

Annali italiani di Dermatologia allergologica *clinica e sperimentale*

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

ANNO 66, NUMERO 1, GENNAIO-APRILE 2012

CO-DIRETTORI: PAOLO LISI
LUCA STINGENI



Monte Meru Editrice

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 soc. coop.
Via San Martino, 20
06081 Assisi (PG), Italia
Tel. amministrazione
+39.075.8197105
Fax: 178.227.7437
e-mail: info@montemeru.it
Internet: www.montemeru.it

Recensita in:

Faxon Finder,
Faxon XPRESS,
EMBASE / Excerpta Medica

Co-Direttori

Paolo Lisi (Perugia)
Luca Stingeni (Perugia)

Comitato editoriale

Giovanni Angelini (Bari)
Fabio Ayala (Napoli)
David Basketter (London)
Giuseppe De Panfilis (Parma)
Caterina Foti (Bari)
Margarida Gonçalves (Coimbra)
An Goossens (Leuven)
Jean-Pierre Lepoittevin (Strasbourg)
Paolo Pigatto (Milano)
Achille Sertoli (Firenze)
Gino Antonio Vena (Bari)

Redattore capo

Katharina Hansel (Perugia)

Segreteria di redazione

Veronica Bellini (Perugia)
Simona Pelliccia (Perugia)

Comitato scientifico

Nicola Balato (Napoli)
Anna Belloni Fortina (Padova)
Domenico Bonamonte (Bari)
Andrea Cavani (Roma)
Monica Corazza (Ferrara)
Antonio Cristaudo (Roma)
Paolo Fabbri (Firenze)
Maria Laura Flori (Siena)
Stefano Francalanci (Firenze)
Rosella Gallo (Genova)
Fabrizio Guarneri (Messina)
Cataldo Patruno (Napoli)
Luigi Rigano (Milano)
Donatella Schena (Verona)
Roberto Zerboni (Milano)

Pubblicità

Paolo Lisi (Perugia)

Finito di stampare
nell'aprile 2012
da Dimensione Grafica
Spello (PG) - Italia

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



Monte Meru Editrice

Notizie amministrative**Abbonamenti 2011**

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 soc. coop., via San Martino 20, 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 intestato a Monte Meru soc. coop.

Privacy

L'Editore si impegna a gestire i dati personali degli abbonati e i Soci SIDAPA con la massima riservatezza, secondo quanto disposto ai sensi del Dlgs 30 giugno 2003 n.196 e sue eventuali succes-

sive 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 soc. coop. sarà disponibile, secondo quanto disposto dal Garante, per consultazione collettiva sul sito www.montemeru.it al link privacy.

Inserzioni pubblicitarie

Le richieste vanno indirizzate al Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche e Sanità pubblica dell'Università degli studi di Perugia, Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica, nella persona del Prof. Paolo Lisi (tel: 075.5783881; 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

**Fascicolo dedicato al Professore Gianni Angelini,
 illustre cultore della Dermatologia allergologica e primo Presidente SIDAPA**

Contenuto

Rassegne

| | | |
|---|---|----|
| L'apoptosi nell'allergia da contatto <i>Giuseppe De Panfilis, Fabio Zambito-Spadaro, Silvia Castagnetti e Giuseppe Fabrizi</i> | » | 1 |
| Il laboratorio nella valutazione delle proprietà irritanti e sensibilizzanti dei cosmetici <i>Anna Balato, Nicola Balato, Matteo Megna, Annunziata Raimondo, Mariateresa Cantelli, Teresa Cirillo e Cataldo Patruno.</i> | » | 9 |
| Reazioni avverse ai tatuaggi <i>Elisa Cinotti, Rosella Gallo e Aurora Parodi</i> | » | 23 |
| Reazioni cutanee a cerotti transdermici: revisione della letteratura e descrizione di un caso da rivastigmina <i>Caterina Foti, Paolo Romita, Annarita Antelmi, Gianfranco Calogiuri e Domenico Bonamonte</i> | » | 32 |
| Conservanti in cosmetica: una finestra sulla bufera <i>Luigi Rigano e Nicola Lionetti</i> | » | 36 |
| Allergie a metalli e manifestazioni cutanee <i>Paolo D. Pigatto e Gianpaolo Guzzi</i> | » | 42 |
| La gestione dell'orticaria cronica <i>Paolo Lisi</i> | » | 51 |

Lavori originali

| | | |
|--|---|----|
| Dermatite atopica e sport <i>Donatella Schena, Anteo Tomasso, Anastasia Papagrigroraki, Chiara Sabbadini e Giampiero Girolomoni</i> | » | 56 |
| Dermatite da contatto occupazionale da resine metacriliche in odontotecnici <i>Antonio Cristaudo, Isabella Sperduti, Chiara Tartaglia, Alessandra Iorio, Mirko Frasca e Sergio Javicoli</i> | » | 61 |
| Notiziario | » | 68 |

**Issue dedicated to Professor Gianni Angelini,
 eminent expert in Allergological Dermatology and 1st SIDAPA President**

Contents

Reviews

| | | |
|--|---|----|
| Apoptosis in the pathophysiology of contact allergy <i>Giuseppe De Panfilis, Fabio Zambito-Spadaro, Silvia Castagnetti and Giuseppe Fabrizi</i> | » | 1 |
| The laboratory role in the assessment of sensitization and irritation potential of cosmetics <i>Anna Balato, Nicola Balato, Matteo Megna, Annunziata Raimondo, Mariateresa Cantelli, Teresa Cirillo and Cataldo Patruno</i> | » | 9 |
| Adverse reactions to tattoos <i>Elisa Cinotti, Rosella Gallo and Aurora Parodi</i> | » | 23 |
| Cutaneous reactions to transdermal patches: a review of the literature and a rivastigmine case report <i>Caterina Foti, Paolo Romita, Annarita Antelmi, Gianfranco Calogiuri and Domenico Bonamonte</i> | » | 32 |
| Preservants in cosmetics: a window over turmoil <i>Luigi Rigano and Nicola Lionetti</i> | » | 36 |
| Allergy to metals and skin diseases <i>Paolo D. Pigatto and Gianpaolo Guzzi</i> | » | 42 |
| The management of chronic urticaria <i>Paolo Lisi</i> | » | 51 |

Original articles

| | | |
|--|---|----|
| Atopic dermatitis and sport <i>Donatella Schena, Anteo Tomasso, Anastasia Papagrigoraki, Chiara Sabbadini and Giampiero Girolomoni</i> | » | 57 |
| Occupational contact dermatitis to methacrylic resins in dental technicians <i>Antonio Cristaudo, Isabella Sperduti, Chiara Tartaglia, Alessandra Iorio, Mirko Frasca and Sergio Javicoli</i> | » | 61 |
| News and notices | » | 68 |

Questo numero degli Annali italiani di Dermatologia allergologica clinica e sperimentale è dedicato al Professore Gianni Angelini. Per noi che scriviamo questa nota è molto difficile parlare del nostro Maestro, perché si tratta di razionalizzare ed esternare sensazioni ed esperienze vissute accanto ad una delle personalità più poliedriche della Dermatologia italiana ed internazionale. Una carriera ricca e intensissima, di cui rendono testimonianza, oltre al *curriculum vitae* e al lunghissimo elenco di pubblicazioni, pietre miliari della materia, anche le molte attestazioni ricevute a livello internazionale.

La sua prestigiosa carriera si è conclusa con l'organizzazione dell'11° Congresso nazionale SIDAPA (Bari, 29 settembre-1 ottobre 2011). In quella occasione il Professore Angelini ha dato piena dimostrazione del suo spessore culturale quando ha tenuto la lettura magistrale dal titolo "Di (quasi) tutti i colori": in soli 30 minuti, partendo dall'analisi dei principali colori esistenti in natura, il Professore Angelini è riuscito, con maestria impareggiabile, a spiegare i motivi dei colori delle principali affezioni cutanee in ambito allergologico, professionale ed ambientale. Un risultato del genere lo potevano raggiungere in pochi! Sono noti a tutti, infatti, i suoi campi d'interesse, quali chimica di base ed applicata, allergologia, immunologia, dermatologia allergologica clinica e sperimentale, dermatologia ambientale da *noxae* fisiche, chimiche e biotiche, dermatologia occupazionale, micobatteriosi, dermatologia acquatica, dermatologia clinica.

In quella lettura magistrale il Professore Angelini è riuscito a canalizzare tutta la sua esperienza professionale... e non solo: è riuscito a tirare fuori quel bagaglio immenso di conoscenze "extraprofessionali" che tutti gli amici riconoscono in Gianni. Solo gli amici (e credeteci, sono tanti), sanno che Gianni Angelini è una delle persone più esperte di storia, greco, latino, scienze naturali, mondo vegetale, ambiente acquatico, arte moderna e contemporanea, architettura, arredamento, storia dell'arte, storia delle religioni. Grazie ai suoi famosi viaggi intorno al mondo, tutti noi rimaniamo ammaliati dagli affascinanti racconti di storia, costumi e culture dei vari popoli. E' amante della lettura di ogni genere, e quanti hanno avuto la fortuna di essere a casa di Gianni, sono stati colpiti dalla grande libreria occupata da migliaia di libri, la maggior parte dei quali letti più volte. Noi, suoi ultimi allievi (e non solo in ordine cronologico), ci siamo sempre chiesti: ma dove lo trova tutto questo tempo? Quando abbiamo provato a chiederglielo, la sua risposta è stata: "ma voi... la notte che fate?" Abbiamo imparato che, quando non viaggia e non legge, passa il tempo libero dedicandosi al giardinaggio o passeggiando; abbiamo capito che le sue passeggiate sono fatte di meditazione, riflessione, concentrazione, analisi e ispirazione. Ci ha confessato che durante le passeggiate pensa a casi clinici, imposta relazioni per congressi, disegna studi sperimentali, risolve problemi organizzativi, pensa a come coinvolgere e stimolare i suoi allievi. Da questo si evince che Gianni Angelini è anche persona di grande pazienza e altruismo.

La sua "mission" più grande è trasmettere le conoscenze a chi ha la fortuna di essergli vicino; dal momento che questa fortuna non è di tutti, ha pensato di dedicarsi "anima e corpo" agli specializzandi in Dermatologia di tutta Italia organizzando, ormai da più di 10 anni, il famoso "Corso di Viareggio". Con molti sforzi, riconosciuti da tutti, riesce a coinvolgere i maggiori esperti, con il solo scopo di fornire ai futuri dermatologi gli strumenti migliori per meglio affrontare la professione. Per tale motivo, Gianni Angelini è ormai ritenuto il "Professore" di tutti gli specializzandi, sempre pronti a farsi fotografare insieme durante il "ballo di fine Corso". Noi che abbiamo la fortuna sfacciata di avere il Professore Angelini come maestro, non abbiamo mai sentito il bisogno di farci fotografare insieme, di immortalare un momento, semplicemente perché la sua integrità morale, la sua umanità, la sua rispettosità, i valori umani che sapeva trasmettere e insegnare fanno

ormai parte del nostro bagaglio di vita e di cultura. Siamo fermamente convinti che tutti gli amici ed i colleghi che leggono questa nota condividano l'idea di dedicare questo numero della nostra Rivista al Professore Angelini, socio fondatore nonché punto di riferimento della Società Italiana di Dermatologia Allergologica Professionale ed Ambientale.

Grazie!

Domenico Bonamonte, Caterina Foti e Gino Vena

Un grazie sincero all'amico Gianni Angelini per il prezioso e illuminato supporto alla crescita degli Annali, che auspichiamo costante anche negli anni futuri.

Paolo Lisi e Luca Stingeni

L'apoptosi nell'allergia da contatto

Giuseppe De Panfilis, Fabio Zambito-Spadaro, Silvia Castagnetti e
Giuseppe Fabrizi

Riassunto. La dermatite allergica da contatto (DAC) viene modernamente riconosciuta come la conseguenza di una reazione immunitaria indesiderata ad apteni che vengono in contatto con la cute. Nonostante l'importanza sempre maggiore attribuita ai mediatori pro-infiammatori rilasciati da cellule T e da altre cellule che infiltrano la lesione eczematosa, un ruolo centrale nella patogenesi della DAC rimane assicurato dall'apoptosi dei cheratinociti portatori di aptene, provocata da cellule effettrici attivate aptene-specifiche. Queste ultime vengono sempre più riconosciute nella popolazione linfocitaria T CD8⁺, nonostante il ruolo ricoperto dalle cellule T CD4⁺ non possa essere esclusivamente ristretto a quello di cellule funzionalmente soppressive della reazione. Il meccanismo molecolare apoptotico esercitato dalle cellule linfocitarie effettrici nei riguardi dei cheratinociti aptene-specifici è sostenuto, d'altra parte, non soltanto dalle "classiche" attività citolitiche riconducibili alle interazioni granzima/proteasi correlate e/o recettori della famiglia TNF-R/ligandi della famiglia TNF (prima tra tutte l'interazione Fas/Fas-L), ma anche da altre molecole liberate dai linfociti, quali ad esempio l'interferone- γ . Di queste, tuttavia, è ancora discusso il preciso ruolo molecolare giocato nella reazione. Va modernamente sottolineato, d'altro canto, che una importanza quantitativamente addirittura maggiore nello sviluppo del danno tissutale/apoptotico nella DAC va attribuita a cellule diverse dai linfociti T CD8⁺, quali i linfociti Th1, Th17, Th1/Th17 e le cellule NK, le quali sono state riconosciute in grado di favorire un'apoptosi dei cheratinociti di natura non-antigene-specifica. Nella DAC, peraltro, l'apoptosi non riguarda esclusivamente i cheratinociti: al classico coinvolgimento apoptotico delle cellule di Langerhans portatrici di aptene da parte dei linfociti T (con modalità analoghe a quello dei cheratinociti), può essere attualmente aggiunto il danno apoptotico dei linfociti T CD4⁺ ad opera dei linfociti T CD8⁺, quello delle cellule dendritiche da parte dei linfociti T regolatori, e perfino presumibilmente quello, in un certo senso imprevedibile, dei linfociti T Fas⁺ ad opera di cellule dendritiche antigene-specifiche Fas-L⁺. A quest'ultimo riguardo, potrebbe essere ritenuta interessante anche la dimostrazione, conseguita nel nostro laboratorio, dell'espressione, da parte di cellule di Langerhans attivate (ma non da parte di cellule di Langerhans in riposo), della molecola Fas-L in corrispondenza della membrana plasmatica. In conclusione, nel tracciare un tentativo di bilancio del ruolo ricoperto dalla apoptosi nella DAC va tenuto conto, a nostro parere, non soltanto della "classica" apoptosi dei cheratinociti, la quale può essere ritenuta giustificabile in quanto è volta ad eliminare gli apteni legati a tali cheratinociti, ma anche della apoptosi di diverse cellule pro-infiammatorie non cheratinocitarie (linfociti CD8⁺, linfociti CD4⁺, cellule dendritiche, cellule di Langerhans), la quale deve essere riconosciuta utile alla modulazione, alla soppressione e infine alla risoluzione dell'attività fisiopatologica sostenuta dal complesso ma affascinante scenario cellulare e molecolare proprio della allergia da contatto.

Parole chiave: apoptosi, cheratinociti, citolisi, dermatite allergica da contatto, linfociti T.

Summary. *Apoptosis in the pathophysiology of contact allergy.* Allergic contact dermatitis (ACD) is a consequence of a undesired immune reaction to haptens contacting the skin surface. One important role is played in the pathophysiology of ACD by pro-inflammatory mediators released by T cells and other immune cells infiltrating the eczematous lesions. A even more important function in ACD pathogenesis, however, is exerted by the "classic" apoptosis of hapten-loaded keratinocytes, which is triggered by hapten-specific effector activated cells. These latter cells are believed to mainly belong to the T-lymphocytic CD8⁺ subset, although the role played by CD4⁺ T cells cannot be exclusively restricted to a suppressive/regulatory activity of the allergic reaction. The apoptotic molecular mechanisms exerted by effector lymphocytes against hapten-specific keratinocyte deal not only with "classic" granzime/related proteases and/or TNF-receptors superfamily members/TNF-ligands superfamily members (first of all, Fas/Fas-L) interactions, but also with other lymphocyte-released molecules, such as IFN- γ , which play a still partially unknown role in the development of the allergic reaction. On the other hand, tissue damage within lesional ACD is mainly achieved through the activity of cells other than CD8⁺ T lymphocytes, such as Th1, Th17 and Th1/Th17 lymphocytes and even NK cells, which are capable of triggering keratinocyte apoptosis by non-antigen-specific modalities.

Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Scienze chirurgiche, Università di Parma.

Dr. Fabio Zambito-Spadaro, Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Scienze chirurgiche, Università di Parma, Via Gramsci 14, 43126 Parma (e-mail: fabiozambitospadaro@gmail.com).

Il lavoro è stato presentato, in parte, in occasione dell'XI Congresso nazionale SIDAPA (Bari, 29 settembre 2011).

Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.

Accettato per la pubblicazione il 25 gennaio 2012.

Intriguingly, moreover, apoptosis in DAC lesions is not merely limited to keratinocytes. Other cells undergo apoptosis, including: (i) Langerhans cells, which, when hapten-loaded, are killed by cytolytic T lymphocytes in a fashion similar to keratinocytes apoptosis; (ii) CD4⁺ T lymphocytes, which undergo apoptosis triggered by CD8⁺ T lymphocytes; (iii) dendritic cells, which are suppressed, through Fas/Fas-L cytolytic modalities, by CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cells; (iv) activated T lymphocytes, which can be presumably killed, in antigen-specific manner, by Fas-L⁺ dendritic cells. The latter apoptotic pathway might be opened even by Fas-L⁺ Langerhans cell: as shown in our laboratory, Langerhans cells, which do not express Fas-L on the plasma membrane when they are tested in resting normal human epidermis in situ, become able to express Fas-L when isolated/activated: this hypothesis, however, has to be confirmed by further investigations. In conclusion, contact allergy should be considered in a vast scenario dealing not only with keratinocyte apoptosis, but also with apoptosis of several pro-inflammatory cells, including CD8⁺ (Tc1, Tc2) cells, CD4⁺ (Th1, Th17) cells, dendritic cells, Langerhans cells. Indeed, keratinocyte apoptosis may be envisioned as favourable, because it is accompanied by clearance of haptens that are loaded to keratinocyte themselves. On the other hand, apoptosis of inflammatory cells infiltrating ACD lesions may be regarded as favourable too, because it can suppress the pro-inflammatory cellular/molecular forces that support the development of ACD, thus favouring the modulation, and hopefully the resolution, of ACD itself.

Key words: allergic contact dermatitis, apoptosis, cytolysis, keratinocytes, T lymphocytes.

Introduzione

È ben noto che la morte cellulare per apoptosi è responsabile, insieme alla proliferazione cellulare e alla differenziazione cellulare, del controllo dell'omeostasi dell'organismo¹. L'apoptosi si realizza attraverso due programmi principali: l'uno riguarda meccanismi suicidi di singole cellule che attivano il loro intrinseco programma apoptotico²⁻⁴; l'altro riguarda i meccanismi molecolari citotossici messi in opera da linfociti T citolitici (CTL) contro cellule bersaglio specifiche^{2,5,6}. A quest'ultimo proposito, i meccanismi legati alla citolisi mediata da CTL⁷ sono classicamente riconducibili a due fondamentali vie molecolari^{8,9}: la prima è mediata da molecole citolitiche solubili sintetizzate e liberate dai CTL, delle quali la perforina e le proteasi ad essa correlate sono le meglio caratterizzate; la seconda è dipendente dall'interazione tra i recettori espressi sulla superficie di cellule bersaglio e i loro ligandi espressi sulla membrana plasmatica dei CTL. Le interazioni più studiate a tale proposito sono quelle intercorrenti tra i membri della famiglia recettoriale TNF-R (quali ad esempio Fas) e i loro ligandi membri della famiglia TNF (quali ad esempio Fas-L)^{5,6,8,9}.

La dermatite allergica da contatto (DAC) è stata definita "risultato di una risposta immunitaria mediata da cellule T ad apteni"¹⁰, "in seguito al contatto della cute con l'aptene sensibilizzante, in individui sensibilizzati"¹¹. Già nel 1981, d'altro canto, i cheratinociti (CH) furono proposti quali cellule bersaglio

di CTL in un modello di allergia da contatto al trinitroclorobenzene ricavato nell'animale da esperimento (ipersensibilità da contatto)¹². Alla fine degli anni '90, d'altra parte, quattro lavori dimostrarono che sia la DAC sia l'ipersensibilità da contatto sono mediate da CTL CD8⁺ aptene-specifici, i quali possono utilizzare la via molecolare Fas/Fas-L ovvero quella mediata da perforina¹³⁻¹⁶.

Il ruolo patogenetico prioritario giocato nella DAC dai CTL nei confronti dei CH "caricati" dall'aptene è ormai ben riconosciuto, ma altre cellule vengono ritenute in grado di ricoprire ruoli diversi nel contesto del quadro apoptotico riscontrabile nella DAC: primi tra tutti, i linfociti T "helper" (Th)1 e i linfociti Th17, che sarebbero coinvolti nella amplificazione della reazione allergica^{17,18}, e perfino le cellule "natural-killer" (NK) che sono state recentemente riscontrate in grado di contribuire al danno tissutale, provocando apoptosi dei CH con meccanismo aptene-indipendente¹⁹.

D'altra parte, l'apoptosi nella DAC può riguardare non soltanto i CH, ma anche altre cellule epidermiche²⁰, nonché cellule pro-infiammatorie svariate, quali diverse sottoclassi di linfociti T e cellule dendritiche (CD) di vario tipo.

In considerazione, dunque, della notevole quantità di dati, riguardanti l'apoptosi nella DAC, emersi negli ultimi venti anni in letteratura, della contraddittorietà tra alcuni di essi e della recente emergenza di numerosi attori fisiopatologici, talora imprevedibili, nello scenario patogenetico e immunobiologico della DAC, la presente rassegna si propone di focalizzare taluni dei problemi, soprattutto i più recenti e

i più importanti, riguardanti tale complesso ma affascinante argomento.

