Allergy* 2003; 58: 252.

## Recensioni

(a cura di Paolo Lisi)

**Laser dermatology.** D.J. Goldberg. 138 pagine, 108 figure quasi tutte a colori, 15 tabelle. Springer-Verlag, Berlin, 2005 (€ 99,95).

La parola "LASER", un acronimo che indica Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation, non è stata coniata da Albert Einstein che tuttavia ne ha precisato le basi teoriche nel suo trattato "The quantum theory of radiation", pubblicato nel 1917. Il primo vero laser, comunque, è stato realizzato solo nel 1960 da Theodore H. Maiman. Da allora ne sono stati commercializzati molti altri tipi, con diversa indicazione clinica.

Questo libro, anche se di dimensioni contenute per numero di pagine, è ricco di suggerimenti sull'impiego dei laser in dermatologia e di informazioni sulle tecnologie proposte negli ultimi 15 anni. A queste ultime è destinato il 1° dei 6 capitoli in cui viene suddivisa la materia, esposta in maniera chiara ed

esauriente e illustrata con iconografia di buona qualità. Ne sono autori 8 esperti nord-americani ed europei del settore.

Negli altri capitoli vengono affrontate le tematiche relative al trattamento con laser delle lesioni vascolari, di quelle pigmentate, dei peli non desiderati, del "resurfacing" facciale e alla fototerapia dinamica della cheratosi attinica, dei tumori cutanei superficiali non-melanoma e di altri disordini cutanei (acne, vitiligine, striae cutis distensae, etc). In questi, dopo una sintesi dei concetti basilari, la materia viene distribuita in alcuni sottocapitoli, destinati a storia dell'uso dei laser, tecnologie attualmente disponibili, indicazioni e controindicazioni; seguono una proposta di consenso informato e le strategie operative adottate dagli autori.

La veste tipografica è accurata; le citazioni bibliografiche esaurienti.

## Estratto dai verbali del Consiglio direttivo (CD) della SIDAPA

### Roma, 21.1.2005

Sono stati approvati all'unanimità:

- l'elenco dei Centri di riferimento di Dermatologia allergologica, professionale e ambientale, che è stato elaborato dalla Commissione Lisi-Ayala e che sarà pubblicato nel sito web SIDAPA;
- il bilancio consuntivo 2004.

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- predisporre un 2° elenco di Centri di riferimento in grado di assicurare prestazioni solo per alcuni settori specifici di competenza della Dermatologia allergologica, professionale e ambientale. In questi, comunque, dovrà essere assicurata la presenza di specialisti in dermatologia nella proporzione del 50% dei dirigenti medici strutturati. L'inserimento dei Centri, in entrambi gli elenchi, sarà subordinato al giudizio del CD che valuterà la documentazione inviata (produzione scientifica, attività assistenziale, accreditamenti, etc);
- elaborare alcune Serie integrative per categorie professionali e per fattori di rischio extraprofessionali, costituite dagli allergeni essenziali e comunque positivi in percentuale superiore allo 0,5% dei pazienti testati, e alcune Serie specifiche per particolari distretti cutanei;
- cancellare definitivamente dall'elenco dei Soci quelli che non avranno provveduto a versare le quote associative entro il 30.4.2005;
- aggiornare il sito web.

### Genova, 9.6.2005

Sono state approvate all'unanimità:

- 3 Serie integrative SIDAPA (Casalinghe, Cosmetici ridotta e Parrucchieri) e 3 serie specifiche SIDAPA (Cavo orale, Palpebre e Fotoaptenti); queste saranno inserite nel sito web SIDAPA (nella parte riservata ai Soci) e negli Annali italiani di Dermatologia allergologica clinica e sperimentale;
- il progetto di ricerca "La sensibilizzazione da contatto al lattice in pazienti con dermatite da contatto cronica delle mani e che utilizzano guanti in gomma", coordinato da Lisi.

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- tenere il 7° Congresso nazionale SIDAPA (2007) a Modena e l'8° a Firenze;
- inviare una lettera agli attuali Delegati SIDAPA per ricordare loro che a ottobre, durante il 6° Congresso nazionale SIDAPA, dovranno essere eletti i Delegati regionali per il triennio 2005-2008, ma solo nelle regioni con un numero di Soci (in regola con le quote associative) superiore a 5.

## Congressi

### 27-28 ottobre 2005

#### 5° Congresso nazionale SIDAPA

Bagni di Tivoli (Roma), Grand Hotel Duca D'Este

*Presidenti:* E. Berardesca, A. Cristaudo

*Segreteria organizzativa:* SGC Congressi

Via Salvo d'Acquisto 73, 81031 Aversa (CE)

tel: 0818154619; fax: 0815044177

e-mail: sgc.web@tin

internet: www.sgccongressi.it

### 6-9 novembre 2005

#### 5<sup>th</sup> International Symposium on Irritant Contact Dermatitis

Cipro, Elysium Beach Resort

*Presidenti:* A. Ingber, A. Trattner

*Segreteria organizzativa:* Ortra Ltd.

1 Nirim Street, P.O. Box 9352, Tel Aviv 61092, Israel

tel: (972)36384444; fax: (972)3638455

e-mail: conderm@ortra.com

internet: www.ortra.com/conderm

### 28 novembre-3 dicembre 2005

#### III Corso di perfezionamento in Dermatologia pediatrica

Roma, Università Cattolica del Sacro Cuore

*Direttore:* G. Fabrizi

*Segreteria organizzativa:* Servizio Formazione Permanente U.C.S.C.