Apoptosi dei cheratinociti indotta da cellule T specifiche

Già trenta anni or sono Katz *et al*¹² dimostrarono che le alterazioni epidermiche nell'ipersensibilità da contatto possono essere riconducibili, almeno in gran parte, all'attività di cellule effettrici citotossiche sensibilizzate. L'evento chiave nella patogenesi della DAC veniva successivamente individuato nella apoptosi dei CH, indotta da cellule T attivate che infiltrano la cute²¹. Cellule T citotossiche, in effetti, sono in grado, notoriamente, di riconoscere specificamente molecole codificate dal complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), di classe I o II, complessate con frammenti di peptide antigenico espresse sulla superficie di cellule bersaglio, e quindi distruggerle senza alterare le cellule adiacenti che non esprimono l'antigene rilevante²². A tale riguardo, è ben noto che, mentre le cellule T CD4⁺ specifiche sono generate attraverso l'attività di antigeni legati a MHC di classe II, le cellule T CD8⁺ specifiche sono generate attraverso l'attività di antigeni legati a MHC di classe I. Essendo, dunque, come accennato in precedenza, la DAC il risultato di una risposta immunitaria mediata da cellule T ad apteni applicati sulla cute¹⁰, nasce ovvia la questione relativa alla natura della/e sottopopolazione/i T cellulare/i responsabile/i della citotossicità esercitata nella DAC nei confronti dei CH.

I primi studi condotti al riguardo parvero favorire l'ipotesi che la DAC fosse riconducibile all'attività di cellule T specifiche CD4⁺ della sottoclasse Th1²³⁻²⁵. Più recentemente, al contrario, è stato sottolineato il ruolo cruciale giocato dai CTL isolati da test epicutanei specifici¹⁶ e, in maniera ancor più interessante, è stato mostrato che pazienti affetti da DAC provocata da sensibilizzazione al nichel sviluppavano risposte T CD8⁺ nichel-specifiche, mentre ciò non si verificava in individui di controllo non allergici¹³.

Il ruolo pro-apoptosico sostenuto nella DAC, quali cellule effettrici, dai CTL CD8⁺ può ormai ritenersi universalmente riconosciuto, mentre più discusso è il ruolo giocato, quali cellule effettrici ovvero no, dai linfociti CD4⁺. Già nel 1990, infatti, nell'ipersensibilità da contatto talune cellule CD4⁺ venivano accreditate di un ruolo

effettore, ma altre cellule CD4⁺ addirittura di un ruolo sottoregolatore della reazione²⁶. In seguito, la popolazione T cellulare aptene-sensibilizzata veniva distinta funzionalmente in cellule effettrici CD8⁺ Tc1 produttrici di interferone (IFN)- γ e cellule sottoregolatrici CD4⁺ Th2 produttrici di interleuchina (IL)-4 e IL-10²⁷. In maniera ancora più interessante, veniva successivamente dimostrato che CH "caricati" con nichel risultavano notevolmente suscettibili a citotossicità nichel-specifica indotta da cellule CD8⁺, sia "T citotossiche" (Tc)1 che Tc2, nonché, sebbene con minore intensità, da cellule CD4⁺ Th1, ma risultavano, al contrario, resistenti a citotossicità mediata da cellule CD4⁺ Th2¹⁵. Un ruolo non effettore, se non addirittura soppressivo, per le cellule CD4⁺ nell'ipersensibilità da contatto fu confermato, in seguito, dall'osservazione che, mentre cellule T CD8⁺ raggiungevano la sede elicitativa precocemente così precedendo l'insorgenza dell'apoptosi cheratinocitaria, le cellule CD4⁺ raggiungevano tale sede, al contrario, soltanto quando lo sviluppo apoptosico aveva già raggiunto il massimo grado²⁸. Una visione sintetica relativa al controverso ruolo giocato dalle cellule T CD4⁺ nella fase elicitativa della DAC può ipotizzare, a nostro parere, un duplice ruolo per tale classe T cellulare: una sottopopolazione di cellule CD4⁺ potrebbe giocare, accanto alle cellule CD8⁺, un ruolo effettore pro-apoptosico nella DAC, e le modalità attraverso le quali l'antigene raggiunge il sistema immune (presumibilmente collegate al meccanismo di "caricamento" MHC) potrebbero influenzare una predominanza CD4⁺ ovvero CD8⁺²⁹; d'altra parte, un'altra sottopopolazione CD4⁺, presumibilmente assimilabile a quella dei linfociti T regolatori (Treg) CD4⁺ CD25⁺, sarebbe invece dotata di attività soppressiva nei confronti della fase elicitativa della DAC. Il bilancio tra i CTL pro-apoptosici CD8⁺ e quelli CD4⁺, nonché il bilancio tra le cellule CD4⁺ pro-apoptosiche e quelle soppressive, infine, può essere influenzato, a detta di taluni Autori³⁰, sia dalla "forza" degli apteni in gioco, sia dalla entità del "pool" delle cellule CD8⁺.

Meccanismo molecolare apoptosico

Come accennato in precedenza, nel contesto delle coppie ligando/recettore espresse sulla membrana delle cellule citotossiche/celle bersaglio capaci di sostenere l'apoptosi dei

CH ad opera dei CTL nella DAC, i modelli più noti sono rappresentati dalle coppie TNF (CTL)/TNF-R1 (CH), e, soprattutto, Fas-L (CTL)/Fas (CH). In particolare, è stato chiaramente dimostrato che l'apoptosi dei CH Fas-positivi mediata da cellule T Fas-L-positive gioca un ruolo patogenetico "chiave" nella DAC²¹. In tale articolo, tuttavia, gli Autori ammettevano di non essere riusciti a dimostrare vie molecolari diverse da quella Fas/Fas-L, in grado di indurre apoptosi dei CH, nel loro modello. Al contrario, altri studi hanno mostrato che sono in grado di determinare apoptosi dei CH sensibilizzati anche molecole sintetizzate e liberate dai CTL, quali perforina/granzima e, d'altro canto, IFN- γ , come brevemente riassunto qui di seguito.

Il meccanismo molecolare apoptotico perforina/granzima-mediato e, rispettivamente, quello Fas/Fas-L-mediato si sono mostrati cruciali nello scatenamento dell'apoptosi dei CH da parte dei CTL CD8⁺ in un elegante studio¹⁴ condotto su animali da esperimento privi di perforina ovvero di Fas/Fas-L. I topi privi di entrambi tali sistemi molecolari non si mostrarono capaci di sviluppare ipersensibilità da contatto, né di generare CTL aptene-specifici; al contrario, sia i topi privi di Fas, sia quelli privi di Fas-L, sia quelli privi di perforina svilupparono ipersensibilità da contatto e generarono CTL aptene-specifici. Gli Autori conclusero che l'ipersensibilità da contatto era dipendente necessariamente da meccanismi apoptotici, in quanto richiede obbligatoriamente la via molecolare Fas/Fas-L-mediata ovvero quella perforina-mediata¹⁴.

Recentemente è stato dimostrato che le cellule T CD8⁺ antigene-specifiche (che producono IFN- γ) sono in grado di eliminare i CH portatori di antigene dotati di potenziale clonogenico (che esprimono recettore per IFN- γ) attraverso un meccanismo IFN- γ -dipendente³¹. Tale meccanismo, tuttavia, non è completamente noto, anche se è ben noto che IFN- γ è capace di distruggere *in vitro* linee epiteliali "trasformate"³². Non va tuttavia sottaciuto che l'IFN- γ liberato da cellule effettrici CD8⁺ nella DAC provoca la soprarregolazione dell'espressione di Fas¹³, nonché di molecole MHC di classe I, da parte dei CH. Come conseguenza, viene da un lato favorita la presentazione di molecole peptidiche endogene cheratinocitarie attraverso i determinanti MHC di classe I,

mentre dall'altro risulta aumentata la citolisi Fas-mediata dei CH. L'attività pro-apoptotica accreditata a IFN- γ sarebbe dunque riconducibile, in ultima analisi, a un incremento di quella sostenuta dal sistema Fas/Fas-L-mediato³³.

Va sottolineato, infine, che il meccanismo pro-apoptotico Fas-L-mediato scatenato dai CTL CD8⁺ Fas-L⁺, che determina apoptosi dei CH epidermici Fas⁺ sensibilizzati, risparmia tuttavia i CH basali (la spongiosi, infatti, è un evento soprattutto sopra-basale). Tale resistenza all'apoptosi sarebbe dovuta alla dotazione, da parte dei CH basali, della molecola "Flice-inhibitory protein" citoplasmatica (cFLIP), la quale, come noto, blocca la catena molecolare apoptotica che normalmente, a partenza dal recettore Fas, induce lo scatenamento apoptotico mediato dalla caspasi-3. Nella cute lesionale di DAC, dunque, l'espressione di cFLIP da parte dei CH appare limitata al solo strato basale, mentre la caspasi-3 è stata riscontrata soprattutto negli strati soprabasali³⁴.

Apoptosi dei cheratinociti non-antigene-specifica

Mentre i CTL, come riportato più sopra, sono in grado di riconoscere con specificità le molecole MHC "complesstate" con frammenti di peptide antigenico espresse dai CH, diverse cellule del sistema innato, quali ad esempio le cellule NK e le "cellule killer attivate da linfocine", distruggono certe cellule "alterate" (ad esempio, cellule tumorali) senza mostrare specificità antigenica. Con una certa sorpresa, a questo riguardo, è stato recentemente acquisito che i CH portatori di aptene possono essere distrutti, nel contesto della lesione di DAC, con meccanismi non-antigene-specifici, ai quali contribuiscono, ad esempio, cellule in grado di liberare IL-17, ovvero cellule NK, ovvero immunociti vari reclutati secondariamente in sede elicittiva, come si riassumerà qui di seguito.

La dimostrazione che la sensibilizzazione allergica induce lo sviluppo di cellule CD8⁺ capaci di produrre non soltanto, come noto, IFN- γ , ma anche, sorprendentemente, IL-17 si rivelò ulteriormente rilevante in quanto l'elicittazione dell'ipersensibilità da contatto fu sperimentalmente neutralizzata, in una esperienza condotta già nel 2006, non tanto

dal blocco del IFN- γ , quanto piuttosto da quello della IL-17. Ancora più importante fu la successiva dimostrazione che, in sede di DAC, la responsività all'antigene risultò limitata a una popolazione di cellule Th1/IL-17 (IFN- γ + IL17⁺), la quale si mostrò più efficiente di qualsiasi altra nell'indurre espressione di ICAM-1 da parte dei CH. In effetti, tale combinazione IFN- γ /IL-17 rese i CH suscettibili a una distruzione (ICAM-1-dipendente) da parte di cellule T non-antigene-specifiche. Gli Autori conclusero che l'IL-17 amplificava la DAC permettendo alle cellule Th1 non-aptene-specifiche di distruggere i CH autologhi³⁵. D'altra parte, da studi molto recenti pare risultare ormai chiaro che, in generale, i pazienti "allergici" dispongono di notevoli quantità di cellule IL-17⁺, le quali si mostrano fenotipicamente "plastiche". In tal modo, un'immunità di tipo Th17 potrebbe essere significativamente coinvolta, in maniera sorprendentemente cruciale, nella patogenesi generale dell'allergia³⁶.

L'inatteso, diretto coinvolgimento delle cellule NK nella patogenesi della DAC è stato dimostrato in uno studio che ha consentito di mettere in evidenza che ben il 10% dell'infiltrato infiammatorio della lesione di DAC è rappresentato da cellule NK, le quali risultano in grado di indurre la apoptosi dei CH. Tali cellule NK, infatti, pur non mostrando capacità di "memoria" nei confronti degli apteni, riescono a liberare, se stimolate dalla IL-2 rilasciata dalle cellule T aptene-specifiche, IFN- γ , così promuovendo l'apoptosi di CH autologhi con modalità aptene-indipendenti. Gli Autori conclusero che l'interazione tra meccanismi immunitari innati e adattivi amplifica e rende completa la risposta elicittiva della DAC¹⁹.

La risposta apoptotica cheratinocitaria può, infine, essere amplificata attraverso un ulteriore meccanismo indiretto, messo in cantiere proprio dai CH danneggiati. Questi ultimi, infatti, sarebbero in grado di attivare vie molecolari, quali PI3K/Akt, innescate da recettori non apoptotici, con conseguente aumento di liberazione di citochine e chemochine, le quali a loro volta attrarrebbero nella sede elicittiva ulteriori elementi cellulari, eventualmente capaci di amplificare il danno indiretto a carico dell'epidermide sede di DAC³⁷.

Nella DAC l'apoptosi non riguarda esclusivamente i cheratinociti

L'evento elicittivo fondamentale nella patogenesi della DAC è rappresentato, come esaminato in dettaglio più sopra, dall'apoptosi dei CH indotta da CTL. Il quadro complessivo della DAC, tuttavia, riguarda anche la possibilità di eventi apoptotici a carico di cellule diverse dai CH, quali le cellule di Langerhans (CL), la sottopopolazione CD4⁺, le CD e i medesimi linfociti T sensibilizzati. A loro volta, le cellule in grado di provocare apoptosi dei suddetti elementi cellulari risultano essere, rispettivamente, cellule linfocitarie, cellule T CD8⁺, cellule Treg, CD e, con ogni probabilità, CL, come si espone sinteticamente qui sotto.

Essendo nella DAC ben dimostrata la capacità citolitica specifica esercitata dai CTL nei confronti dei CH in quanto questi sono cellule epidermiche portatrici di aptene, appare evidente che i medesimi CTL si ripropongono quali cellule capaci di esercitare citolisi anche nei confronti di cellule epidermiche, portatrici di aptene, di natura non cheratinocitaria, quali le CL. È notevolmente evocativo, a tale riguardo, il dato che le CL siano state riscontrate in grado di andare incontro ad apoptosi, indotta presumibilmente da linfociti, nel contesto di lesioni d'ipersensibilità da contatto²⁰, sebbene tale dato sia discutibile nel caso della DAC nell'uomo³⁸.

La predominanza, più sopra descritta, delle cellule CD8⁺ sulle cellule CD4⁺ quali cellule T effettrici di apoptosi nella DAC e nell'ipersensibilità da contatto è stata riferita a una "soppressione apoptotica" delle cellule CD4⁺ da parte delle cellule CD8⁺. In particolare, cellule CD8⁺ trinitrofenil-specifiche prevenivano attivamente *in vitro* l'attività delle cellule CD4⁺ in seguito a stretto contatto con tali cellule, e in maniera dipendente dalla espressione di Fas sulle cellule CD4⁺. Gli Autori conclusero che la sottoregolazione apoptotica, Fas/Fas-L dipendente, delle cellule CD4⁺ aptene-specifiche da parte delle cellule CD8⁺ provocherebbe la prevalenza quantitativa delle cellule T effettrici CD8⁺ e la soppressione attiva delle risposte T CD4⁺ nell'ipersensibilità da contatto³⁹.

L'apoptosi nell'allergia da contatto non comporta soltanto la possibilità d'incrementare, come finora considerato, lo sviluppo elicittivo della reazione, ma può anche riguardare, piut-

tosto, la possibilità, a quella di segno opposto, di favorire il controllo e la soppressione della reazione medesima: è quanto sembrano proporre i lavori riportati qui di seguito. Innanzitutto, è stato dimostrato che nell'ipersensibilità da contatto cellule Treg CD4⁺ CD25⁺ che esprimono Fas-L determinano citolisi a carico di DC che esprimono Fas. Gli Autori conclusero che la restrizione della funzione presentante l'antigene delle DC da parte di tale apoptosi, Fas/Fas-L-mediata, delle DC medesime rappresenta un potente meccanismo esercitato dai linfociti Treg allo scopo di sottoregolare le risposte immunitarie allergiche mediate da cellule T CD8⁺ nella cute⁴⁰.

D'altra parte, in un protocollo sperimentale d'ipersensibilità da contatto fu dimostrato, alla fine dello scorso millennio, che CD rese sperimentalmente in grado di esprimere Fas-L provocavano apoptosi, piuttosto che attivazione, di cellule T dopo interazione antigene-specifica. L'iniezione di tali CD Fas-L-positivi nel topo prima della sensibilizzazione induceva, infatti, immunosoppressione antigene-specifica⁴¹. Altri due dati della letteratura^{42,43} dimostrano, oltre a quello appena riportato⁴¹, che le CD Fas-L-positive sono in grado di esercitare apoptosi nei riguardi di cellule T specifiche Fas-positivi: (1) CD Fas-L-positive "caricate" di antigene virale erano in grado di provocare apoptosi di cellule T virus-specifiche⁴²; (2) CD linfonodali Fas-L-positivi determinavano apoptosi di cellule T attivate e diminuzione della generazione di cellule T effettrici⁴³. A noi parve verosimile⁴⁴ che un analogo effetto pro-apoptosico, teoricamente esercitabile dalle CD epidermiche (vale a dire CL) nei riguardi di linfociti T effettrici, potesse essere ipotizzato nelle fasi conclusive della DAC, eventualmente con la finalità di sopprimere, da parte di CL attivate già presenti in contesto lesionale DAC, l'eccessivo effetto pro-infiammatorio sostenuto da tali CTL. Fu testata dunque, in immunoelettromicroscopia, la possibilità espressiva di Fas-L da parte delle CL. Come era possibile presumere, le CL della cute umana normale in riposo, esaminate in immunoelettromicroscopia su tessuto *in situ*, si rivelarono Fas-L-negative in corrispondenza della membrana plasmatica (sebbene la presenza di talune molecole Fas-L fosse riscontrabile in una sede, quale quella intra-citoplasmatica, non funzionale); al contrario, CL "attivate" isolate

di fresco dalla cute umana normale, esaminate in immunoelettromicroscopia con metodica in "pre-embedding", mostrarono presenza di numerose particelle di oro colloidale in corrispondenza della superficie, a testimonianza di Fas-L-positività potenzialmente funzionale⁴⁴. La possibilità, da parte di CL Fas-L-positivi, di esercitare immunosoppressione specifica nei riguardi di CTL nel contesto della lesione di DAC, tuttavia, rappresenta per ora soltanto un'ipotesi di lavoro, e va sostenuta da eventuali studi sperimentali disegnati a tale riguardo.

Conclusioni

Il significato teleologico dell'allergia da contatto non può considerarsi, a tutt'oggi, compiutamente individuato. Da un lato, infatti, la DAC può essere considerata finalisticamente "favorevole", in quanto la citolisi dei CH potrebbe avere significato anti-infiammatorio proprio perché eliminerebbe cellule, quali i CH, potenzialmente fonte di citochine pro-infiammatorie³⁷; dall'altro lato, al contrario, la DAC nel suo complesso può essere ritenuta reazione di per sé "indesiderata", proprio perché determinerebbe danno tissutale non soltanto attraverso la citolisi dei CH, ma anche attraverso la liberazione di citochine pro-infiammatorie da parte delle cellule effettrici⁴⁵.

A noi pare che proprio il ruolo giocato dalle forze apoptosiche operative nello scenario elicittivo della DAC possa favorire una più semplice interpretazione del significato fisiopatologico dell'allergia da contatto. Nella DAC coesistono, in effetti, due tipi di apoptosi, ognuna delle quali in grado di risolvere, a nostro avviso, taluni dei problemi fisiopatologici legati alla DAC medesima: (1) l'apoptosi dei CH sarebbe volta a eliminare l'aptene "caricato" dai CH stessi; (2) l'apoptosi delle diverse cellule pro-infiammatorie che sostengono lo sviluppo elicittivo della DAC (CD, CL, linfociti T, etc) sopprimerebbe, d'altra parte, lo sviluppo incontrollato della reazione. Pare dunque possa essere verosimile, in definitiva, un'ipotesi che ritenga sostanzialmente l'allergia da contatto finalisticamente accettabile, proprio in quanto essa comporta una duplice attività apoptosica, l'una giustificabile (quella nei riguardi dei CH portatori di aptene), l'altra addirittura capace di favorire la risoluzione spontanea dell'all-

gia da contatto medesima (quella nei riguardi delle cellule pro-infiammatorie).

Come conseguenza, l'apoptosi in senso stretto non deve essere, a nostro parere, considerata un bersaglio terapeutico nel piano del trattamento della DAC. Piuttosto, è possibile condividere l'indicazione per una terapia della DAC che si proponga tre diverse finalità: blocco del richiamo dei CTL specifici alla cute; blocco della risposta dei CH a stimoli pro-infiammatori; generazione di sottoclassi di linfociti Treg in grado di controllare la risposta cutanea ad apteni applicati sulla cute⁴⁵.

Ringraziamenti

Gli autori sono grati alla Signora Rosy Gandolfi per il prezioso supporto di segreteria cortesemente prestato.