L.go F. Vito 1, 00168 Roma

tel: 0630154074; fax: 063051732

e-mail: vpolimeni@rm.unicatt.it

### 9-12 febbraio 2006

#### 4<sup>th</sup> EADV Spring Symposium: Skin and climate

Saariselkä, Lapponia, Finlandia

*Presidente:* R. Suhonen  
*Segreteria organizzativa:* Congrex  
P.O. Box 81, Sulkapolku 3, FIN-00371 Helsinki,  
Finland  
fax: (358)956075020  
e mail: lapland2006@congrex.fi

**26-29 aprile 2006**  
**XXI Congresso Nazionale S.I.D.C.O.**  
Venezia Lido, Palazzo del Cinema

*Presidente:* P. Sedona  
*Segreteria organizzativa:* The Office  
Via San Nicolò 14, 34121 Trieste  
tel: 040368343; fax: 040368808  
e-mail: sidco2006@theoffice.it  
internet: www.theoffice.it/sidco2006

**27-29 aprile 2006**  
**Mare salute bellezza**  
Napoli, Centro Congressi Stazione marittima

*Presidente onorario:* P. Santoianni  
*Presidente:* F. Ayala  
*Segreteria organizzativa:* SGC Congressi  
Via Salvo d'Acquisto 73, 81031 Aversa (CE)  
tel: 0818154619; fax: 0815044177  
e-mail: sgc.web@tin  
internet: www.sgccongress.it



+

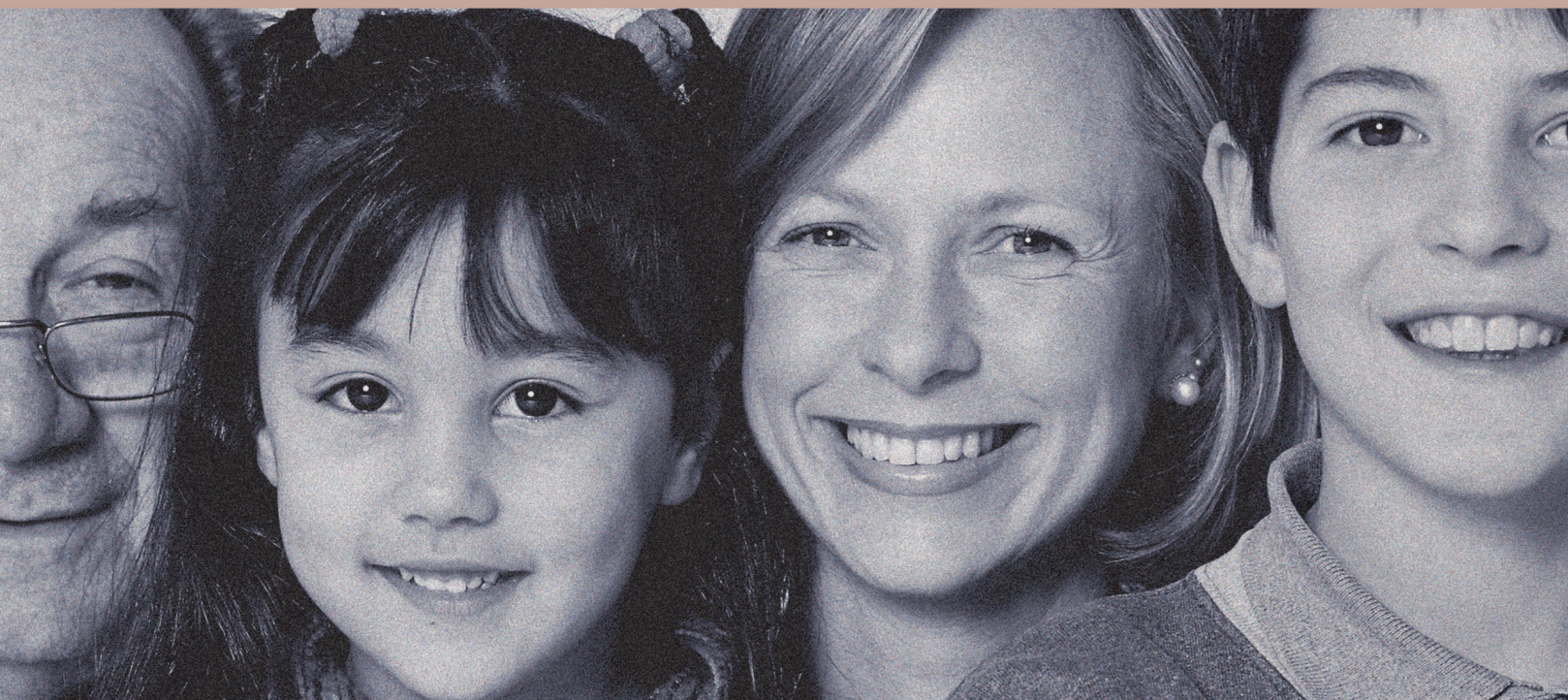


Insieme  
offrono nella diagnostica allergologica  
la più ampia opportunità di scelta

diagnostica in vivo – prick test e patch test  
diagnostica in vitro

con competenza  
affidabilità e  
sicurezza

Dalla ricerca cosmetica Same



un aiuto concreto ai problemi cutanei.



**Filmogen same: crema barriera** A/O ad alta protezione.



**Same plast: gel emolliente**, coadiuvante specifico nel trattamento del tessuto indurito e cicatriziale.



**Same seb Beta: crema** per cute sensibile con moderata secrezione sebacea e/o tendenza acneica.



Laboratori Farmaceutici  
Savoma Medicinali S.p.A. - Parma



Laboratori Farmaceutici Savoma Medicinali S.p.a. - Parma