Bibliografia

- Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 1992; 356: 397.
- Cohen JJ, Duke RC, Fadok VA, et al. Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 267.
- De Panfilis G, Caruso A, Sansoni P, et al. Identification of Fas-L-expressing apoptotic T lymphocytes in normal human peripheral blood: in vivo suicide. *Am J Pathol* 2001; 158: 387.
- De Panfilis G. 'Activation-induced cell death': a special program able to preserve the homeostasis of the skin? *Exp Dermatol* 2002; 11: 1.
- De Panfilis G. CD8+ cytolytic T lymphocytes and the skin. *Exp Dermatol* 1998; 7: 121.
- De Panfilis G. Alterations in molecular killing mechanisms: implications in skin disease. *Br J Dermatol* 2001; 145: 868.
- Takayama H, Kojima H, Shinohara N. Cytotoxic T lymphocytes: the newly identified Fas (CD95)-mediated killing mechanism and a novel aspect of their biological functions. *Adv Immunol* 1995; 60: 289.
- Kägi D, Vignaux F, Ledermann B, et al. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 1994; 265: 528.
- Kojima H, Shinohara N, Hanaoka S, et al. Two distinct pathways of specific killing revealed by perforin mutant cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 1994; 1: 357.
- Grabbe S, Schwarz T. Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. *Immunol Today* 1998; 19: 37.
- Tamaki K, Nakamura K. The role of lymphocytes in healthy and eczematous skin. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1: 455.
- Tamaki K, Fujiwara H, Levy RB, et al. Hapten specific TNP-reactive cytotoxic effector cells using epidermal cells as targets. *J Invest Dermatol* 1981; 77: 225.
- Cavani A, Mei D, Guerra E, et al. Patients with allergic contact dermatitis to nickel and nonallergic individuals display different nickel-specific T cell responses: evidence for the presence of effector CD8+ and regulatory CD4+ T cells. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 621.
- Kehren J, Desvignes C, Krasteva M, et al. Cytotoxicity is mandatory for CD8(+) T cell-mediated contact hypersensitivity. *J Exp Med* 1999; 189: 779.
- Traidl C, Sebastiani S, Albanesi C, et al. Disparate cytotoxic activity of nickel-specific CD8+ and CD4+ T cell subsets against keratinocytes. *J Immunol* 2000; 165: 3058.
- Yawalkar N, Hari Y, Frutig K, et al. T cells isolated from positive epicutaneous test reactions to amoxicillin and ceftriaxone are drug specific and cytotoxic. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 647.
- Albanesi C, Cavani A, Girolomoni G. IL-17 is produced by nickel-specific T lymphocytes and regulates ICAM-1 expression and chemokine production in human keratinocytes: synergistic or antagonist effects with IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol* 1999; 162: 494.
- Albanesi C, Scarponi C, Sebastiani S, et al. A cytokine-to-chemokine axis between T lymphocytes and keratinocytes can favor Th1 cell accumulation in chronic inflammatory skin diseases. *J Leukoc Biol* 2001; 70: 617.
- Carbone T, Nasorri F, Pennino D, et al. CD56high CD16₊CD62₋ NK cells accumulate in allergic contact dermatitis and contribute to the expression of allergic responses. *J Immunol* 2010; 184: 1102.
- Kolde G. Turnover and kinetics of epidermal Langerhans cells and their dendritic precursor cells in experimental contact dermatitis: a correlated ultrastructural-morphometric and immunohistochemical evaluation. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 197.
- Trautmann A, Akdis M, Kleemann D, et al. T cell-mediated Fas-induced keratinocyte apoptosis plays a key pathogenic role in eczematous dermatitis. *J Clin Invest* 2000; 106: 25.
- Maimone MM, Morrison LA, Braciale VL, et al. Features of target cell lysis by class I and class II MHC-restricted cytolytic T lymphocytes. *J Immunol* 1986; 137: 3639.
- Sinigaglia F, Scheidegger D, Garotta G, et al. Isolation and characterization of Ni-specific T cell clones from patients with Ni-contact dermatitis. *J Immunol* 1985; 135: 3929.
- Kapsenberg ML, Res P, Bos JD, et al. Nickel-specific T lymphocyte clones derived from allergic nickel-contact dermatitis lesions in man: heterogeneity based on requirement of dendritic antigen-presenting cell subsets. *Eur J Immunol* 1987; 17: 861.
- Kapsenberg ML, Wierenga EA, Stiekema FE, et al. Th1 lymphokine production profiles of nickel-specific CD4+ T-lymphocyte clones from nickel contact allergic and non-allergic individuals. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 59.
- Gocinski BL, Tigelaar RE. Roles of CD4+ and CD8+ T cells in murine contact sensitivity revealed by in vivo monoclonal antibody depletion. *J Immunol* 1990; 144: 4121.
- Xu H, Dilulio NA, Fairchild RL. T cell populations primed by hapten sensitization in contact sensitivity are distinguished by polarized patterns of cytokine production: interferon gamma-producing (Tc1) effector CD8+ T cells and interleukin (IL) 4/IL-10-producing (Th2) negative regulatory CD4+ T cells. *J Exp Med* 1996; 183: 1001.
- Akiba H, Kehren J, Ducluzeau MT, et al. Skin inflammation during contact hypersensitivity is mediated by early recruitment of CD8+ T cytotoxic 1 cells inducing keratinocyte apoptosis. *J Immunol* 2002; 168: 3079.
- Kimber I, Dearman RJ. Allergic contact dermatitis: the cellular effectors. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 1.
- Vocanson M, Hennino A, Chavagnac C, et al. Contribution of CD4(+) and CD8(+) T-cells in contact hypersensitivity and allergic contact dermatitis. *Expert Rev Clin Immunol* 2005; 1: 75.
- De Kluyver RL, Moritz L, Harris CA, et al. Antigen-specific CD8 T cells can eliminate antigen-bearing keratinocytes with clonogenic potential via an IFN-gamma-dependent mechanism. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1841.
- Konur A, Schulz U, Eissner G, et al. Interferon (IFN)-gamma is a main mediator of keratinocyte (HaCaT) apoptosis and contributes to autocrine IFN-gamma and tumour necrosis factor-alpha production. *Br J Dermatol* 2005; 152: 1134.
- Andersen MH, Schrama D, Thor Straten P, et al. Cytotoxic

- T cells. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 32.
34. Armbruster N, Trautmann A, Bröcker EB, et al. Suprabasal spongiosis in acute eczematous dermatitis: cFLIP maintains resistance of basal keratinocytes to T-cell-mediated apoptosis. *J Invest Dermatol* 2009; 129: 1696.
 35. Pennino D, Eyerich K, Scarponi C, et al. IL-17 amplifies human contact hypersensitivity by licensing hapten nonspecific Th1 cells to kill autologous keratinocytes. *J Immunol* 2010; 184: 4880.
 36. Wilke CM, Bishop K, Fox D, et al. Deciphering the role of Th17 cells in human disease. *Trends Immunol* 2011; 32: 603.
 37. Kerstan A, Leverkus M, Trautmann A. Effector pathways during eczematous dermatitis: where inflammation meets cell death. *Exp Dermatol* 2009; 18: 893.
 38. De Panfilis G, Giannotti B, Manara GC, et al. Macrophage-T lymphocyte relationships in man's contact allergic reactions. *Br J Dermatol* 1983; 109: 183.
 39. Martin SF, Dudda JC, Delattre V, et al. Fas-mediated inhibition of CD4+ T cell priming results in dominance of type 1 CD8+ T cells in the immune response to the contact sensitizer trinitrophenyl. *J Immunol* 2004; 173: 3178.
 40. Gorbachev AV, Fairchild RL. CD4+ CD25+ regulatory T cells utilize FasL as a mechanism to restrict DC priming functions in cutaneous immune responses. *Eur J Immunol* 2010; 40: 2006.
 41. Matsue H, Matsue K, Walters M, et al. Induction of antigen-specific immunosuppression by CD95L cDNA-transfected 'killer' dendritic cells. *Nat Med* 1999; 5: 930.
 42. Wolfe T, Asseman C, Hughes A, et al. Reduction of antiviral CD8 lymphocytes in vivo with dendritic cells expressing Fas ligand-increased survival of viral (lymphocytic choriomeningitis virus) central nervous system infection. *J Immunol* 2002; 169: 4867.
 43. Legge KL, Braciale TJ. Lymph node dendritic cells control CD8+ T cell responses through regulated FasL expression. *Immunity* 2005; 23: 649.
 44. De Panfilis G, Venturini M, Lavazza A, et al. The tolerogenic molecule CD95-L is expressed on the plasma membrane of human activated, but not resting, Langerhans' cells. *Exp Dermatol* 2003; 12: 692.
 45. Cavani A, De Luca A. Allergic contact dermatitis: novel mechanisms and therapeutic perspectives. *Curr Drug Metab* 2010; 11: 228.

Il laboratorio nella valutazione delle proprietà irritanti e sensibilizzanti dei cosmetici

Anna Balato, Nicola Balato, Matteo Megna, Annunziata Raimondo, Mariateresa Cantelli, Teresa Cirillo e Cataldo Patruno

Riassunto. I test per valutare il potenziale irritante e/o sensibilizzante di un cosmetico sono di norma effettuati attraverso sperimentazioni su animali che, oltre essere eticamente non accettabili, forniscono risultati non sempre adattabili all'uomo. Anche per tali motivi, il settimo emendamento delle direttive sui cosmetici in Europa vieta i test *in vivo* su animali (direttiva 2003/15/EC), evidenziando quindi la necessità di sviluppare metodiche alternative *in vitro*. Questa rassegna si propone di revisionare gli aspetti tecnici, i vantaggi, i limiti ed i risultati di validazione delle metodiche *in vitro* fino ad oggi sviluppate.

Parole chiave: dermatite irritante da contatto, dermatite allergica da contatto, test su cosmetici, test *in vitro*, sicurezza dei consumatori.

Summary. *The laboratory role in the assessment of sensitization and irritation potential of cosmetics.* The skin is the main target tissue for exogenous *noxae*, protecting us from harmful environmental hazards, UV-irradiation and endogenous water loss. Stratum corneum is an effective barrier against a vast number of substances. Furthermore, keratinocytes play crucial roles in the immune surveillance and the initiation, modulation and regulation of inflammation in the epidermis. Regarding cutaneous inflammatory reactions, skin irritation and sensitization are two of the most common adverse effect in humans. Irritant contact dermatitis is the result of an innate inflammatory response of the skin to direct injury caused by a single, repeated or continued application of an irritant, while allergic contact dermatitis is a delayed type of induced sensitivity (allergy) resulting from cutaneous contact with a specific allergen to which the patient has developed a specific sensitivity. For reasons of human safety assessment, new cosmetics are evaluated for irritation and sensitization potentials by application to animals followed by visible changes such as erythema and oedema. Testing for allergic and/or irritant responses in animals potentially causes pain and discomfort. Moreover, the results are not always predictive for those found in humans. Due to ethical and scientific questions and on account of the 7th amendment of the European Council Directive 76/768/EEC, the authors see the requirement to drive the development of alternative tests for cosmetics. In order to replace animal testing and to improve the prediction of allergic and/or irritant responses, the European Cosmetics Association (COLIPA), is developing and using several alternative *in vitro* tests. In this respect, the use of *in vitro* reconstructed organotypic skin equivalents are mostly favoured, because of their increasingly close resemblance to human skin. Therefore, this article centres on cosmetic safety and provides the readership an overview of the state of art of cellular mechanisms of skin irritation and allergy. *In vitro* irritation models can be divided into 4 categories by identifying an increasing level of complexity: single-cell assay, epidermal equivalent, skin equivalent and excised skin. On the other hand, *in vitro* sensitization assays range from developing models to predict epidermal bioavailability, investigating how cosmetics are converted within the skin (protein binding, skin metabolism) and characterizing how cosmetics activate skin immune cells (investigating dendritic cells, dendritic cells-like, intracellular signalling pathways, gene and receptor expression changes). Such studies have the potential to identify novel biomarkers and to elucidate the mechanism of irritant and allergic contact dermatitis. Therefore, this article centres on cosmetic safety and provides the readership with an overview of the state of art of cellular mechanisms of skin irritation and allergy and summarizes the results of the most commonly used *in vitro* assays to evaluate cosmetic safety.

Key words: irritant contact dermatitis, allergic contact dermatitis, cosmetic testing, tests *in vitro*, consumer safety.

Introduzione

I prodotti di uso quotidiano come sapone, shampoo, lozioni per il corpo e antitraspiranti (tutti classificati come “cosmetici” dall’Unione Europea¹) sono usati da milioni di consumatori. I test per valutare il potenziale irritante e/o allergizzante di tali sostanze sono sempre stati effettuati in vivo su animali. Questi, tuttavia, oltre a causare loro dolore e disagio, forniscono risultati che non sempre riproducono ciò che accade nell’uomo. A causa delle ragioni etiche e scientifiche esposte, il settimo emendamento delle direttive sui cosmetici in Europa vieta i test *in vivo* su animali a partire dall’11 marzo 2009; i test di tossicità, invece, saranno proibiti a partire dall’11 marzo 2013 (direttiva 2003/15/EC)¹.

Con la presente rassegna ci proponiamo di fornire una panoramica sullo stato dell’arte dei metodi alternativi *in vitro* per la valutazione della sicurezza dei cosmetici, attualmente in continuo sviluppo.

Modelli *in vitro* per analizzare il potenziale irritativo

Attualmente i modelli irritanti *in vitro* possono essere divisi in 4 categorie individuando un livello di complessità crescente: colture cellulari sommerse di un singolo tipo cellulare, epidermide ricostituita, cute ricostituita e cute escissa.

Colture cellulari di un singolo tipo cellulare

Questo approccio si basa sull’utilizzo di un singolo tipo cellulare che viene lasciato crescere completamente sommerso nel mezzo di coltura. E’ teoricamente possibile impiegare sia cheratinociti umani primari che linee cellulari; tuttavia, i secondi permettono amplificazioni illimitate di cellule derivate da un’unica fonte assicurando un’alta riproducibilità intra- ed inter-laboratoristica. Le linee cellulari più frequentemente adoperate sono i cheratinociti umani immortalizzati HaCaT ed i fibroblasti di topo 3T3 e 3T6.

Il ricorso a questa metodica permette di effettuare contemporaneamente uno screening di primo livello di un vasto numero di composti idrosolubili potenzialmente irritanti, attraverso l’impiego di piastre da 96 pozzetti.

Inoltre, è possibile investigare fenomeni che si verificano a livello cellulare, quali il rilascio di enzimi, i pathway di traduzione del segnale e la secrezione di citochine/chemochine che fanno seguito al danno di membrana mediato dalla sostanza irritante². Il limite più rilevante consiste nell’estrema semplificazione di tale sistema sperimentale poiché sprovvisto dello strato corneo che in vivo esercita una funzione di barriera essenziale nei confronti dei composti irritanti, determinando una sovrastima del potenziale irritante della sostanza^{2,4}. Un ulteriore ostacolo è rappresentato dall’impossibilità di testare sostanze scarsamente idrosolubili^{2,4}.

Epidermide ricostituita

I modelli di epidermide ricostituita rappresentano la principale alternativa *in vitro* per valutare il potenziale irritante dei cosmetici. I cheratinociti primari, isolati da cute proveniente da procedure chirurgiche di routine, sono messi in coltura ed esposti all’aria (air-exposed culture model); ciò determina il completo differenziamento dell’epidermide in tutti i suoi strati⁵. La presenza dello strato corneo, infatti, indica che, così come nella cute umana, le colture sono dotate di una funzione barriera e che quindi le sostanze da testare, idrosolubili e non, possono essere applicate topicamente simulando l’applicazione nell’uomo. Tali modelli, tuttavia, esibiscono solo una parziale funzione barriera, con una maggiore costante di permeabilità per l’acqua rispetto alla cute umana⁶.

Diverse possibili cause sono state suggerite per spiegare tale limite, come un’alterata desquamazione⁷ e la presenza di foci non cheratinizzati⁸. Altro importante limite dell’epidermide ricostituita è l’assenza del derma, condizione che contribuisce alla sua maggiore permeabilità poiché la vascolarizzazione sottocutanea in vivo permette di rimuovere eventuali sostanze che hanno superato la giunzione dermo-epidermica. *In vitro* questo sistema non è presente, rendendo il test molto sensibile ma poco specifico, con un aumentato rischio di falsi positivi⁷.

Nonostante queste limitazioni, l’epidermide ricostituita sembra comunque essere un valido modello per lo studio *in vitro* dell’effetto irritante dei cosmetici. In un recente studio⁹ si è dimostrato che i modelli di epidermide ri-

costituita, mimando l'epidermide umana, mostrano risultati più attendibili rispetto a quelli ottenuti dalla sperimentazione su animali; il loro utilizzo, pertanto, avrebbe il doppio vantaggio di ridurre la sperimentazione su animali e offrire, rispetto a quest'ultima, risultati più attendibili e riproducibili. In commercio sono disponibili diversi modelli di epidermide ricostituita: SkinEthic RHE® (SkinEthic Laboratories, France), EpiDerm® (MatTek Corporation, Ashland, USA), EPISKIN® (SkinEthic Laboratories, France), EST-1000® (CellSystems Biotechnologie Vertrieb, Troisdorf, Germany) e LabCyte Epimodel® (J-Tec Japan Tissue Engineering). Tuttavia, solo EpiDerm®, EPISKIN® e RHE SkinEthic® hanno superato lo studio di validazione eseguito dal Centro di Validazione dei metodi alternativi (ECVAM)¹⁰ e quindi accettati dall'Unione Europea¹⁰.

SkinEthic RHE®

Il modello di epidermide ricostituita SkinEthic RHE® si compone di cheratinociti umani normali, messi in coltura per 17 giorni su speciali inserti di policarbonato (area 0,5 cm²) ed esposti all'aria¹¹. La struttura dell'epidermide così ottenuta è molto simile a quella dell'epidermide umana. Nel novembre 2008 il modello SkinEthic RHE® ha superato lo studio di validazione condotto dall'ECVAM confermandosi come valido metodo alternativo per lo studio *in vitro* dell'effetto irritante dei cosmetici.

La prima descrizione del modello in letteratura evidenziava la presenza di desmosomi, emidesmosomi, granuli lamellari, lamina densa e filamenti di ancoraggio dell'epidermide al derma¹¹. Tuttavia Ponec *et al*¹², successivamente, non hanno confermato questi dati riscontrando solo la presenza di emidesmosomi ma non di filamenti di ancoraggio. La composizione lipidica del modello, invece, è abbastanza fedele a quella del tessuto nativo. Tutte le maggiori classi di lipidi sono presenti, in particolar modo ceramidi e colesterolo. Il corretto differenziamento e stratificazione del modello SkinEthic RHE® sono dimostrati dall'espressione, da parte dei cheratinociti, di specifici biomarker, quali cheratina 1, 10, SPRR2, SPRR3, loricerina e involucrina¹³.

Uno dei primi studi condotti per valutare l'efficacia del modello prevedeva l'esposizione della cute artificiale a sodio lauril solfato, calcipotriolo e acido retinoico per 24 h. Il livello

di espressione genica dell'interleuchina 1 α (IL-1 α) era il parametro valutato per misurare la risposta infiammatoria dell'epidermide artificiale all'effetto irritante della sostanza. I risultati venivano confrontati con quelli ottenuti in vivo in seguito all'applicazione di patch test: essi mostravano una buona correlazione statistica, dimostrando l'attendibilità del test *in vitro*¹⁴. Nel 2002 veniva condotto uno studio per determinare la riproducibilità del metodo. Venne stabilito un protocollo in cui, in seguito all'esposizione a SLS, la misurazione della vitalità cellulare avveniva attraverso MTT test [(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)], mentre quella della risposta infiammatoria attraverso i livelli di espressione di IL-1 α e IL-8. I risultati sulla vitalità cellulare dimostravano che SkinEthic RHE® è il più sensibile tra i modelli di epidermide ricostituita, ma anche il meno riproducibile¹⁵. Recentemente Tornier *et al*¹⁶ hanno ottimizzato il protocollo creando un nuovo modello chiamato SkinEthic RHE "42 bis". Il nuovo protocollo prevede un tempo di esposizione di 42 min e un tempo post-incubazione, prima di misurare la vitalità cellulare e la risposta infiammatoria, di 42 h. Il nuovo test mostra una accuratezza, specificità e sensibilità del 70%. SkinEthic RHE "42 bis" irritation test, pertanto, sarà validato secondo ECVAM¹⁶.

EpiDerm®

EpiDerm® è stato introdotto in commercio nel 1993 e descritto per la prima volta da Cannon *et al*¹⁷ nel 1994. Tale modello consiste in cheratinociti umani normali messi in coltura in speciali inserti esposti all'aria per formare un modello *in vitro* di epidermide differenziata (area 0,6 cm²). EpiDerm® è stato validato dall'ECVAM come alternativa *in vitro* per la valutazione dell'effetto irritante dei cosmetici.

La morfologia dell'epidermide si differenzia dalla cute normale per l'assenza delle strutture di ancoraggio dell'epidermide al derma, per l'assenza di una struttura dermica sottostante al filtro di policarbonato su cui i cheratinociti sono messi in coltura. Tutti gli strati dell'epidermide sono ben rappresentati, con uno spessore di 28-43 μ m. Nel 50% delle colture è inoltre presente un'irregolare membrana basale con emidesmosomi. Lo strato corneo si compone di 16-25 strati cellulari con uno spessore di 12-28 μ m. Il profilo lipidico include tutte le maggiori

classi di lipidi presenti nell'epidermide umana normale. Il modello mostra un'elevata concentrazione di glucosilceramidi in particolare del ceramide 2; colesterolo e acidi grassi liberi sono invece meno rappresentati rispetto al tessuto originale¹⁷.

Cannon *et al*¹⁷ sono stati i primi a testare questo modello per la valutazione del potenziale irritante dei cosmetici: 16 formulazioni contenenti tensioattivi furono testate su diversi lotti di EpiDerm® in tre differenti laboratori; i risultati ottenuti furono messi a confronto tra loro e con quelli ottenuti in vivo. Essi mostrarono una buona correlazione dimostrando la validità e l'attendibilità del modello¹⁶. Da allora diversi studi sono stati condotti per testare la sensibilità, la specificità, la capacità predittiva e la riproducibilità intra- e inter-laboratorio del test: tutti hanno confermato il risultato ottenuto da Cannon *et al*. Il livello di irritazione è determinato misurando i livelli di mRNA dell'IL-1 α . Quelli ottenuti da EpiDerm®, dopo contatto con SLS, sono più alti rispetto a quelli rinvenuti da biopsia cutanea. Questa differenza sembra essere attribuibile alla parziale funzione barriera svolta dal modello, rendendo, quindi, sufficienti concentrazioni più basse del prodotto per sviluppare una risposta irritante rispetto alla cute umana¹⁸. La limitata funzione barriera rende il test molto sensibile e quindi con un rischio più alto, rispetto ai test in vivo, di falsi positivi, che peraltro, è il principale limite che accomuna i modelli di epidermide ricostituita.

EpiSkin®

Il modello di cute ricostituita EpiSkin® è stato sviluppato da Tinois *et al* nell'aprile del 1997¹⁰. Il modello è costituita da una matrice di collagene bovino tipo I, rappresentante il derma, e da un film di collagene umano tipo IV, che funge da interfaccia tra il derma e la sovrastante epidermide (area 1,1 cm²)¹¹. Nell'aprile del 2007, il modello è stato validato dall'ECVAM come metodo alternativo per i test irritativi *in vitro*.

EpiSkin® mostra tutti gli strati cellulari presenti nell'epidermide umana, alcune differenze si osservano nella morfologia delle cellule soprabasali: esse, infatti, tendono ad avere una forma cubica e più irregolare. Sono presenti tutte le maggiori classi di lipidi della cute umana: fosfolipidi, ceramidi, glucosfingolipidi,

colesterolo e acidi grassi liberi. Molto diversa è invece la concentrazione di di-trigliceridi, che è del 20,9% rispetto all'8,9% dell'epidermide umana. L'espressione di specifici biomarker, quali cheratina 1, 6 e 10, SKALP, SPRR2 e SPRR3 dimostra che il modello si compone di epidermide differenziata e correttamente stratificata.

Sono stati condotti molti studi per investigare la capacità del modello di identificare gli agenti irritanti. Uno dei primi studi, eseguito nel 1993¹⁹, prevedeva l'esposizione dell'epidermide ricostituita EpiSkin® a sostanze tensioattive. La capacità irritante del prodotto veniva valutata misurando il livello di IL-1 α e la permeabilità alla fluoresceina, indice della compromissione della funzione barriera dello strato corneo. I risultati confrontati con quelli ottenuti in vivo mostravano all'analisi statistica una buona correlazione. In un altro studio²⁰ veniva determinata la concentrazione di tensioattivo necessaria per causare un effetto irritante: i risultati mostravano che *in vitro* essa era minore rispetto a quella richiesta in vivo. Gli Autori suggerivano che questa differenza era da attribuire alla deficiente funzione barriera esercitata dallo strato corneo del modello. Faller *et al*²¹ usarono EpiSkin® per valutare l'effetto irritante di 22 diversi cosmetici; i risultati vennero confrontati con quelli ottenuti in vivo. MTT test, il rilascio di IL-1 α e lattico deidrogenasi erano i parametri per valutare la vitalità cellulare e l'azione irritante dei prodotti testati. Anche in questo caso il modello si è dimostrato un valido metodo alternativo. EpiSkin®, pertanto, offre ottimi risultati in termini di sensibilità, specificità, accuratezza, predittività e riproducibilità intra-inter-laboratorio²⁰.

Cute ricostituita

I modelli di cute ricostituita offrono alla ricerca dermo-cosmetica la possibilità di studiare l'interazione dermo-epidermica e il suo ruolo nello sviluppo della dermatite da contatto irritante indotta dai cosmetici. Altro importante vantaggio, rispetto ai modelli di epidermide ricostituita, consiste nell'ottenere una coltura a lungo termine, con la possibilità di applicazioni ripetute del prodotto da testare. L'attendibilità del modello è testimoniata dall'espressione di alcuni biomarker, quali citocheratina 10, filagrina, transglutaminasi,

laminina e collagene tipo IV, nonché di proteine della lamina basale, e di proteine della matrice extracellulare come l'elastina²².

Il primo modello di cute ricostituita è stato quello proposto da Karesek *et al*²³ nel 1971 e sviluppato da Bell *et al*²⁴ nel 1979. La costruzione del modello prevede due tempi: per ottenere lo strato dermico i fibroblasti sono messi in coltura, dove formano un gel di collagene; su quest'ultimo, in un secondo tempo, sono posizionati cheratinociti che, proliferando e differenziandosi, formeranno lo strato epidermico. L'ancoraggio del multistrato di cheratinociti al sottostante strato dermico necessita dello sviluppo di emidesmosomi e tonofilamenti. Dopo 3 settimane di coltura, sull'equivalente dermico così ottenuto, vengono disposti i cheratinociti che, dopo 2 settimane formeranno uno strato epidermico differenziato ed ancorato al sottostante derma. Le analisi immunoistochimiche ed ultrastrutturali della giunzione dermo-epidermica hanno consentito di mostrare la presenza delle strutture costituenti la membrana basale: collagene tipo IV e VII, laminina, lamina densa e numerosi emidesmosomi. La partecipazione dei fibroblasti nella formazione di queste strutture è molto importante, in quanto essi, con la produzione e l'organizzazione dei componenti della matrice extracellulare, stimolano l'adesione dei cheratinociti e la formazione della giunzione dermo-epidermica²⁵.

In letteratura non ci sono dati circa l'utilizzo di questo complesso modello per la valutazione dell'effetto irritante dei cosmetici. Uno dei suoi maggiori usi è rappresentato dalla valutazione dell'efficacia dei cosmetici. Questo avviene valutando, per esempio, la sintesi di collagene per le formulazioni ad azione anti-invecchiamento cutaneo, la sintesi e il differenziamento del marker delle filaggrine per le formulazioni ad azione idratante; quest'ultime, particolarmente utilizzate nelle patologie cutanee caratterizzate da xerosi marcata, quali la dermatite atopica e la psoriasi²⁶.

Cute escissa: test Prediskin e SIFT (Skin Integrity Function Test)

Il test Prediskin (Biopredic, Rennes, France) prevede l'esposizione di colture di cute umana alle sostanze da testare e la successiva valutazione degli effetti sulla vitalità cellulare usando il test di vitalità cellulare MTT²⁷.

Il protocollo iniziale, incluso nello studio di pre-validazione ECVAM, prevedeva l'utilizzo di dischi di cute prelevati da pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia plastica, privati dello strato corneo ed incubati in occlusiva con la sostanza da testare per 20 h. Per distinguere i composti irritanti da quelli non irritanti era prevista la valutazione di due parametri: la percentuale della vitalità cellulare e l'istologia del tessuto (condotta in caso di vitalità cellulare >35%). Tuttavia, nel corso delle fasi I e II dello studio di pre-validazione ECVAM, la performance del saggio non è stata ottimale, soprattutto a causa della sua tendenza ad attribuire un potenziale irritante anche a sostanze notoriamente sprovviste di tale caratteristica²⁷. Ciò ha impedito al test Prediskin di procedere alla fase III dello studio di pre-validazione ed ha evidenziato la necessità di apportare modifiche al protocollo ed al modello predittivo associato. L'impiego di cute umana a tutto spessore, la rinuncia alla condizione di occlusione e la decisione di basarsi solo sulla valutazione della percentuale di cellule vitali (in caso di vitalità cellulare ≤60%, la sostanza testata è indicata come irritante) hanno fatto in modo che in studi addizionali (ripetizioni della fase I di pre-validazione) il test Prediskin migliorasse considerevolmente la sua capacità di distinguere i composti irritanti da quelli non irritanti^{4,27}.

SIFT (Skin Integrity Function Test) è un test sviluppato dal Laboratorio centrale di Tossicologia di Syngenta (Macclesfield, UK) come screening preliminare per valutare il potenziale irritativo cutaneo di prodotti chimici industriali, principalmente di origine surfactante. Il protocollo è basato sulla valutazione ex vivo dell'integrità della cute di topo in seguito all'esposizione al materiale da testare per 20 h. Allo scopo di valutare l'integrità di membrana sono indagate due caratteristiche: la perdita di acqua transepidermica (Trans Epidermal Water Loss: TEWL) e la resistenza elettrica (RE). Il meccanismo di base dell'approccio SIFT è basato sulla conoscenza del fatto che in seguito all'applicazione topica di surfactanti irritanti, si verificano cambiamenti nella resistenza elettrica transcutanea che permettono ad una corrente elettrica di passare più liberamente attraverso la barriera cutanea. L'integrità della barriera cutanea viene calcolata come il rapporto tra TEWL e RE

prima e dopo l'applicazione del materiale da testare; in caso di ridotta integrità di barriera, TEWL aumenta e RE diminuisce^{27,28}. Dopo le fasi pre-validative²⁷⁻²⁹, il metodo SIFT è stato sottoposto alla fase I dello studio di validazione ECVAM risultando non idoneo a causa del suo basso potere predittivo nella distinzione *in vitro* tra composti irritanti e non irritanti³⁰.

Modelli *in vitro* per analizzare l'attività sensibilizzante

Il meccanismo della sensibilizzazione cutanea è molto complesso, cosicché risulta arduo riprodurre tutti gli aspetti con un singolo metodo *in vitro*³¹; appare così di maggiore utilità lo sviluppo di un approccio basato su una batteria di diverse metodiche *in vitro*³². Al momento infatti non esiste una singola metodica validata per testare l'attività sensibilizzante cutanea di un composto chimico³³, anche se la ricerca di base ed applicata sta consolidandosi in molteplici settori chiave tra cui modelli di biodisponibilità epidermica, apteni, binding proteico, metabolismo cutaneo, attivazione e proliferazione delle cellule T. I dati ottenuti da questi studi sono utilizzati per sostenere lo sviluppo e la valutazione di approcci alternativi per l'identificazione e la caratterizzazione di sostanze sensibilizzanti.

L'attuale approccio allo studio della sensibilizzazione cutanea prevede che i dati ottenuti da numerosi test *in vitro* siano integrati in un modello complesso in grado di predire la capacità delle sostanze chimiche di indurre la sensibilizzazione cutanea^{34,35}. L'entità e la frequenza dell'esposizione cutanea a sostanze chimiche sensibilizzanti sono stati a lungo considerati avere un ruolo chiave nel determinare il potenziale e la severità della dermatite allergica da contatto (DAC)^{36,37}. Tuttavia, da quando sono stati abbandonati i metodi di sperimentazione su animali, vi è stata una crescente necessità di valutare l'esposizione cutanea a livello cellulare e molecolare per permettere un'interpretazione appropriata.

Biodisponibilità cutanea delle sostanze sensibilizzanti

Il COLIPA ha investito nello studio della possibile applicazione di nuove tecnologie per la previsione della biodisponibilità cutanea e

per la valutazione del ruolo del metabolismo nella sensibilizzazione cutanea⁴. La biodisponibilità epidermica rappresenta una condizione necessaria ma non sufficiente affinché si verifichi la reazione allergica.

Miller *et al*³⁸ hanno sviluppato un modello tossico-cinetico che consente di ottenere una previsione più accurata della biodisponibilità epidermica delle sostanze potenzialmente sensibilizzanti. Questo modello computerizzato di assorbimento cutaneo si basa su caratteristiche fisico-chimiche della pelle: lo strato corneo è modellato come una membrana a due fasi con lipidi e corneociti; il derma è una matrice fibrosa con clearance capillare ben distribuita. Il modello prende in considerazione parametri cutanei chiave quali Cmax (concentrazione massima), AUC 120 (area sotto la curva concentrazione-tempo dopo 120 h di esposizione) e la percentuale di dose assorbita. Finora è stato sviluppato solo un modello preliminare che è in grado di prevedere la concentrazione della sostanza chimica nell'epidermide vitale nel tempo (Cmax, AUC 120, Tmax, % di dose assorbita). Tali dati sono stati elaborati per più di 200 sostanze.

Modificazione proteica indotta da sostanze sensibilizzanti

Il presupposto per il verificarsi di una reazione cellulo-mediata contro i prodotti chimici è rappresentato dall'attivazione delle cellule T. I linfociti T sensibilizzati rispondono non alle sostanze chimiche in quanto tali, ma riconoscono solo specifiche sequenze (apteni) nell'ambito del frammento proteico. Gli apteni, ottenuti dalla processazione dell'antigene, possono così essere presentati tramite molecole del complesso maggiore d'istocompatibilità (MHC) di classe I o II espresse sulla superficie delle cellule presentanti l'antigene CPA, come le cellule di Langerhans. I sensibilizzanti chimici possono agire sia da apteni (intrinsecamente reattivi) sia da pro-apteni (in quanto necessitano di una trasformazione chimica o metabolica per il loro riconoscimento).

Da quando è stata stabilita la correlazione tra la reattività delle proteine e la sensibilizzazione cutanea, la misura del legame di una sostanza chimica alle proteine può rappresentare un promettente end-point per lo sviluppo di approcci alternativi ai test sugli animali³⁷. Attualmente è nota la capacità delle sostanze

chimiche di reagire con le proteine, formando legami covalenti, ed elicitando tappe del pathway di induzione della sensibilizzazione. Non è però ancora chiaro come la formazione di addotti influenzi l'entità della sensibilizzazione cutanea indotta da sostanze chimiche allergizzanti. La formazione degli addotti può essere misurata con la spettrometria di massa con o senza cromatografia liquida. Un'altra metodica, la MALDI-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight-mass spectrometry), indica l'avvenuto legame dell'aptene alle proteine, attraverso la comparazione di un nuovo segnale visibile alla spettrometria di massa. Inoltre, la precisa localizzazione del legame può essere determinata mediante l'uso di nano-cromatografia liquida³⁹.

Metabolismo dei sensibilizzanti chimici nella cute

La previsione del metabolismo rappresenta un aspetto essenziale nello sviluppo di test sperimentali *in vitro*. Per modellare la complessa biologia delle risposte immunitarie con i saggi di sensibilizzazione cutanea *in vitro*, si potrebbe valutare la biotrasformazione che avviene a livello epidermico, soprattutto per quelle sostanze che non sono reattive di per sé ma che necessitano di essere metabolizzate e quindi attivate. La biotrasformazione gioca un ruolo importante nell'eliminazione di molti composti, ma in alcuni casi, il metabolismo può portare alla formazione di intermedi che acquisiscono un potere sensibilizzante⁴⁰. Importanti enzimi che metabolizzano xenobiotici sono espressi sia sulle CPA⁴¹⁻⁴³ che sui cheratinociti⁴⁴⁻⁴⁷.

Sono in via di sviluppo numerosi studi per valutare le fasi iniziali del processo di sensibilizzazione cutanea. Uno dei maggiori si avvale dell'uso di CPA, come ad esempio le cellule dendritiche (CD) derivate dal sangue periferico, o di linee cellulari mieloidi umane⁴⁸. Schreiner *et al*⁴⁷ hanno proposto un saggio, denominato "co-cultura loose-fit" basato sull'utilizzo di monociti CD-simili e di cheratinociti primari⁴⁹. Per evitare le limitazioni legate all'isolamento delle cellule, la sostituzione dei cheratinociti primari con cheratinociti immortalizzati (HaCaT) potrebbe rappresentare un promettente strumento. La conoscenza attuale degli enzimi metabolizzanti gli xenobiotici nelle cellule HaCaT è per il momento limitata^{50,51}. Complessiva-

mente le HaCaT possono essere considerate un linea cellulare utile e promettente anche come parte di sistemi di co-cultura per lo studio di sostanze chimiche che necessitano di un'induzione e/o di un metabolismo come avviene per i pro-aptene⁵²⁻⁵⁴.

Attivazione delle cellule dendritiche da parte dei sensibilizzanti chimici

Pathway di segnalazione intracellulare

Le CD giocano un ruolo cruciale nel processo di sensibilizzazione cutanea per la loro abilità di innescare una risposta immunitaria, processando e presentando antigeni dopo l'esposizione a prodotti chimici. Dopo la cattura dell'antigene le CD maturano, si differenziano e migrano nel linfonodo di riferimento dove presentano l'antigene processato a cellule T naive^{55,56}. Durante la loro maturazione le CD sovra-regolano l'espressione di MHC di classe II e di molecole co-stimolatorie come CD86, CD54, CD80 e CD40^{57,58}. Un approccio possibile per individuare una delle potenziali componenti della batteria di test di sensibilizzazione *in vitro* è rappresentato dallo studio dei pathway di segnalazione intracellulari che vengono avviati nel corso dell'attivazione delle CD.

COLIPA ha intrapreso un progetto di ricerca utilizzando CD derivate da monociti umani: sostanze sensibilizzanti come nichel solfato, a differenza di quelle non sensibilizzanti, erano in grado di attivare chinasi quali JNK, Erk1/2 e p38 MAPK⁵⁹. Inoltre venivano testati su CD derivate da monociti e su due linee cellulari surrogate delle CD [quali le human acute monocytic leukemia cell line (THP-1) e le human myeloid leukemia cell line (U-937)], sostanze sensibilizzanti (tra cui dinitroclorobenzene, aldeide cinnamica, alcol cinnamico) e non sensibilizzanti (acido lattico, glicerolo, acido salicilico). Nelle CD derivate da monociti tutti i sensibilizzanti attivavano in maniera marcata p38 MAPK e inibivano ERK, la gran parte via un predominante ruolo dello stress ossidativo. Dati simili si avevano con le U-937, mentre le THP-1 rispondevano diversamente, in particolare sul pathway di ERK che risultava sempre aumentato. I non sensibilizzanti non influenzavano, invece, tali attività chinasiche, mentre i sensibilizzanti più deboli necessitavano di concentrazioni notevolmente più elevate per attivarle. Nukada *et al*⁶⁰ hanno con-

fermato che nelle THP1 sensibilizzanti come dinitroclobenzene e nichel solfato attivano pathway coinvolgenti MAPK (come p38 MAPK, ERK, JNK), che sono note per il loro ruolo pro-attivatorio e proliferativo su numerose cellule immunitarie. Ad ogni modo, nonostante queste promettenti ricerche mostrino che l'attivazione dei pathway di MAPK possa essere utilizzata come discriminante tra sostanze allergizzanti e non, sono necessari ulteriori studi per comprendere i molteplici pathway di segnalazione innescati dalla sensibilizzazione cutanea.

Individuazione del potenziale di attivazione delle cellule dendritiche utilizzando saggi basati su linee cellulari simili alle cellule dendritiche H-CLAT human cell line activation test

Il ruolo chiave delle CD nell'induzione del processo della sensibilizzazione cutanea è ampiamente documentato⁵⁵. Esso rappresenta, dunque, una grande opportunità per lo sviluppo di metodiche *in vitro* atte all'identificazione di potenziali agenti sensibilizzanti.

L'utilizzo di CD derivate da sangue periferico umano o da progenitori ematopoietici CD34⁺ ottenuti da sangue cordonale presenta numerose problematiche come la complessa e costosa procedura di preparazione^{61,62}. Per ovviare a tali inconvenienti alcune linee cellulari umane, come THP-1^{63,64}, le U-937⁶⁵, human myeloid leukemia cell line (KG1) e human monocytic cell line (MUTZ-3)⁶⁶, vengono adoperate al posto delle CD, fungendo così da loro surrogati^{67,68}. Molto promettente sembra essere l'utilizzo delle THP-1. Ashikaga *et al*⁶⁹ e Sakaguchi *et al*⁷⁰, infatti, hanno sviluppato un saggio [human cell line activation test (h-CLAT)] che rappresenta un potenziale test di sensibilizzazione cutanea *in vitro*, in quanto con h-CLAT vengono esaminati i livelli di espressione di molecole co-stimolatorie come CD86 e CD54 sulla superficie delle cellule THP-1 dopo 24 h dall'esposizione ad un determinato composto^{69,70}. Questo approccio *in vitro* si basa sul ruolo chiave delle CD nel processo della sensibilizzazione cutanea nel quale tendono a iper-esprimere molecole, come il CD86 e CD54, dopo la loro attivazione.

Sakaguchi *et al*⁷⁰ hanno stimolato le THP-1 con 21 allergeni e con 8 non allergeni noti e poi valutato, a 24 h dalla stimolazione, l'espressione di molecole come CD54 e CD86 sulla loro

superficie trovando che la misurazione di queste molecole è uno strumento di grande ausilio nel predire e valutare la capacità di indurre sensibilizzazione cutanea da parte di una determinata sostanza chimica. Nonostante ciò si evidenziava come la relazione tra l'espressione di CD86/CD54 e la concentrazione delle sostanze testate non fosse ancora caratterizzata pienamente. Le capacità di h-CLAT sono state così valutate ulteriormente da Sakaguchi *et al*⁷¹. Gli autori hanno testato sulle THP-1 21 sostanze tutte valutate precedentemente con la tecnica del local lymph node assay (LLNA) da altri autori⁷²⁻⁷⁷. Sakaguchi *et al*⁷¹ hanno individuato tre differenti pattern di risposta positiva per l'espressione di CD54 e CD86 per diversi allergeni. Il primo pattern era rappresentato da un aumento dell'espressione sia di CD54 che di CD86 (ad esempio, dinitroclobenzene, formaldeide). Il secondo pattern consisteva nell'aumento del solo CD86, come per l'etilendiamina e il terzo nell'aumento del solo CD54, come per potassio bicromato. Per le sostanze non allergeniche, invece, l'espressione di CD54 e CD86 non mutava. Solo un agente chimico, come etilendiamina, risultava un falso negativo con tale protocollo, mentre per i non allergeni noti solo tre di essi risultavano falsi positivi (acetanilolo, benzalconio cloruro, metilparabene). Gli autori, osservando una buona correlazione con i risultati di LLNA, concludevano che h-CLAT sarebbe in grado di rilevare la capacità di una sostanza chimica di aumentare l'attivazione delle CD, anche se è necessario valutare accuratamente le dosi delle sostanze da testare.

La capacità predittiva di h-CLAT è stata indagata anche da Ashikaga *et al*⁷⁸. Venivano esaminate 100 sostanze definite non allergeni o allergeni (distinti in estremi, forti, moderati e deboli) in base ai risultati di LLNA: i risultati ottenuti con il protocollo h-CLAT correlavano con quelli LLNA per l'84%. La capacità predittiva del protocollo, però, era minore per gli allergeni deboli rispetto a quella dei forti ed estremi. Alcuni di questi aumentavano l'espressione sia di CD86 che di CD54, altri quella di uno solo dei due: quindi, risultava preferibile considerarli in combinazione.

La riproducibilità e la capacità predittiva del protocollo h-CLAT sono state valutate anche da 5 diversi laboratori (Procter & Gamble Company, L'Oreal, Henkel AG & Co, KgaA,

Shiseido Safety Quality Assurance Center, Kao Safety Science Research), coordinati da COLIPA³². I risultati hanno mostrato che h-CLAT aveva una buona riproducibilità e predittività. Tutti i laboratori presentavano identici risultati (positività o negatività) per 18 su 27 (67%) sostanze testate mostrando una buona riproducibilità del protocollo; per 8 delle 9 sostanze chimiche per le quali non vi era accordo unanime tra i 5 laboratori, solo uno mostrava risultati differenti dagli altri. Per valutare la capacità predittiva i risultati erano confrontati per ogni sostanza con quelli ottenuti con LLNA: la correlazione era dell'87% per gli allergeni e dell'80% per i non allergeni. In totale, 107 su 127 risultati coincidevano. h-CLAT però non risultava un metodo perfetto, in quanto circa il 15% delle valutazioni non erano corrette al fine di identificare la capacità allergizzante. Queste valutazioni errate evidenziano così possibili limiti del protocollo, forse legati a particolari caratteristiche della sostanza come una bassa solubilità e capacità allergizzante. Le potenzialità di h-CLAT hanno bisogno di essere esaminate più a fondo. Con la valutazione di un maggior numero di sostanze il gruppo di studio di Sakaguchi ha come obiettivo quello di chiarire a pieno le reali aeree di applicabilità e i limiti del protocollo e di incrementare la sua capacità predittiva.

U-937

Le U-937 rappresentano un ottimo candidato per fungere come surrogati delle CD. L'interesse verso queste linee cellulari è crescente, tanto che COLIPA ha supportato un progetto per lo sviluppo di un test *in vitro* basato proprio sull'utilizzo delle U-937 per l'individuazione di sensibilizzanti da contatto soprattutto per l'industria cosmetica⁵⁹. Python *et al*⁷⁹ hanno messo a punto quello che è definito U-937 activation test: le U-937, trattate con IL-4 per ottenere un fenotipo CD-simile, erano esposte rispettivamente per 24, 48 e 72 h a sensibilizzanti e non sensibilizzanti noti. Veniva poi analizzata, tramite citometria a flusso, l'espressione di una molecola co-stimolatoria come CD86 e, attraverso la reazione a catena della polimerasi retro-trascrizionale in tempo reale (RT-PCR), l'espressione di IL-1 β e IL-8, essendo tutti marker di attivazione delle CD. Dieci degli 11 composti testati con tale metodica erano identificati correttamente. In consi-

derazione di ciò, gli autori hanno sostenuto che U-937 activation test potrebbe rappresentare un utile componente di una batteria di test *in vitro* per l'identificazione della sensibilizzazione cutanea indotta da nuove sostanze chimiche⁷⁷. Necessaria è però la valutazione di almeno due marker congiuntamente per una reale determinazione dell'attivazione delle CD indotta dalle sostanze testate. Questa linea cellulare è attualmente in considerazione per la validazione dall'ECVAM per discriminare sensibilizzanti e non attraverso la valutazione dell'espressione di marker come CD86 e IL-8⁸⁰.

H-CLAT vs U-937

In letteratura è riportato un primo confronto tra queste due metodiche promettenti. Sakaguchi *et al*⁸¹, hanno adoperato 9 prodotti chimici (6 allergizzanti e 3 non), confrontato la capacità di riconoscerli come tali tramite la valutazione dell'espressione di CD86 e CD54, con THP-1 o U-937, mostrando che la capacità di identificare correttamente tali sostanze era migliore per le THP-1 piuttosto che le U-937, e che il trattamento a 24 h aveva una migliore accuratezza. Inoltre, l'espressione di entrambe le molecole sembrava essere un buon marker predittivo nelle THP-1, mentre per le U-937 prevaleva l'espressione del solo CD86⁸¹.

Espressione genica

Un promettente approccio *in vitro* è rappresentato dall'analisi dell'espressione genica e delle sue variazioni sulle CD, o meglio su loro surrogati, dopo l'esposizione alle sostanze da analizzare. Numerosi sono gli autori che si sono cimentati in questo approccio, così come molteplici sono i geni individuati come potenziali marker di attivazione delle DC quando iper-espressi; è comunque rimarcato da tutti la necessità di prendere in considerazione più geni e di combinare la metodica ad altri test *in vitro* in maniera tale da ridurre fortemente i falsi negativi ed ottenere una batteria di test *in vitro* sempre più affidabile ed attendibile.

Lo studio dell'espressione genica in tale campo è iniziato con il COLIPA research project che ha indicato 29 geni per individuare potenziali sensibilizzanti usando RT-PCR in CD derivate da monociti umani (PBMDC)⁸². Successivamente Hirota *et al*⁸³ hanno valutato l'espressione genica delle THP-1 dopo esposizione a sensibilizzanti noti come dinitrocloro-

benzene e nichel solfato, tramite microarray (cioè una tecnica deputata allo studio del profilo di espressione genica). L'attenzione è stata incentrata sull'iper-espressione di mRNA della chemochina MIP-1 β : gli autori lo propongono come un nuovo biomarker per valutare l'attivazione delle CD in test *in vitro* per i sensibilizzanti da adoperare congiuntamente ad altri in modo tale da ridurre i falsi negativi ed aumentare l'accuratezza di tali test *in vitro*⁸³.

Altre evidenze nel campo giungono da Hooyberghs *et al*⁸⁴ che hanno utilizzato come cellule CD-simili CD34⁺ prelevate da sangue cordonale, messe poi in coltura in presenza di specifiche citochine come granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), tumor necrosis factor- α (TNF- α) e IL-4 per indurre la proliferazione e la differenziazione in CD34-CD immature. Gli autori hanno selezionato, in base a studi di microarray sulla risposta trascrizionale delle CD34-DC umane ad un set di 4 sensibilizzanti e 2 non sensibilizzanti, scelti sulla base di dati personali⁸⁵ e della letteratura⁸⁶, 13 geni (CREM, CCR2, PBEF1, MAD, AQP3, PSCDBP, PTGS2, NINJ, ABCA6, ENC, CXCR4, CCR7), cioè quelli che mostravano le variazioni più significative per la discriminazione tra sensibilizzanti e non. Venivano testati dunque 10 sensibilizzanti e 11 non sensibilizzanti e l'espressione genica delle CD34-DC coltivate *in vitro*, valutata con la real time RT-PCR (un metodo di amplificazione e quantificazione simultanee del DNA) a tre esposizioni (6, 11 e 24 h). Valutando l'espressione di questi 13 geni, la gran parte delle sostanze era correttamente identificata nella classe di appartenenza (sensibilizzanti o non sensibilizzanti); solo 5 mostravano risultati non omogenei ma facili da classificare, cosicché gli autori auspicavano la validazione del modello attraverso il coinvolgimento di molteplici laboratori e l'esame di una vasta gamma di sostanze. Infine con Python *et al*⁸⁷ veniva comparato il profilo di espressione genica delle PBMD e delle MUTZ-3, esponendo tali cellule ad un set di sostanze (3 sensibilizzanti e 2 non sensibilizzanti) per 24 h. Attraverso analisi dell'espressione genica con RT-PCR venivano selezionati 4 geni (PIR, TRIM1, CES1 e NQO1) che erano sovra-regolati dai sensibilizzanti testati. La loro iper-espressione, inoltre, era descritta anche nelle U-937, così gli autori li hanno proposti come marker di attivazione delle CD.

Sebbene la ricerca in questo campo vada

sempre più affinandosi, l'analisi dell'espressione genica è in grado di fornire informazioni solo sulla fase di attivazione delle CD, non considerando gli altri punti della cascata immunitaria alla base del processo di sensibilizzazione della cute; essa quindi non rappresenta la soluzione definitiva avendo bisogno di essere affiancata da altre metodiche *in vitro*.

Biomarker

Il termine biomarker si riferisce ad una caratteristica che è obiettivamente misurata e valutata come indicatore di processi biologici normali, di processi patologici o delle risposte farmacologiche ad un intervento terapeutico⁸⁸.

Biomarker usati nei test irritativi in vitro *Test di vitalità cellulare*

I test che valutano la vitalità cellulare più frequentemente adoperati sono: MTT, neutral red uptake (NRU) e rilascio della lattato-deidrogenasi. MTT è un saggio colorimetrico che misura l'attività della succinato-deidrogenasi dei mitocondri, i quali sono tra gli organuli cellulari che più precocemente subiscono l'aggressione da parte delle sostanze estranee applicate. NRU è un test che si basa sull'accumulo nei lisosomi citoplasmatici di un colorante vitale, il rosso neutro; dall'estrazione del colorante catturato dai lisosomi si ottiene un liquido di cessione, la cui densità ottica è direttamente proporzionale al numero di cellule vive presenti. Infine, il test della lattato-deidrogenasi si basa sul rilascio di questo enzima citoplasmatico ubiquitario nel medium di coltura attraverso la membrana cellulare più o meno gravemente danneggiata dall'esposizione al campione.

Nonostante l'esistenza di una correlazione tra il potenziale irritante e la ridotta vitalità cellulare di una sostanza, ECVAM ha stabilito che la misura della citotossicità da sola non sempre permette di discernere in maniera esatta i composti irritanti da quelli non irritanti. Per questa ragione nel corso del tempo sono stati introdotti biomarker addizionali, dotati di maggiore specificità^{27,89}.

Citochine

Le citochine inizialmente studiate come marker di irritazione *in vitro* sono state IL-

1 α , IL-6, IL-8, TNF- α e IL-10⁸⁹. Tuttavia, ad oggi solo IL-1 α rappresenta il marcatore più frequentemente esaminato nei protocolli di validazione degli equivalenti epidermici^{3,90}. Leukaemia inhibitory factor (LIF), una citochina generalmente associata ai processi di differenziazione cellulare, è uno dei marker più recentemente proposti. Essa viene secreta dai cheratinociti in risposta a stimoli irritativi ma sembra che risulti coinvolta anche negli eventi iniziali che caratterizzano la DAC. La secrezione di LIF è associata reciprocamente a quella di IL-1, IL-6 e TNF- α ; la produzione di LIF in seguito a stimoli infiammatori di natura irritativa sembra essere addirittura paragonabile a quella di IL-1 α ⁹¹.

Marker non citochinici

Tra i marker non citochinici si annoverano i metaboliti dell'acido arachidonico attivamente sintetizzati nella cute. In riferimento all'irritazione cutanea, la prostaglandina E2 è quella più studiata⁸⁹. Altri biomarker, appartenenti alla suddetta categoria, sono rappresentati da: chinasi, come p38, ERK e JNK; chemochine, come CCL27; altre molecole, come HSP-70 (heat shock protein-70), SKALP/elafrina (skin-derived antileukoprotease) e SERPIN B13/hurpin (serine protease inhibitor)^{3,89}.

Biomarker usati nei test di sensibilizzazione in vitro

Markers di superficie delle cellule dendritiche

I marcatori di superficie delle cellule dendritiche CD40, CD54, CD80, CD83 e CD86 sono stati identificati come possibili biomarker nei saggi *in vitro*, in quanto la loro espressione va incontro ad una sovra-regolazione nel corso dell'esposizione all'agente sensibilizzante. In particolare l'espressione di CD86 risulta la più studiata e tale biomarker sembra essere il più promettente anche se con alcuni limiti; la singola valutazione di CD86 per i test *in vitro*, infatti, non sembra adeguata, in quanto la sua espressione subisce solo un lieve incremento in seguito all'esposizione alle sostanze testate. Inoltre, l'aumento nell'espressione di CD86 non è prodotto da tutte le sostanze sensibilizzanti e non permette di distinguere i composti in base al loro livello di azione sensibilizzante (alto, intermedio o basso). I saggi risultano lievemente migliori quando si opera un'analisi combinata di CD86 e CD54.

Nella lista dei marcatori di superficie meno frequentemente testati compaiono CD1a, langerina ed E-caderina. In risposta all'esposizione ad un numero limitato di sostanze chimiche, essi risultano sotto-regolati nelle cellule dendritiche CD34+, mimando ciò che accade in vivo^{48,71,92}.

Chemochine/citochine ed i loro recettori

In seguito alla maturazione delle CD si verificano anche cambiamenti nella secrezione di citochine e chemochine e nell'espressione recettoriale al fine di permettere la migrazione di tali cellule fuori dalla cute ed il raggiungimento dei linfonodi drenanti. CXCL8 (IL-8) è uno dei più promettenti biomarker per distinguere le sostanze sensibilizzanti da quelle non sensibilizzanti. Studi che hanno fatto uso di CD, CD34+DC e THP-1 indicano che la valutazione dell'aumento della secrezione o della trascrizione di CXCL8 potrebbe conferire una sensibilità pari e in alcuni casi maggiore di quella raggiungibile con CD86^{60,93-96}.

Altri gruppi di ricerca hanno focalizzato la loro attenzione sullo studio di chemochine come CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4 e del recettore CCR7 in seguito all'esposizione delle CD CD34+ ad un limitato pannello di sostanze sensibilizzanti e non sensibilizzanti. In generale, è stato osservato un aumento nella secrezione delle chemochine e nell'espressione del recettore quando venivano testate le sostanze sensibilizzanti ma non quelle non sensibilizzanti, sebbene nessuna chemochina o recettore preso singolarmente fosse esaustivo e i risultati fossero talvolta contraddittori tra i vari studi^{85,97,98}. Tra le citochine, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18 e TNF- α sono tra le più esaminate, in particolare IL-1 β ricopre un ruolo di primo piano. La maggior parte degli studi sono stati eseguiti utilizzando CD provenienti da sangue fresco mentre solo IL-1 β e IL-6 sono state analizzate in linee cellulari CD-simili, THP-1^{71,99}. Antonopoulos *et al*¹⁰⁰ hanno recentemente dimostrato che IL-18 (nota come IFN- γ inducing factor), un membro della famiglia di IL-1, è un mediatore chiave per la migrazione delle cellule di Langerhans e per l'ipersensibilità da contatto, agendo a monte di IL-1 β e di TNF- α , suggerendo un ruolo centrale nella regolazione della risposta immune cutanea¹⁰⁰. Corsini *et al*¹⁰¹ hanno inoltre dimostrato che l'esposizione delle cellule NCTC 2544 ad allergeni da contatto

determina un'induzione dose-dipendente di IL-18 intracellulare, mentre l'esposizione ad allergeni respiratori o ad irritanti risulta incapace di determinare tale effetto¹⁰¹.

Chinasi

L'espressione dei marker di superficie e la secrezione di citochine/chemochine sono precedute da una cascata di trasduzione del segnale tra i cui componenti figurano le chinasi. Tra queste, la p38 MAPK è stata identificata come nuovo marker promettente in saggi basati sull'utilizzo di cellule come CD34+ e THP-1^{60,93}. Altri potenziali candidati sono PGK, ERK, SAPK/JNK, IKB, NFkB, TNFRSF1A, sebbene il numero di dati al riguardo sia ancora molto limitato⁴⁸.

Genomica e proteomica

Gli studi di genomica e proteomica hanno il potenziale di rivelare nuovi biomarker nei saggi irritanti e sensibilizzanti. Tuttavia, un fattore limitante è che essi sono generalmente ristretti ad un esiguo numero di sostanze chimiche testate; di conseguenza, una volta identificato un potenziale biomarker, è necessario che esso sia ulteriormente analizzato in set di esperimenti nei quali il modello testato sia esposto ad un più ampio pannello di sostanze chimiche, usando tecniche analitiche di valutazione quantitativa del biomarker. In questo modo, è possibile stabilire se il biomarker in esame sia rappresentativo del processo irritante o di sensibilizzazione in generale o semplicemente di un particolare tipo di sostanza chimica^{2,48,102}.

Conclusioni e prospettive future

Ad oggi, nessuna delle metodiche *in vitro* proposte permette, singolarmente, di effettuare un'oggettiva valutazione sulle capacità sensibilizzanti e/o irritanti dei cosmetici. Inoltre, vista l'esistenza di numerosi fattori quali età, razza, sesso, permeabilità epidermica, capacità antiossidante e metabolica in grado di modificare la risposta cutanea ed immune individuale all'esposizione ad agenti sensibilizzanti, si rende necessario in futuro improntare studi *in vitro* che tengano in considerazione anche tali variabili. Tuttavia, a partire dall'emanazione della direttiva euro-

pea che vieta la sperimentazione sugli animali, la ricerca dermocosmetica ha già compiuto enormi progressi dimostrandosi, con le sue molteplici potenzialità, la valida alternativa da perseguire al fine di sviluppare cosmetici sempre più sicuri e biocompatibili.

Bibliografia

1. Maxwell G, Aleksic M, Aptula A, et al. Assuring consumer safety without animal testing: a feasibility case study for skin sensitization. *Altern Lab Anim* 2008; 36: 557.
2. van de Sandt J, Roguet R, Cohen C, et al. The use of human keratinocytes and human skin models for predicting skin irritation. *ATLA* 1999; 27: 723.
3. Gibbs S. In vitro irritation models and immune reactions. *Skin Pharmacol Physiol* 2009; 22: 103.
4. Macfarlane M, Jones P, Goebel C, et al. A tiered approach to the use of alternatives to animal testing for the safety assessment of cosmetics: Skin irritation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009; 54: 188.
5. Boelsma E, Gibbs S, Faller C, et al. Characterization and comparison of reconstructed skin models: morphological and immunohistochemical evaluation. *Acta Derm Venereol* 2000; 80: 82.
6. Gibbs S, Vietsch H, Meier U, et al. Effect of skin barrier competence on SLS and water-induced IL-1 α expression. *Exp Dermatol* 2002; 11: 217.
7. Vicanova J, Mommaas AM, Mulder AA, et al. Impaired desquamation in the in vitro reconstructed human epidermis. *Cell Tissue Res* 1996; 1: 115.
8. Mak VH, Cumpstone MB, Kennedy AH, et al. Barrier function of human keratinocyte cultures grown at the air-liquid interface. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 323.
9. Jírová D, Basketter D, Liebsch M, et al. Comparison of human skin irritation patch test data with in vitro skin irritation assays and animal data. *Contact Dermatitis* 2010; 62: 109.
10. Tinois E, Tiollier J, Gaucherand M, et al. In vitro and post-transplantation differentiation of human keratinocytes grown on the human type IV collagen film of a bilayered dermal substitute. *Exp Cell Res* 1991; 193: 310.
11. Rosdy M, Clauss LC. Terminal epidermal differentiation of human keratinocytes grown in chemically defined medium on inert filter substrates at the air-liquid interface. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 409.
12. Ponc M, Boelsma E, Weerheim A. Lipid and ultrastructural characterization of reconstructed skin models. *Int J Pharm* 2000; 203: 211.
13. Ponc M, E Boelsma, S Gibbs. Characterization of reconstructed skin models. *Skin Pharmacol* 2002; 176: 167.
14. De Brugerolle F, Picarles V, Chibout S. Predictivity of an in vitro model for acute and chronic skin irritation (SkinEthic) applied to the testing of topical vehicles. *Cell Biol Toxicol* 1999; 15: 121.
15. Faller C, Bracher M. Reconstructed skin kits: reproducibility of cutaneous irritancy testing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2002; 1: 74.
16. Tornier C, Amsellem C, De Brugerolle A. Assessment of the optimized SkinEthicTM Reconstructed Human Epidermis (RHE) 42 bis skin irritation protocol over 39 test substances. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 245.
17. Cannon CL, Neal PJ, Southee JA, et al. New epidermal model for dermal irritancy testing. *Toxicol In Vitro* 1994; 8: 889.
18. Roguet R, Cohen C, Dossou KG, et al. Episkin are constituted human epidermis for assessing in vitro the irritancy of topically applied compounds. *Toxicol In Vitro* 1993; 8: 283.
19. Roguet R, Regnier M, Cohen C, et al. The use of in vitro reconstituted human skin in dermototoxicity testing. *Toxicol*

- In Vitro 1994; 8: 635.
20. Portes P, Grandidier MH, Cohen C, et al. Refinement of the Episkin protocol for the assessment of acute skin irritation of chemicals: follow-up to the ECVAM prevalidation study. *Toxicol In Vitro* 2002; 16: 765.
 21. Faller C, Bracher M, Dami N, et al. Predictive ability of reconstructed human epidermis equivalents for the assessment of skin irritation of cosmetics. *Toxicol In Vitro* 2002; 16: 557.
 22. Asselineau D, Prunieras M. Reconstruction of 'simplified' skin: control of fabrication. *Br J Dermatol* 1984; 111: 219.
 23. Karasek MA, Charlton ME. Growth of postembryonic skin epithelial cells on collagen gels. *J Invest Dermatol* 1971; 56: 205.
 24. Bell E, Ivarsson B, Merrill C. Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 1274.
 25. Sahuc F, Nakazawa K, Berthod F, et al. Mesenchymal epithelial interactions regulate gene expression of type VII collagen and kalinin in keratinocytes and dermal-epidermal junction formation in a skin equivalent model. *Wound Repair Regen* 1996; 4: 93.
 26. Schlotmann K, Kaeten M, Black AF, et al. Cosmetic efficacy claims in vitro using a three-dimensional human skin model. *Int J Cosmet Sci* 2001; 23: 309.
 27. Fentem JH, Briggs D, Chesné C, et al. A prevalidation study on in vitro tests for acute skin irritation: results and evaluation by the management team. *Toxicol In Vitro* 2001; 15: 57.
 28. Heylings JR, Diot S, Esdaile DJ, et al. A prevalidation study on the in vitro skin irritation function test (SIFT) for prediction of acute skin irritation in vivo: results and evaluation of ECVAM phase III. *Toxicol In Vitro* 2003; 17: 123.
 29. Botham PA. The validation of in vitro methods for skin irritation. *Toxicol Lett* 2004; 149: 387.
 30. Spielmann H, Hoffmann S, Liebsch M, et al. The ECVAM international validation study on in vitro tests for acute skin irritation: report on the validity of the Episkin and EpiDerm assays and on the skin integrity function test. *Altern Lab Anim* 2007; 35: 559.
 31. Basketter DA, Casati S, Gerberick GF, et al. Skin sensitization. *Altern Lab Anim* 2005; 33: 83.
 32. Aptula AO, Patlewicz G, Roberts DW, et al. Non enzymatic glutathione reactivity and in vitro toxicity: a non-animal approach to skin sensitization. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 239.
 33. Sakaguchi H, Ryan C, Ovigne JM, et al. Predicting skin sensitization potential and inter-laboratory reproducibility of a human cell line activation test (h-CLAT) in the European Cosmetics Association (COLIPA) ring trials. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 1810.
 34. Jowsey IR, Basketter DA, Westmoreland C, et al. A future approach to measuring relative skin sensitising potency: a proposal. *J Appl Toxicol* 2006; 26: 341.
 35. Natsch A, Emter R, Ellis G. Filling the concept with data: integrating data from different in vitro and in silico assays on skin sensitizers to explore the battery approach for animal-free skin sensitization testing. *Toxicol Sci* 2009; 107: 106.
 36. Upadhye MR, Maibach HI. Influence of area of application of allergen on sensitization in contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1992; 27: 281.
 37. Basketter DA, Jefferies D, Safford BJ, et al. The impact of exposure variables on the induction of skin sensitization. *Contact Dermatitis* 2006; 55: 178.
 38. Miller MA, Kasting GB. Toward a better understanding of pesticide dermal absorption: diffusion model analysis of parathion absorption in vitro and in vivo. *J Toxicol Environ Health* 2010; 73: 284.
 39. Gerberick F, Aleksic M, Basketter D, et al. Chemical reactivity measurement and the predictive identification of skin sensitizers: the report and recommendations of ECVAM. *Altern Lab Anim* 2008; 36: 215.
 40. Gerberick GF, Troutman JA, Foertsch LM, et al. Investigation of peptide reactivity of pro-hapten skin sensitizers using a peroxidase-peroxide oxidation system. *Toxicol Sci* 2009; 112: 164.
 41. Sieben S, Baron JM, Blömeke B, et al. Multiple cytochrome P450-isoenzymes mRNA are expressed in dendritic cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118: 358.
 42. Sanderson JP, Naisbitt DJ, Farrell J, et al. Sulfamethoxazole and its metabolite nitroso sulfamethoxazole stimulate dendritic cell costimulatory signaling. *J Immunol* 2007; 178: 5533.
 43. Lichter J, Heckelen A, Fischer K, et al. Expression of N-acetyltransferase in monocyte-derived dendritic cells. *J Toxicol Environ Health A* 2008; 71: 960.
 44. Hirel B, Chesne C, Pailheret JP, et al. In vitro expression of drug metabolizing enzyme activities in human adult keratinocytes under various culture conditions and their response to inducers. *Toxicol In Vitro* 1995; 9: 49.
 45. Kawakubo Y, Merk HF, Masaoudi TA, et al. N-acetylation of paraphenylenediamine in human skin and keratinocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292: 150.
 46. Baron JM, Höller D, Schiffer R, et al. Expression of multiple cytochrome p450 enzymes and multidrug resistance-associated transport proteins in human skin keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 541.
 47. Saeki M, Saito Y, Nagano M, et al. mRNA expression of multiple cytochrome p450 isozymes in four types of cultured skin cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 127: 333.
 48. dos Santos GG, Reinders J, Ouweland K, et al. Progress on the development of human in vitro dendritic cell based assays for assessment of the sensitizing potential of a compound. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 236: 372.
 49. Schreiner M, Peiser M, Briechle D, et al. A loose-fit coculture of activated keratinocytes and dendritic cell-related cells for prediction of sensitizing potential. *Allergy* 2007; 62: 1419.
 50. Lehmann B, Pietzsch J, Kämpf A, et al. Human keratinocyte line HaCaT metabolizes 1alpha-hydroxyvitamin D3 and vitamin D3 to 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J Dermatol Sci* 1998; 18: 118.
 51. Goebel C, Hewitt NJ, Kunze G, et al. Skin metabolism of aminophenols: human keratinocytes as a suitable in vitro model to qualitatively predict the dermal transformation of 4-amino-2-hydroxytoluene in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 235: 114.
 52. Martin SF, Dudda JC, Bachtanian E, et al. Toll-like receptor and IL-12 signaling control susceptibility to contact hypersensitivity. *J Exp Med* 2008; 205: 2151.
 53. Gerberick GF, Troutman JA, Foertsch LM, et al. Investigation of peptide reactivity of pro-hapten skin sensitizers using a peroxidase-peroxide oxidation system. *Toxicol Sci* 2009; 112: 164.
 54. Ott H, Bergström MA, Heise R, et al. Cutaneous metabolic activation of carboxime, a self-activating, skin-sensitizing prohapten. *Chem Res Toxicol* 2009; 22: 399.
 55. Hart DNJ. Dendritic cells: unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood* 1997; 90: 3245.
 56. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245.
 57. Aiba S, Katz SI. Phenotypic and functional characteristic of in vivo-activated Langerhans cells. *J Immunol* 1990; 145: 2791.
 58. Ozawa H, Nakagawa S, Tagami H, et al. Interleukin-1 beta and granulocyte macrophage colony-stimulating factor mediate Langerhans cell maturation differently. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 441.
 59. Aeby P, Takao A, Diembeck W, et al. The COLIPA strategy for the development of in vitro alternatives: skin sensitization. *AATEX* 2007; 14: 375.
 60. Nukada I, Miyazawa M, Kosaka N, et al. Production of IL-8 in THP-1 cells following contact allergen stimulation via mitogen-activated protein kinase or tumor necrosis factor- α production. *J Toxicol Sci* 2008; 33: 175.
 61. Ryan CA, Gerberick GF, Gildea LA, et al. Interactions of contact allergens with dendritic cells: opportunities and challenges for the development of novel approaches to

- hazard assessment. *Toxicol Sci* 2005; 88: 4.
62. Aiba S, Terunuma A, Manome H, et al. Dendritic cells differently responded to haptens and irritants by their production of cytokines and expression of co-stimulatory molecules. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3031.
 63. Ashikaga T, Hoya M, Itagaki H, et al. Evaluation of CD86 expression and MHC class II molecule internalization in THP-1 human monocyte cells as predictive endpoints for contact sensitizers. *Toxicol In Vitro* 2002; 16: 711.
 64. Yoshida Y, Sakaguchi H, Ito Y, et al. Evaluation of the skin sensitization potential of chemicals using expression of co-stimulatory molecules, CD54 and CD86, on the naive THP-1 cell line. *Toxicol In Vitro* 2003; 17: 221.
 65. Ade N, Martinozzi-Teissier S, Pallardy M, et al. Activation of U937 cells by contact sensitizers: CD8 expression is independent of apoptosis. *J Immunotoxicol* 2006; 3: 189.
 66. Azam P, Peiffer JL, Chamousset D, et al. The cytokine dependent MUTZ-3 cell line as an in vitro model for the screening of contact sensitizers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 212: 14.
 67. Hulette BC, Ryan CA, Gerberick GF. Elucidating changes in surface marker expression of dendritic cells following chemical allergen treatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 182: 226.
 68. Rousset F, Verda D, Garrigue JL, et al. In vitro prediction of contact sensitivity with human cell lines. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 6.
 69. Ashikaga T, Yoshida Y, Hirota M, et al. Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines: human cell line activation test (h-CLAT): optimization of the h-CLAT protocol. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 767.
 70. Sakaguchi H, Ashikaga T, Miyazawa M, et al. Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines: human cell line activation test (h-CLAT): an inter-laboratory study of the h-CLAT. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 74.
 71. Sakaguchi H, Ashikaga T, Miyazawa M, et al. The relationship between CD86/CD54 expression and THP-1 cell viability in an in vitro skin sensitization test: human cell line activation test (h-CLAT). *Cell Biol Toxicol* 2009; 25: 109.
 72. Basketter DA, Gerberick GF, Kimber I, et al. The local lymph node assay: a viable alternative to currently accepted skin sensitization test. *Food Chem Toxicol* 1996; 34: 986.
 73. Basketter DA, Gerberick GF, Kimber I, et al. Strategies for identifying false positive response in predictive skin sensitization tests. *Food Chem Toxicol* 1998; 36: 327.
 74. Ryan CA, Gerberick GF, Cruse LW, et al. Activity of human contact allergens in the murine local lymph node assay. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 95.
 75. Basketter DA, Gilmour N, Dearman RJ, et al. Classification of skin sensitization potency using the local lymph node assay. *Toxicologist* 2003; 72: 101.
 76. Gerberick GF, Ryan CA, Kern PS, et al. A chemical dataset for evaluation of alternative approaches to skin-sensitization testing. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 274.
 77. Basketter DA, Sanders D, Jowsey IR. The skin sensitization potential of resorcinol: experience with the local lymph node assay. *Contact Dermatitis* 2007; 56: 196.
 78. Ahikaga T, Sakaguchi H, Sono S, et al. A comparative evaluation of in vitro skin sensitization tests: the human cell line activation test (h-CLAT) versus the local lymph node assay (LLNA). *ATLA* 2010; 38: 275.
 79. Python F, Goebel C, Aeby P. Assessment of the U937 cell line for the detection of contact allergens. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 220: 113.
 80. Migdal C, Foggia L, Tailhardat M, et al. Sensitization effect of thimerosal is mediated in vitro via reactive oxygen species and calcium signalling. *Toxicology* 2010; 274: 1.
 81. Sakaguchi H, Ashikaga T, Miyazawa M, et al. Development of an in vitro skin sensitization test using human cell lines; human cell line activation test (h-CLAT) II: an inter-laboratory study of the h-CLAT. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 774.
 82. Gildea LA, Ryan CA, Foertesc LM, et al. Identification of gene expression changes induced by chemical allergens in dendritic cells: opportunities for skin sensitization testing. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1813.
 83. Hirota M, Moro O. MIP-1 β , a novel biomarker for in vitro sensitization test using human monocytic cell line. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 736.
 84. Hooyberghs J, Schoeters E, Lambrechts N, et al. A cell-based in vitro alternative to identify skin sensitizers by gene expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 231: 103.
 85. Schoeters E, Verheyen GR, Nelissen I, et al. Microarray analyses in dendritic cells reveal potential biomarkers for chemical-induced skin sensitization. *Mol Immunol* 2007; 44: 3222.
 86. Ryan CA, Gildea LA, Hulette BC, et al. Gene expression changes in peripheral blood derived dendritic cells following exposure to a contact allergen. *Toxicol Lett* 2004; 150: 301.
 87. Python F, Goebel C, Aeby P. Comparative DNA microarray analysis of human monocyte derived dendritic cells and MUTZ-3 cells exposed to the moderate skin sensitizer cinnamaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 239: 273.
 88. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89.
 89. Welss T, Basketter DA, Schröder KR. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. *Toxicol In Vitro* 2004; 18: 231.
 90. Coquette A, Berna N, Vandenbosch A, et al. Analysis of interleukin-1 α (IL-1 α) and interleukin-8 (IL-8) expression and release in in vitro reconstructed human epidermis for the prediction of in vivo skin irritation and/or sensitization. *Toxicol In Vitro* 2003; 17: 311.
 91. Parodi A, Sanguineti R, Catalano M, et al. A comparative study of leukaemia inhibitory factor and interleukin-1 α intracellular content in a human keratinocyte cell line after exposure to cosmetic fragrances and sodium dodecyl sulphate. *Toxicol Lett* 2010; 192: 101.
 92. An S, Kim S, Huh Y, et al. Expression of surface markers on the human monocytic leukaemia cell line, THP-1, as indicators for the sensitizing potential of chemicals. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 185.
 93. Mitjans M, Galbiati V, Lucchi L, et al. Use of IL-8 release and p38 MAPK activation in THP-1 cells to identify allergens and to assess their potency in vitro. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 1803.
 94. Toebak MJ, Pohlmann, PR, Sampat-Sardjoepersad SC, et al. CXCL8 secretion by dendritic cell predicts contact allergens from irritants. *Toxicol In Vitro* 2006; 20: 117.
 95. Python F, Goebel C, Aeby P. Assessment of the U937 cell line for the detection of contact allergens. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 220: 113.
 96. Miyazawa M, Ito Y, Kosaka N, et al. Role of TNF- α and extracellular ATP in THP-1 cell activation following allergen exposure. *J Toxicol Sci* 2008; 33: 71.
 97. Verheyen GR, Schoeters E, Nuijten JM, et al. Cytokine transcript profiling in CD34 $^{+}$ -progenitor derived dendritic cells exposed to contact allergens and irritants. *Toxicol Lett* 2005; 155: 187.
 98. Schoeters E, Nuijten JM, Van Den Heuvel RL, et al. Gene expression signatures in CD34 $^{+}$ -progenitor-derived dendritic cells exposed to the chemical contact allergen nickel sulfate. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 216: 131.
 99. Miyazawa M, Ito Y, Yoshida Y, et al. Phenotypic alterations and cytokine production in THP-1 cells in response to allergens. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 428.
 100. Antonopoulos C, Cumberbatch M, Mee JB, et al. IL-18 is a key proximal mediator of contact hypersensitivity and allergen-induced Langerhans cell migration in murine epidermis. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 361.
 101. Corsini E, Mitjans M, Galbiati V, et al. Use of IL-18 production in a human keratinocyte cell line to discriminate contact sensitizers from irritants and low molecular weight respiratory allergens. *Toxicol In Vitro* 2009; 23: 789.
 102. Vandebriel RJ, Pennings JL, Baken KA, et al. Keratinocyte gene expression profiles discriminate sensitizing and irritating compounds. *Toxicol Sci* 2010; 117: 81.

Reazioni avverse ai tatuaggi

Elisa Cinotti, Rosella Gallo e Aurora Parodi

Riassunto. Il tatuaggio ha origini antichissime e dagli anni settanta ha conosciuto un'ampia diffusione nei paesi occidentali, con un parallelo aumento delle reazioni avverse. Le complicanze associate ai tatuaggi comprendono infezioni, dermatiti allergiche da contatto, dermatiti fotoindotte, reazioni granulomatose, pseudolinfomatose e lichenoidi, orticaria da contatto, reazioni scatenate da risonanza magnetica o laser, localizzazione di tumori cutanei o dermatosi in sede di tatuaggio. Per la diagnostica delle dermatiti allergiche da contatto si utilizzano ancora i test epicutanei con i pigmenti tradizionalmente coinvolti come mercurio, cromo e cobalto, ma questi sono oggi insufficienti poiché gli inchiostri hanno cambiato composizione. Identificare gli allergeni in causa è un compito arduo data la continua evoluzione dei pigmenti e il fatto che i loro componenti sono spesso ignoti. Nonostante queste difficoltà cominciano ad essere segnalati nuovi allergeni responsabili di reazioni ai tatuaggi.

Parole chiave: reazioni avverse, tatuaggio, dermatite allergica da contatto, pigmenti.

Summary. *Adverse reactions to tattoos.* Tattooing has been practiced for centuries in many cultures and has become increasingly popular in Western countries since the 1970s, with a parallel increase in adverse reactions. Tattoo-associated skin reactions include transient acute inflammatory reactions due to the piercing of the skin with needles and true medical complications such as allergic contact dermatitis, photodermatitis, granulomatous, lichenoid and pseudolymphomatous reactions, contact urticaria, reactions triggered by magnetic resonance imaging and laser, localization of skin cancer or other skin diseases in the tattoo. For the diagnosis of allergic contact dermatitis, patch testing with traditionally involved allergens such as mercury, chromium and cobalt are often inadequate, because the composition of tattoo inks has changed considerably and keeps changing. Moreover, in Italy the composition of tattoo inks is not regulated by law and their labeling is not compulsory. Red tattoos were and are the most frequent cause of allergic contact dermatitis. However, nowadays most reactions are not due to the traditional presence of mercury sulphide but to new organic pigments. Some of these penetrate the skin poorly, even under occlusion. Patch testing could thus be insufficient for the diagnosis and prick testing with a delayed reading may be required. Despite these difficulties, new allergens are beginning to be identified.

Key words: adverse reactions, tattoo, allergic contact dermatitis, pigments.

Introduzione

Il tatuaggio è un segno permanente impresso artificialmente sulla cute per introduzione nello spessore del derma di pigmenti di varia natura chimica e di diverso colore mediante l'uso di aghi elettrici o di qualsiasi altro oggetto appuntito. Può essere eseguito intenzionalmente, a scopo ornamentale, cosmetico (trucco permanente), di riconoscimento (appartenenza ad un certo gruppo sociale, culturale o religioso) o medico (camouflage, ricostruzione dell'areola mammaria, centraggio in radiote-

rapia), oppure può prodursi accidentalmente per penetrazione di particelle pigmentate in seguito ad un trauma.

La sua storia è antichissima, come dimostra il riscontro di un tatuaggio sulla mummia del Similaun ritrovata sulle Alpi italiane, datata al 3300 aC¹. Tra le prime civiltà in cui si sviluppò il tatuaggio, si possono annoverare quella egiziana, quella greca e quella romana, dove serviva soprattutto per riconoscere gli schiavi ed i criminali¹. Successivamente lo si ritrova con simboli religiosi tra i primi cristiani. Nel 787 il Papa Adriano I proibì tale pratica e que-

¹Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Scienze della Salute, Azienda ospedaliera universitaria San Martino - IST di Genova.
Dr.ssa Elisa Cinotti, Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Scienze della Salute, Azienda ospedaliera universitaria San Martino - IST di Genova, Viale Benedetto XV/7, 16132 Genova (e-mail: elisacinotti@gmail.com).
Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.
Accettato per la pubblicazione il 26 gennaio 2012.

Tabella I - *Complicanze dei tatuaggi.*

-
1. Reazione infiammatoria asettica transitoria
 2. Reazioni avverse:
 - a. Infezioni
 - b. Reazioni d'ipersensibilità ritardata ai pigmenti
 - dermatiti allergiche da contatto
 - dermatiti fotoindotte
 - reazioni granulomatose
 - reazioni pseudolinfomatose
 - reazioni lichenoidi
 - c. Orticaria da contatto
 - d. Reazioni a seguito di risonanza magnetica
 - e. Reazioni a seguito di laserterapia
 - f. Localizzazione di neoplasia su tatuaggio
 - g. Localizzazione di dermatosi su tatuaggio
-

sto veto fu ribadito da successive bolle papali, tanto che sopravvisse solo in clandestinità, soprattutto fra i soldati e in alcuni luoghi di culto come il Santuario di Loreto.

Parallelamente si sviluppò nelle popolazioni primitive dell'Oceania, dove assunse un significato magico e sociale. Il termine tatuaggio deriva proprio dal polinesiano *tatahou*, dove *ta* significa disegno e *toua* spirito². Alla fine del diciottesimo secolo, il navigatore inglese James Cook importò questo termine in Europa, dove fu riportato come tattoo in inglese e tatuaggio in italiano². Dopo le esplorazioni oceaniche ci fu una reintroduzione di tale pratica in Occidente e, successivamente, una rapida diffusione con l'avvento della tatuatrice elettrica. Dagli anni settanta ad oggi la cultura del tatuaggio ha conosciuto un forte aumento nei paesi occidentali, prima tra i giovani hippy e i motociclisti e poi in ogni strato sociale, specialmente tra i giovani. Un americano su quattro tra i 18 e i 50 anni ha oggi almeno un tatuaggio³ e il 6% degli adolescenti in Italia è tatuato⁴.

Questo andamento ha determinato un parallelo aumento delle segnalazioni di reazioni avverse, che secondo la Food and Drug Administration (FDA) sono passate da 5 nel periodo dal 1988 al 2003 a più di 150 nel solo anno successivo⁵.

Complicanze dei tatuaggi

Le complicanze associate ai tatuaggi possono essere suddivise in una reazione infiammatoria acuta, che compare in tutti i soggetti, ed in reazioni avverse, che comprendono infezioni, reazioni d'ipersensibilità ritardata al pigmento, orticaria da contatto, reazioni

scatenate da risonanza magnetica o laser, localizzazioni di tumori cutanei o dermatosi in sede di tatuaggio (tabella I).

Reazione infiammatoria acuta

Una reazione infiammatoria acuta con eritema, edema e successiva desquamazione compare in tutti i soggetti tatuati, come conseguenza delle numerose infiltrazioni cutanee necessarie per introdurre il pigmento^{6,7}. Generalmente dura da qualche ora fino a 20 giorni e non richiede assistenza medica.

Durante l'esecuzione del tatuaggio è inoltre possibile apprezzare uno stravasamento ematico, determinato dalla rottura dei capillari superficiali da parte delle ripetute punture della cute. In assenza di un disturbo della coagulazione, il sanguinamento è modesto e si interrompe rapidamente. Gli ematomi sottostanti al tatuaggio sono possibili ma infrequenti⁶.

Infezioni

L'infezione può essere il risultato di un mancato rispetto da parte del tatuatore di scrupolose norme igieniche (guanti, aghi e inchiostri monouso, strumenti sterilizzati in autoclave, ecc.) o, più raramente, della contaminazione dell'inchiostro⁸. Le piodermiti da stafilococchi o streptococchi sono frequenti, mentre rare sono le infezioni batteriche sistemiche (setticemie, endocarditi) o la trasmissione dei virus dell'immunodeficienza umana, dell'epatite B o C. Sono stati anche descritti casi isolati di trasmissione di herpes virus, poxvirus e papilloma virus⁹.

Reazioni d'ipersensibilità ritardata

Le reazioni d'ipersensibilità ritardata sono relativamente infrequenti, considerando l'ampia diffusione dei tatuaggi; sono dovute ad una risposta infiammatoria alle sostanze estranee iniettate. Si possono manifestare con una latenza variabile da giorni ad anni e comprendono dermatiti allergiche da contatto (DAC), fotodermatiti, reazioni granulomatose, pseudolinfomatose e lichenoidi.

Dermatiti allergiche da contatto

Le reazioni allergiche da contatto si manifestano clinicamente con eczema e prurito limitati all'area tatuata e solo raramente con reazioni infiammatorie generalizzate. Sono state descritte da alcuni giorni fino a 45 anni dopo l'esecuzione del tatuaggio⁶. Talvolta possono essere scatenate da una seconda rifinitura del tatuaggio¹⁰. Dal punto di vista istologico sono caratterizzate da acantosi, spongiosi ed un infiltrato infiammatorio perivasale.

Sono causate da un'ipersensibilità ritardata nei confronti dell'inchiostro iniettato, costituito da pigmenti (miscele di sostanze di origine minerale, vegetale o sintetica), dispersi in un veicolo, dove possono essere presenti additivi a varia azione quali stabilizzanti, conservanti o addensanti.

In letteratura sono riportati numerosi casi di DAC da pigmenti, ma non ai veicoli, probabilmente in relazione al fatto che i pigmenti sono scelti appositamente per permanere nella cute, a differenza dei veicoli che vengono smaltiti rapidamente. I veicoli più frequentemente impiegati sono alcol etilico ed acqua distillata, ma sporadicamente possono essere presenti anche altre sostanze, spesso tossiche, come etilenglicole, formaldeide, propilenglicole, glicerolo, estratto di amamelide, oli essenziali (quali eucalipto, timo e mentolo), alcol denaturato o altri tipi di alcol (quali alcol metilico o isopropilico), e detergenti di natura varia.

I pigmenti tradizionalmente usati sono il nero fumo (nero) e i sali di metalli ricavati da minerali presenti in natura, come mercurio (rosso), ferro (rosso, nero, giallo), cromo (verde), cobalto (blu), cadmio (giallo), alluminio (bianco), zinco (bianco) e titanio (bianco), spesso mescolati fra loro o associati a pigmenti vegetali, quali curcuma e legno di sandalo.

La composizione dei pigmenti è in continua evoluzione e negli ultimi 15 anni una lunga serie di sostanze sintetiche organiche, come antrachinone (rosso), ftalocianine (blu, verde), chinacridone (rosso, viola)¹¹, coloranti derivati dall'indigo (rosso, viola)¹² e coloranti azoici quali benzimidazolone (giallo, arancio, rosso, marrone)¹³, sta soppiantando i pigmenti tradizionali^{14,15}, al fine di produrre inchiostri con colori sempre più intensi e con sfumature differenti (tabella II). In particolare sono sempre meno utilizzati i sali di mercurio, principali

Tabella II - Composizione dei pigmenti dei tatuaggi.

| Colore | Pigmenti |
|-------------|--|
| Nero | Ossido ferrico (Fe_3O_4) Ossido ferroso (FeO) Carbonio (grafite, carbonio amorfo, carbone d'ossa) Legno di campeggio |
| Marrone | Ocra (miscela di ossidi ferrici e argilla) |
| Rosso | Cinabro o Solfuro di Mercurio (HgS) Rosso cadmio (CdSe) Ossido ferrico (Fe_2O_3) Pigmento naftolo-AS (azopigmento di sintesi) Chinacridone Coloranti derivati dall'indigo |
| Arancio | Coloranti diazoici (diazodiarilide, diazopirazoloni) Solfoseleniuro di cadmio |
| Color Carne | Ocra (ossidi di ferro mescolati ad argilla) |
| Giallo | Giallo cadmio (CdS , CdZnS) Limonite (ocra) Curcuma Giallo cromo (PbCrO_4 , spesso mescolato con PbS) Coloranti diazoici (diazodiarilide) |
| Verde | Ossido di cromo (Cr_2O_3) Malachite [$\text{Cu}_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_2$] Ferrocianuri e ferricianuri Cromati di piombo Pigmenti monoazoici Ftalocianine di rame/alluminio |
| Blu | Blu cobalto (alluminato di cobalto) Azulene Ftalocianine di rame |
| Viola | Violetto di manganese Vari sali di alluminio Chinacridone Diossazina/carbazolo |
| Bianco | Bianco piombo (carbonato di piombo) Biossido di titanio (TiO_2) Solfato di bario (BaSO_4) Ossido di zinco |

imputati di reazioni avverse in passato, anche a seguito della risoluzione della FDA del 1976 che limitava la concentrazione di tale sostanza tossica nei cosmetici a 3 ppm¹⁴.

In passato il pigmento rosso era quello più frequentemente coinvolto nelle DAC, proprio per la presenza di solfuro di mercurio. Per ovviare ai problemi causati dal mercurio, sono stati sviluppati alcuni pigmenti rossi alternativi, ma questo non è servito ad impedire le reazioni avverse. Attualmente il tatuaggio

rosso continua ad essere il maggior responsabile di reazioni allergiche ed alcuni lavori cominciano a citare nuovi allergeni associati come Pigment Red 181 (Colour Index number 73360)¹⁰ e coloranti azoici¹⁶ quali Pigment Red 170 (Colour Index number 12475)^{17,18}. La letteratura riporta anche casi d'ipersensibilità ritardata a pigmenti rossi causati dalla contaminazione con nichel¹⁹.

A differenza delle DAC da tatuaggi rossi, quelle da pigmenti di altri colori sono infrequenti. Reazioni a pigmenti verdi possono essere scatenate dalla presenza di cromo, a volte anche a causa di una precedente sensibilizzazione dovuta all'esposizione al cemento²⁰. In questi casi, oltre all'eczema nella sede di tatuaggio, sono anche possibili reazioni secondarie alle mani o reazioni generalizzate²¹. I tatuaggi blu o azzurri contenenti cobalto o cromo²² solo raramente sono stati associati a reazioni eczematose.

Ancora più sicuri sono i tatuaggi verdi e blu eseguiti con le ftalocianine rameiche, pigmenti più stabili di cromo e cobalto, che sono anche approvati dalla FDA per le lenti a contatto colorate, giocattoli e mobili²¹. Anche i tatuaggi neri difficilmente provocano reazioni allergiche (figura 1), con meno di 5 casi riportati in letteratura dovuti presubibilmente ad ipersensibilità a carbone²³. Recentemente è stato ipotizzato che anche dibutilftalato, un additivo spesso riscontrato nei pigmenti neri, possa essere causa di reazioni allergiche ai tatuaggi¹³.

Un discorso a parte meritano i tatuaggi temporanei a base di henné. L'henné è un colorante naturale rosso-brunastro derivato dalle foglie di *Lawsonia inermis*, un arbusto originario dell'Asia minore, tradizionalmente utilizzato nel Sud Est asiatico e nei Paesi arabi per decorare mani e piedi e per tingere i capelli. In occidente i tatuatori rafforzano spesso il suo colore e il suo fissaggio sulla pelle aggiungendovi *para*-fenilendiamina, colorante chimico base delle tinture permanenti dei capelli e noto allergene da contatto^{24,25}. In questi casi le reazioni possono anche essere molto severe, con edema e bolle in tutta l'area tatuata²⁴. Nei casi in cui henné è addizionato a *para*-fenilendiamina, è sufficiente anche una sola esposizione a questa sostanza per scatenare una reazione, poiché la concentrazione di *para*-fenilendiamina è solitamente elevata.



Figura 1 - Dermatite allergica da contatto a pigmento nero.

Dermatiti fotoindotte

Le reazioni fotoallergiche si manifestano dopo esposizione solare con eritema, edema e prurito e talvolta noduli²⁶ e sono soprattutto causate da pigmenti gialli contenenti tradizionalmente solfuro di cadmio²¹. I tatuaggi rossi sono associati più raramente a reazioni fotoallergiche e queste verosimilmente sono legate a tracce di cadmio aggiunte per rendere il colore più brillante²¹.

L'esatta patogenesi è sconosciuta; poiché il cadmio è estremamente fotosensibile, tanto da essere anche usato nelle celle fotovoltaiche, si è anche ipotizzato un meccanismo fototossico.

E' stato pure rilevato che nuovi pigmenti gialli, come il composto monoazoico Pigment Yellow 74 (CI 11741), possono dare origine a prodotti tossici di fotolisi dopo irradiazione solare²⁷. Similmente, è stato dimostrato che i tatuaggi neri contenenti carbone hanno tracce di idrocarburi aromatici che possono assorbire i raggi ultravioletti A dando origine a radicali liberi dell'ossigeno con reazioni fototossiche sulle cellule²⁸, ma non vi sono in letteratura casi di reazioni cutanee fotoindotte da tatuaggi neri.

Anche la luce pulsata potrebbe favorire lo sviluppo di reazioni avverse, e a tal proposito è stata descritta una reazione granulomatosa su tatuaggio cosmetico in una paziente con pregressa sarcoidosi polmonare sottoposta ad un trattamento con luce pulsata²⁹.

Reazioni granulomatose

Le reazioni granulomatose sono dovute ad una fagocitosi inefficace del pigmento iniettato nel derma da parte dei macrofagi. Possono presentarsi istologicamente come granulomi da

corpo estraneo, con numerose cellule giganti multinucleate ripiene di pigmento, linfociti e poche cellule epitelioidi o come granulomi sarcoidei con numerose cellule epitelioidi, poche cellule giganti e pochi linfociti disposti ad anello periferico.

Bisogna distinguere da questi casi quelli di localizzazione della sarcoidosi su tatuaggio, escludendo altre possibili localizzazioni viscerali di sarcoidosi, in particolar modo polmonari³⁰. La sarcoidosi potrebbe svilupparsi su di un tatuaggio per un fenomeno K bner-simile e talvolta le lesioni cutanee hanno permesso la diagnosi di tale malattia.

La latenza con cui si sviluppano i granulomi pu  variare da settimane a mesi, ma talvolta possono sopravvenire anche dopo 10 anni⁸.

Le reazioni granulomatose sono state associate a tatuaggi rossi³¹ contenenti mercurio^{32,33} o viola contenenti manganese o alluminio³⁴⁻³⁶. Pi  raramente sono state descritte per pigmenti neri contenenti cobalto e nichel³⁷, verdi³⁸ o blu³⁹. In caso di sarcoidosi che si localizza su tatuaggio, invece, sono interessati soprattutto i tatuaggi neri⁴⁰.

Frequenti sono anche le reazioni granulomatose in seguito a make-up permanente contenente ossidi di ferro ed ocre^{41,42}. E' descritto anche un caso di granuloma sarcoideo come prima manifestazione di sarcoidosi, insorto su un tatuaggio cosmetico delle labbra in paziente in terapia con interferone⁸.

I test epicutanei in caso di reazioni granulomatose possono dare risultati variabili, ma sono solitamente negativi.

Bisogna inoltre ricordare che, in caso di reazione granulomatosa,   necessario porre una diagnosi differenziale con i possibili granulomi infettivi associati ai tatuaggi, dovuti ad esempio all'inoculazione di micobatteri, come *Micobacterium chelonae* o *Micobacterium leprae*⁶.

Reazioni pseudolinfomatose

Le reazioni pseudolinfomatose hanno lunga latenza (da 6 mesi a 6 anni⁴³) e si manifestano con noduli rosso-violacei, duri, non pruriginosi nelle aree rosse (figura 2) o pi  raramente nelle zone blu (sali di cobalto) o verdi (sali di cromo)^{9,44,45}. Anche in questo caso sono state descritte reazioni al trucco semipermanente⁴⁶.

La diagnosi si basa sull'esame istologico che rivela un denso infiltrato linfocitario dermico che si differenzia da quello del linfoma

per essere pi  denso nel derma superficiale rispetto al derma profondo, per essere misto e per avere una possibile formazione di centri germinativi tipici. Ulteriori indagini immunostochimiche e di biologia molecolare possono essere effettuate per stabilire se l'infiltrato   prevalentemente B o T linfocitario e per stabilirne la policlonalit ²¹. In generale gli pseudolinfomi da tatuaggio sono a cellule B e anche la clinica ricorda un linfoma cutaneo a linfociti B, ma sono stati riportati anche casi T linfocitari⁴⁶.

La patogenesi delle reazioni pseudolinfomatose   ignota. Verosimilmente si tratta di una stimolazione cronica dei linfociti da parte dei pigmenti che agirebbero come antigeni. E' stato anche ipotizzato che le cellule di Langerhans vengano soppresse dal pigmento esogeno e che ci  possa spiegare la negativit  dei test epicutanei in corso di tali reazioni².

Reazioni lichenoidi

Le reazioni lichenoidi sono caratterizzate, dal punto di vista clinico ed istologico, per essere simili al lichen planus. Si tratta di piccole papule a superficie cheratosica, spesso



Figura 2 - Reazione pseudolinfomatosa con noduli nelle aree rosse del tatuaggio.

pruriginose, che all'esame istologico presentano ipercheratosi, ipergranulosi ed acantosi dell'epidermide, infiltrato T-linfocitario a banda nel derma superficiale, con aggressione dello strato basale dell'epidermide e degenerazione vacuolare della stessa. A volte l'aspetto è simile alla graft versus host disease⁶.

I tatuaggi rossi contenenti mercurio sono quelli più frequentemente coinvolti in questo tipo di reazioni, ma recentemente è stata proposta anche una relazione con il nichel⁴⁷. Di solito le reazioni lichenoidi sono confinate alla sede tatuata, ma ne è stata riportata una generalizzata⁴⁸. Esistono anche veri e propri casi di lichen planus insorti su tatuaggio⁴⁹; è quindi utile escludere la presenza di altre lesioni cutanee e mucose per una corretta diagnosi differenziale.

Caratteristico è inoltre il fatto che l'aspetto lichenoidale sia quello prevalente nelle reazioni ai tatuaggi da amalgama al cavo orale⁵⁰.

Come nelle reazioni granulomatose e pseudolinfomatose, i patch test sono usualmente negativi, ma alcuni casi sono stati relazionati a presenza di tracce di nichel in pazienti con patch test positivi a tale metallo⁴⁷.

Legislazione in materia d'inchiostri per tatuaggi

In caso di reazione allergica è difficile identificare l'allergene in causa perché gli inchiostri dei tatuaggi non sono soggetti ad obbligo di etichettatura INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients), nonostante rientrino tra i cosmetici secondo la FDA.

Il Consiglio dei Ministri europeo ha definito precise direttive sui requisiti per la sicurezza dei tatuaggi e del trucco permanente in una risoluzione del Consiglio d'Europa del 2008⁵¹, ma queste non sono state trasformate in legge in Italia. Nel nostro Paese non vige quindi una legge statale che disciplini la composizione degli inchiostri, ma esiste solo un progetto di legge che raccomanda l'introduzione di una legislazione specifica sui prodotti destinati al tatuaggio permanente, nonché di una disciplina sulle norme d'igiene da osservare⁵². Alcune regioni (Piemonte, Toscana e Lombardia) hanno peraltro disposto in materia nell'ambito della potestà legislativa, ma tali leggi si limitano a dare direttive generali dichiarando che i pigmenti utilizzati per il tatuaggio non devono contenere sostanze che possono causare danni

alla salute pubblica⁵³⁻⁵⁵.

Le direttive europee, invece, dichiarano che gli ingredienti dei tatuaggi devono essere riportati sulla confezione secondo il loro nome IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) o CAS (Chemical Abstract) o secondo il loro numero CI (Colour Index) e stabiliscono una lista di sostanze cancerogene, tra cui alcune amine aromatiche ed alcuni pigmenti organici che non devono essere presenti tra i componenti. Definiscono inoltre anche la massima concentrazione permessa d'idrocarburi aromatici e di alcuni metalli quali mercurio, cromo, cobalto, cadmio, rame e nichel. A tal proposito, ad accompagnare il pigmento troviamo spesso una scheda tecnica che indica che queste ultime sostanze sono assenti, ma non riporta i componenti presenti.

Diagnostica delle reazioni avverse da ipersensibilità ritardata da tatuaggio

In caso di reazione avversa da tatuaggio l'esame obiettivo non sempre è sufficiente ad identificare il tipo di reazione e può essere necessario eseguire l'esame istologico, soprattutto in caso di quadri clinici non eczematosi, con lesioni papulo-nodulari suggestive di reazioni lichenoidi, granulomatose o pseudolinfomatose.

Stabilire quale componente dell'inchiostro sia responsabile della reazione cutanea è difficile e spesso impossibile nella routine clinica. Si utilizzano comunemente i patch test, che sono indicati soprattutto in caso di reazioni d'ipersensibilità ritardata di tipo eczematoso ed, in minor misura, per quelle lichenoidi. Possono essere impiegati pure in caso di reazioni granulomatose e pseudolinfomatose, sebbene siano solitamente negativi.

Poiché gli inchiostri non sono soggetti ad etichettatura e la loro composizione è in continuo mutamento, non è possibile attualmente suggerire una serie di allergeni specifici sufficientemente sensibile.

Sarebbe innanzitutto necessario identificare l'inchiostro utilizzato per il tatuaggio, o per l'area tatuata sede della reazione, e testarlo come tale, in occlusione, con lettura a 48 e 72/96 ore. Parallelamente è opportuno eseguire patch test con la serie standard SIDAPA integrata da alcuni allergeni storicamente implicati, anche se probabilmente obsoleti, quali mercurio cloruro (0,05% in acqua) e cadmio cloruro (1% in acqua).

In caso di reazione positiva all'inchiostro come tale e ad allergeni comuni quali nichel, cromo e cobalto, per stabilire la rilevanza di questi ultimi, sarebbe necessario dimostrarne la presenza nell'inchiostro mediante microanalisi a raggi X¹⁴. Poiché è stata segnalata la presenza in inchiostri neri di apteni facilmente reperibili in commercio, quali dibutilftalato e glicole propilenico, è possibile testare anche questi ultimi (entrambi al 5% in vaselina), sebbene scarsamente rilevanti, perché non implicati fino ad ora in casi di DAC da tatuaggio.

In caso di reazione positiva all'inchiostro è utile, ai soli fini di ricerca e non per la routine clinica, richiedere al produttore i singoli componenti e testarli separatamente, alla concentrazione e nel veicolo più opportuni, da determinarsi di volta in volta sulla base di una attenta valutazione della loro struttura chimica e della letteratura.

Va ricordato che una reazione negativa al patch test con l'inchiostro come tale non ne esclude automaticamente l'imputabilità, in quanto alcuni pigmenti organici di recente introduzione penetrano difficilmente attraverso l'epidermide, anche in occlusione, come dimostrato da segnalazioni di DAC da Pigment Red 170 e 181 (pigmenti rossi sempre più utilizzati in sostituzione del mercurio organico)^{10,18}. Per riprodurre una reazione allergica verso tali pigmenti è necessario simulare ciò che avviene durante il tatuaggio, facendo penetrare il pigmento nel derma mediante prick test o scratch patch test, con lettura ritardata a 2 giorni, tenendo presente che le reazioni possono essere molto severe¹⁰.

Nel caso di reazione avversa ai tatuaggi temporanei con henné (i cosiddetti "black henna tattoos") è sufficiente testare la serie standard SIDAPA in patch test e verificare se vi è sensibilizzazione a *para*-fenilendiamina.

Orticaria da contatto

Sono stati descritti quattro casi di orticaria da contatto a tatuaggio: uno elicitato dallo strofinamento di un tatuaggio in zone blu-nere², un altro insorto dopo esecuzione di un tatuaggio contenente cobalto e con risoluzione dopo asportazione chirurgica dello stesso⁷, e due casi in seguito a terapia laser⁵⁶⁻⁵⁷.

Reazioni a seguito di risonanza magnetica

Infiammazione, sensazione di bruciore, fino ad edema ed ustioni sono stati riportati in seguito a risonanza magnetica². Queste complicanze sono state segnalate anche in una piccola percentuale (1,5%) di pazienti con trucco permanente sottoposti a risonanza magnetica, soprattutto a livello oculare⁵⁸.

E' stato pure riportato che i pigmenti possono interferire con la qualità dell'immagine della risonanza magnetica. Si ritiene che tali reazioni siano provocate da un'interazione tra il campo magnetico impiegato nella procedura diagnostica ed i componenti metallici (ad esempio ossido di ferro) dei pigmenti presenti negli inchiostri usati per il trucco permanente⁵⁸.

Reazioni a seguito di laserterapia

Per rimuovere i tatuaggi, il gold standard è rappresentato dai laser Q-switched, che eseguono una fototermodisi selettiva in grado di distruggere in modo mirato il pigmento grazie a impulsi ad alta intensità e breve durata (nanosecondi) con un minimo danno del tessuto circostante e un rischio limitato di effetti avversi quali cicatrici o alterazioni della pigmentazione⁵⁹.

Oggi si impiegano quattro tipi di laser Q-switched: il laser rubino (694 nm), il laser all'alessandrite (755 nm) e i laser Nd: YAG a 532 nm e 1064 nm. Il laser rubino e quello all'alessandrite sono utili per rimuovere i pigmenti neri, blu e verdi; quello Nd: YAG a 532 nm può essere usato per i pigmenti rossi e quello Nd: YAG a 1064 nm per i pigmenti blu e neri⁶⁰.

Il laser frantuma i pigmenti e provoca la loro dispersione al di fuori dei macrofagi dermici che normalmente fagocitano la maggior parte del pigmento, favorendo quindi la loro eliminazione attraverso le vie linfatiche, ma anche l'insorgenza di reazioni d'ipersensibilità immediata^{56,57} o ritardata^{2,60}, sia localizzate che generalizzate, anche se lo sviluppo di reazioni allergiche è inusuale dopo la rimozione di tatuaggio con il laser.

E' stata descritta una reazione allergica a tatuaggio trattato con laser e contemporanea comparsa di una reazione in un altro tatuaggio non trattato, suggerendo che la risposta

immune sia causata da un'esposizione degli allergeni del pigmento dopo laserterapia piuttosto che da una formazione di neoantigeni⁶¹.

Paradossalmente è anche possibile che il tatuaggio si scurisca dopo terapia laser. Tale cambiamento di colore può essere determinato dalla riduzione dell'ossido ferrico, presente ad esempio nel trucco permanente, a ossido ferroso, o per la trasformazione del diossido di titanio, impiegato nel pigmento bianco o per schiarire o rendere più brillante il pigmento.

Localizzazione di neoplasie su tatuaggio

Sono stati descritti numerosi tumori insorti su tatuaggio, come melanomi, carcinomi basocellulari e spinocellulari, cheratoacantomi, dermatofibromi, dermatofibrosarcomi protuberans, leiomiomasarcomi, ma non è chiaro se via sia una relazione eziologica tra tatuaggio e tumori cutanei o se l'associazione dei due reperti sia casuale.

Localizzazione di dermatosi su tatuaggio

Sono stati descritti casi di psoriasi (forse scatenata dal fenomeno di Koebner), lichen planus e lupus eritematoso (forse scatenato da pigmenti fotosensibili), sviluppati in sede di tatuaggio². Non è stata ancora dimostrata una predilezione di colore dei pigmenti per tali reazioni.

Terapia delle reazioni avverse

Il trattamento delle reazioni avverse da tatuaggio include i corticosteroidi topici o intralesionali, il tacrolimus topico^{62,63} e l'asportazione chirurgica. Il ruolo dei laser Q-switched è dibattuto⁶⁴, ma è stato proposto l'uso del resurfacing frazionato ablativo per il trattamento delle reazioni allergiche⁶⁵.

Idrossiclorochina si è dimostrata efficace in un caso di reazione pseudolinfomatosa⁴³.

Conclusioni

Gli effetti avversi dei tatuaggi sono infrequenti, ma è necessario conoscerli, vista la loro

variabilità e l'ampia diffusione della cultura del tatuaggio negli ultimi decenni.

La diagnosi è spesso orientata dalla presentazione clinica, ma l'esame istologico può essere utile per valutare lesioni nodulari o per eseguire una corretta diagnosi differenziale tra reazioni da tatuaggio, tumori e dermatosi su tatuaggio.

Per quanto riguarda la diagnostica delle DAC, i test epicutanei sono spesso negativi, perché si avvalgono degli allergeni tradizionalmente presenti nell'inchiostro, quali mercurio, cromo e cadmio, che oggi sono spesso sostituiti da nuovi pigmenti. La formulazione degli inchiostri, infatti, è in continua evoluzione e gli ingredienti sono spesso difficile da identificare in quanto non esiste una normativa che imponga di riportarli in etichetta.

Non dobbiamo poi dimenticare che l'asportazione del tatuaggio tramite laser può favorire le reazioni avverse, ed in particolar modo quelle d'ipersensibilità, per esposizione dei potenziali allergeni.

Bibliografia

1. Sawyer S. Body piercing and tattooing: the hidden dangers of body art. New York. The Rosen Publishing Group 2007; 9.
2. Kazandjieva J, Tsankov N. Tattoos: dermatological complications. *Clin Dermatol* 2007; 25: 375.
3. Laumann AE, Derick AJ. Tattoos and body piercings in the United States: a national data set. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: 413.
4. Cegolon L, Mastrangelo G, Mazzoleni F, et al. Body art in 4,277 Italian secondary school adolescents: prevalence and associations with personal and family characteristics. *Fam Med* 2010; 42: 273.
5. <http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductandIngredientSafety>.
6. Kluger N, Plantier F, Moguelet P, et al. Tattoos: natural history and histopathology of cutaneous reactions. *Ann Dermatol Venereol* 2011; 138: 146.
7. Bagnato GF, De Pasquale R, Giacobbe O, et al. Urticaria in a tattooed patient. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1999; 27: 32.
8. Caucanas M, El Hayderi L, Lebas E, et al. Dermatological complications of temporary and indelible tattoos. *Ann Dermatol Venereol* 2011; 138: 161.
9. Mataix J, Silvestre JF. Cutaneous adverse reactions to tattoos and piercings. *Actas Dermosifiliogr* 2009; 100: 643.
10. Wenzel SM, Welzel J, Hafner C, et al. Permanent make-up colorants may cause severe skin reactions. *Contact Dermatitis* 2010; 63: 223.
11. Greve B, Chytry R, Raulin C. Contact dermatitis from red tattoo pigment (quinacridone) with secondary spread. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 265.
12. Ratnapalan S, Greenberg M, Armstrong D. Tattoos and MRI. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 541.
13. Lehner K, Santarelli F, Vasold R, et al. Black tattoo inks are a source of problematic substances such as dibutyl phthalate. *Contact Dermatitis* 2011; 65: 231.
14. Timko AL, Miller CH, Johnson FB et al. In vitro quantitative chemical analysis of tattoo pigments. *Arch Dermatol* 2001;

- 137: 143.
15. Forte G, Petrucci F, Cristaudo A et al. Market survey on toxic metals contained in tattoo inks. *Sci Total Environ* 2009; 407: 5997.
 16. Bendsoe N, Hansson C, Sterner O. Inflammatory reactions from organic pigments in red tattoos. *Acta Derm Venereol* 1991; 71: 70.
 17. Yazdian-Tehrani H, Shibu MM, Carver NC. Reaction in a red tattoo in the absence of mercury. *Br J Plast Surg* 2001; 54: 555.
 18. Steinbrecher I, Hemmer W, Jarisch R. Adverse reaction to the azo dye Pigment Red 170 in a tattoo. *J Dtsch Dermatol Ges* 2004; 2: 1007.
 19. Jäger C, Jappe U. Contact dermatitis to permanent make up: manifestation of a pre-existing nickel allergy. *J Dtsch Dermatol Ges* 2005; 3: 527.
 20. Rostenberg A Jr, Brown RA, Caro MR. Discussion of tattoo reactions with report of a case showing a reaction to a green color. *AMA Arch Derm Syphilol* 1950; 62: 540.
 21. Kaur RR, Kirby W, Maibach H. Cutaneous allergic reactions to tattoo ink. *J Cosmet Dermatol* 2009; 8: 295.
 22. Tazelaar DJ. Hypersensitivity to chromium in a light-blue tattoo. *Dermatologica* 1970; 141: 282.
 23. Tope WD, Arbiser JL, Duncan LM. Black tattoo reaction: the peacock's tale. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 477.
 24. Gallo R, Parodi A, Cozzani E, et al. Allergic reaction to India ink in a black tattoo. *Contact Dermatitis* 1998; 38: 346.
 25. Foti C, Bonamonte D, Conserva A, et al. Para-fenilendiamina e tatuaggi: tre casi clinici e revisione della letteratura. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2005; 59: 27.
 26. Cruz FA, Lage D, Frigério RM, et al. Reactions to the different pigments in tattoos: a report of two cases. *An Bras Dermatol* 2010; 85: 708.
 27. Cui Y, Spann AP, Couch LH, et al. Photodecomposition of Pigment Yellow 74, a pigment used in tattoo inks. *Photochem Photobiol* 2004; 80: 175.
 28. Regensburger J, Lehner K, Maisch T, et al. Tattoo inks contain polycyclic aromatic hydrocarbons that additionally generate deleterious singlet oxygen. *Exp Dermatol*. 2010; 19: 275.
 29. Tournaki A, Boneschi V, Tosi D, et al. Granulomatous tattoo reaction induced by intense pulse light treatment. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2010; 26: 275.
 30. Anolik R, Mandal R, Franks AG Jr. Sarcoid tattoo granuloma. *Dermatol Online J* 2010; 16: 19.
 31. Guarneri F, Guarneri C, Cannavò SP. Reazione granulomatosa ai tatuaggi: contributo clinico. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2006; 60: 52.
 32. Verdich J. Granulomatous reaction in a red tattoo. *Acta Derm Venereol* 1981; 61: 176.
 33. Bagley MP, Schwartz RA, Lambert WC. Hyperplastic reaction developing within a tattoo: granulomatous tattoo reaction, probably to mercuric sulfide (cinnabar). *Arch Dermatol* 1987; 123: 1557.
 34. Nguyen LQ, Allen HB. Reactions to manganese and cadmium in tattoos. *Cutis* 1979; 23: 71.
 35. Schwartz RA, Mathias CG, Miller CH, et al. Granulomatous reaction to purple tattoo pigment. *Contact Dermatitis* 1987; 16: 198.
 36. McFadden N, Lyberg T, Hensten-Pettersen A. Aluminum-induced granulomas in a tattoo. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 903.
 37. Morales-Callaghan AM Jr, Aguilar-Bernier M Jr, Martínez-García G, et al. A. Sarcoid granuloma on black tattoo. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: S71.
 38. Kremser M. Sarcoid granuloma in green tattooing. *Wien Klin Wochenschr* 1987; 99: 14.
 39. Yoong C, Vun YY, Spelman L, et al. True blue football fan: tattoo reaction confined to blue pigment. *Australas J Dermatol* 2010; 51: 21.
 40. Jones MS, Maloney ME, Helm KF. Systemic sarcoidosis presenting in the black dye of a tattoo. *Cutis* 1997; 59: 113.
 41. Rubianes EI, Sánchez JL. Granulomatous dermatitis to iron oxide after permanent pigmentation of the eyebrows. *J Dermatol Surg Oncol* 1993; 19: 14.
 42. Vagefi MR, Dragan L, Hughes SM, et al. Adverse reactions to permanent eyeliner tattoo. *Ophthal Plast Reconstr Surg* 2006; 22: 48.
 43. Patrizi A, Raone B, Savoia F, et al. Tattoo-associated pseudolymphomatous reaction and its successful treatment with hydroxychloroquine. *Acta Derm Venereol* 2009; 89: 327.
 44. Blumental G, Okun MR, Ponitch JA. Pseudolymphomatous reaction to tattoos. Report of three cases. *J Am Acad Dermatol* 1982; 6: 485.
 45. Kahofer P, El Shabrawi-Caelen L, Horn M, et al. Pseudolymphoma occurring in a tattoo. *Eur J Dermatol* 2003; 13: 209.
 46. Shin JB, Seo SH, Kim BK, et al. Cutaneous T cell pseudolymphoma at the site of a semipermanent lip-liner tattoo. *Dermatology* 2009; 218: 75.
 47. Corazza M, Zampino MR, Montanari A, et al. Lichenoid reaction from a permanent red tattoo: has nickel a possible aetiological role? *Contact Dermatitis* 2002; 46: 114.
 48. Litak J, Ke MS, Gutierrez MA, et al. Generalized lichenoid reaction from tattoo. *Dermatol Surg* 2007; 33: 736.
 49. Dang M, Hsu S, Bernstein E. Lichen planus or lichenoid tattoo reaction? *Int J Dermatol* 1998; 37: 860.
 50. Staines KS, Wray D. Amalgam-tattoo-associated oral lichenoid lesion. *Contact Dermatitis* 2007; 56: 240.
 51. European Committee of Ministers. Resolution ResAP(2008)1 on requirements and criteria for the safety of tattoos and permanent make-up, 20 Febbraio 2008 (http://www.coe.int/t/e/social_cohesion/soc-sp/ResAP_2008_1_E.pdf).
 52. Linee guida del ministero della sanità per l'esecuzione di procedure di tatuaggio e piercing in condizioni di sicurezza (Circolare 05.02.1998 n.2.9/156) ([http://www.edkeditore.it/edk/webimg.nsf/Immagini/208B63A82CF83053C12577310044BAB9/\\$FILE/Circolare_Ministero_salute_Tatuaggio-piercing.pdf](http://www.edkeditore.it/edk/webimg.nsf/Immagini/208B63A82CF83053C12577310044BAB9/$FILE/Circolare_Ministero_salute_Tatuaggio-piercing.pdf)).
 53. Disegno di legge regione Piemonte 22 novembre 2007, n. 496 "Disciplina delle attività di tatuaggio e piercing e delle pratiche correlate" (http://www.consiglioregionale.piemonte.it/crpnnet/index.php?option=com_content&task=view&id=341).
 54. Legge regione Toscana 31 maggio 2004, n. 28. Disciplina delle attività di estetica e di tatuaggio e piercing. (http://www.regione.toscana.it/regione/multimedia/RT/documents/1241771887480_legge_2004_00028.pdf).
 55. Decreto Direzione Generale Sanità Lombardia 27 aprile 2004, n. 6932. Linee guida per l'esercizio delle attività di tatuaggio e/o piercing (http://unico.seregno.info/doc_informativi/Linee_guida_tatuaggi_e_piercing.pdf).
 56. England RW, Vogel P, Hagan L. Immediate cutaneous hypersensitivity after treatment of tattoo with Nd: YAG laser: a case report and review of the literature. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 89: 215.
 57. Stephan F, Moutran R, Tomb R. Hypersensitivity with angioedema after treatment of a tattoo with Nd: YAG laser. *Ann Dermatol Venereol* 2010; 137: 480.
 58. Offret H, Offret M, Labetoulle M. Permanent cosmetics and magnetic resonance imaging. *J Fr Ophthalmol* 2009; 32:131.
 59. Wenzel SM. Current concepts in laser tattoo removal. *Skin Therapy Lett* 2010; 15: 3.
 60. Ashinoff R, Levine VJ, Soter NA. Allergic reactions to tattoo pigment after laser treatment. *Dermatol Surg* 1995; 21: 291.
 61. Harper J, Losch AE, Otto SG, et al. New insight into the pathophysiology of tattoo reactions following laser tattoo removal. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126: 313.
 62. Campbell FA, Gupta G. Lichenoid tattoo reaction responding to topical acrolimus ointment. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 293.
 63. Wylie G, Gupta G. Lip-enhancing tattoo reaction resolving with topical tacrolimus. *Clin Exp Dermatol* 2008; 33: 505.
 64. Antony FC, Harland CC. Red ink tattoo reactions: successful treatment with the Q-switched 532 nm Nd: YAG laser. *Br J Dermatol* 2003; 149: 94.
 65. Ibrahim OA, Syed Z, Sakamoto FH, et al. Treatment of tattoo allergy with ablative fractional resurfacing: a novel paradigm for tattoo removal. *J Am Acad Dermatol* 2011; 64: 1111.

Reazioni cutanee a cerotti transdermici: revisione della letteratura e descrizione di un caso da rivastigmina

Caterina Foti¹, Paolo Romita¹, Annarita Antelmi¹, Gianfranco Calogiuri² e Domenico Bonamonte¹

Riassunto. L'assorbimento transdermico dei principi attivi farmacologici è stato attentamente studiato negli ultimi 40 anni. La somministrazione per via transdermica assicura un assorbimento costante del farmaco durante l'arco della giornata riuscendo, inoltre, ad ovviare ai fastidiosi e mal tollerati effetti collaterali gastroenterici tipici della somministrazione per via orale. L'applicazione di cerotti transdermici, comunque, può provocare reazioni avverse quali dermatiti irritative e allergiche da contatto, causate da farmaci somministrati per via transdermica o dagli eccipienti contenuti nei cerotti. Nel presente lavoro viene effettuata una revisione della letteratura circa le reazioni avverse cutanee ai cerotti transdermici, dalle più comuni alle più recenti. Descriviamo inoltre un caso di dermatite allergica da contatto con cerotto transdermico a base di rivastigmina in un paziente affetto da demenza di tipo Alzheimer.

Parole chiave: dermatite allergica da contatto, rivastigmina, cerotti transdermici.

Summary. *Cutaneous reactions to transdermal patches: a review of the literature and a case due to rivastigmine.* Transdermal therapeutic systems (TTS) have become a popular method of drug delivery because they allow drugs to be delivered in a rate-controlled manner, avoiding first-pass metabolism and the fluctuating plasma concentrations encountered with oral medications. Moreover, applying TTS is easy, does not require any assistance as intramuscular or intravenous administration, and provokes fewer side effects than there are with the oral delivery of drugs. Drugs most commonly delivered through TTS are scopolamine, estradiol, nitroglycerin, and clonidine. Unfortunately, TTS may provoke adverse skin reaction as irritant contact dermatitis (ICD) and allergic contact dermatitis (ACD). TTS seems to be ideally suited to produce sensitization because they cause occlusion, irritation, and repeated placement of the allergen at the same skin location. Since TTS consist of an adhesive, an active pharmaceutical drug and enhancing agents, sensitization may develop owing to one of these 3 components. The purpose of this manuscript is to review known responsible allergens of ACD to TTS. We describe also a case report about ACD to TTS caused by rivastigmine in a patient affected by Alzheimer's dementia. Rivastigmine is one of the latest drugs indicated as a known culprit allergen of ACD to TTS.

Key words: allergic contact dermatitis, rivastigmine, transdermal patch.

Introduzione

L'assorbimento transdermico dei principi attivi farmacologici è stato attentamente studiato negli ultimi 40 anni in quanto la cute, essendo l'organo più vasto e facilmente accessibile del corpo, rappresenta una attraente alternativa alla somministrazione per via orale. La somministrazione per via transdermica è di più facile esecuzione rispetto a quella per via endovenosa o intramuscolare,

ed assicura un assorbimento costante del farmaco durante l'arco della giornata, preferibile alla biodisponibilità pulsata causata dalla somministrazione per via orale. Inoltre, la somministrazione transdermica riesce spesso ad ovviare ai fastidiosi e mal tollerati effetti collaterali gastroenterici tipici della somministrazione orale.

A partire dall'introduzione del primo cerotto transdermico a base di scopolamina nel 1979, sono stati successivamente creati

¹Sezione di Dermatologia, Dipartimento di Scienze biomediche ed Oncologia umana, Università degli studi di Bari.

²Reparto di Pneumologia, Ospedale Ninetto Melli, San Pietro Vernotico (Brindisi).

Prof. Caterina Foti, Sezione di Dermatologia, Università di Bari, Policlinico, Piazza Giulio Cesare 11, 70124 Bari (e-mail: c.foti@dermatologia.uniba.it).

Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.

Accettato per la pubblicazione il 16 febbraio.

numerosi sistemi transdermici a base di vari principi attivi. Quelli attualmente più utilizzati sono a base di scopolamina, estrogeni, nitroglicerina e clonidina. Il farmaco, per essere assorbito attraverso la cute, deve possedere proprietà tali da attraversare lo strato corneo. La permeazione del principio attivo attraverso lo strato corneo è infatti la fase limitante di tale modalità di somministrazione, poiché consta dei processi di partizionamento e diffusione attraverso la fase lipofila e poi idrofila degli strati superficiali dell'epidermide che si oppongono all'ultimo passaggio di diffusione nella rete capillare del derma. Un farmaco candidato al trasporto transdermico deve possedere quindi caratteristiche sia lipofile che idrofile, cosicché la moderata idrofilia non impedisca la partizione attraverso lo strato corneo ricco di lipidi, e la moderata lipofilia non ostacoli la diffusione negli strati acquosi più bassi dell'epidermide ed oltre. Per stimare il partizionamento di un composto attraverso la cute si utilizza il coefficiente di ripartizione in ottanolo/acqua¹.

Reazioni cutanee avverse

L'applicazione di cerotti transdermici non è scevra da svantaggi; spesso, infatti, possono manifestarsi dermatiti irritative causate dall'adesivo, dal principio attivo o dagli eccipienti, e dermatiti allergiche da contatto (DAC), conseguenti alla sensibilizzazione ai principi attivi, in particolare nitroglicerina, scopolamina, estradiolo, nicotina e clonidina. Negli ultimi anni sono state segnalate reazioni di sensibilizzazione nei confronti di principi attivi come rivastigmina e mentolo.

Allergeni in causa

Nitroglicerina

L'utilizzo di cerotti transdermici a base di nitroglicerina rappresenta un comune trattamento antianginoso. In letteratura sono segnalati numerosi casi di DAC con cerotti transdermici a base di nitroglicerina²⁻⁶. Kounis *et al*⁷ hanno dimostrato che le reazioni a tali cerotti sono prevalentemente di tipo irritativo e solo in minima parte di tipo allergico. Nel sospetto di DAC con cerotto a base di nitroglicerina è

indispensabile effettuare il patch test con il principio attivo per definire il responsabile della reazione⁷.

Scopolamina

La scopolamina, nota anche come ioscina, è utilizzata per la prevenzione dei sintomi della cinetosi, generalmente sotto forma di cerotti transdermici, da applicare per 72 ore in sede retroauricolare.

Numerosi casi di DAC con tali cerotti sono riportati in letteratura⁸⁻¹⁰: Gordon *et al*¹¹ hanno evidenziato che il 10% dell'equipaggio di una nave, formato da 164 persone tutte utilizzatrici di cerotti transdermici con scopolamina, presentava reazioni eczematose nella zona di applicazione del supporto. Questi pazienti sottoposti a patch test con il cerotto transdermico privo del principio attivo non mostravano alcuna positività, suggerendo che il responsabile della reazione allergica fosse proprio la scopolamina.

Nicotina

I cerotti transdermici a base di nicotina sono utilizzati come ausilio all'interruzione dell'abitudine tabagica. Sebbene la nicotina sia un debole sensibilizzante, quando veicolata in cerotti transdermici può provocare DAC¹²⁻¹⁶.

Testosterone

I dispositivi transdermici a base di testosterone sono utilizzati nella pratica clinica per il trattamento di patologie disfunzionali correlate a deficit dell'ormone. Raramente questo farmaco causa casi di DAC, come evidenziato da Buckley *et al*¹⁷ e da Shouls *et al*¹⁸. Tuttavia, le reazioni cutanee prevalenti a tali cerotti sono di tipo irritativo¹⁷.

Estradiolo

Comunemente utilizzati per trattare i sintomi della menopausa, i cerotti transdermici a base di estradiolo sono stati segnalati come causa di sensibilizzazione verso tale ormone¹⁹⁻²². Lamb e Wilkinson²³ hanno inoltre ipotizzato che la sensibilizzazione all'estradiolo applicato topicamente possa rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di DAC con corticosteroidi. I pazienti sensibilizzati all'estradiolo, comunque, sembrano poter assumere lo stesso principio attivo per via orale senza comparsa di reazioni cutanee.

Clonidina

La clonidina, farmaco solitamente assunto per via orale per il trattamento dell'ipertensione, può essere veicolato con successo tramite cerotti transdermici lasciati in sede per un periodo di applicazione di 7 giorni, più lungo rispetto agli altri principi attivi.

Anche se la clonidina non sembra possedere elevate capacità sensibilizzanti, probabilmente a causa del lungo periodo di applicazione, la DAC con tale farmaco è abbastanza frequente²⁴⁻²⁶. Maibach *et al*²⁷ hanno sottolineato il ruolo della somministrazione transdermica nel determinismo della sensibilizzazione allergica confrontando un gruppo di 103 pazienti, sottoposti ad applicazione topica di clonidina al 9% in vaselina, con un gruppo di 92 pazienti, sottoposti all'applicazione di cerotto transdermico con clonidina. I risultati evidenziavano come a distanza di 3 settimane il 4,3% dei pazienti appartenenti al 2° gruppo risultasse sensibilizzato alla clonidina, mentre nessun caso di sensibilizzazione veniva rilevato nei pazienti del 1° gruppo.

Adesivi ed eccipienti

La DAC con cerotti transdermici, oltre che dai principi attivi e dagli eccipienti in essi contenuti, può essere causata anche dalle sostanze adesive che garantiscono l'adesione del supporto alla cute: colofonia, esteri della colofonia e derivati del silicone. In caso di DAC con cerotti medicati è importante pertanto effettuare patch test con cerotto placebo, ovvero un supporto identico a quello costituente il sistema transdermico sprovvisto del principio attivo, al fine di verificare l'imputabilità del supporto nel determinismo della reazione^{7,8,28,29}.

Tra gli eccipienti responsabili di DAC con cerotto si segnala il mentolo: principio attivo contenuto nell'olio di menta, è un composto fortemente aromatico, amaro, noto per il suo effetto antinfiammatorio, analgesico e vasodilatatorio. Proprio alla luce delle sue proprietà viene utilizzato nei sistemi transdermici per agevolare la penetrazione del principio attivo contenuto negli stessi. Il mentolo è un debole sensibilizzante e solo raramente provoca DAC. Tuttavia, casi di allergie da contatto con mentolo possono verosimilmente verificarsi come conseguenza della metabolizzazione del mentolo in mentone, sensibilizzante più potente. In letteratura sono segnalati casi di

DAC causati dall'utilizzo di sigarette, dentifrici e profumazioni a base di mentolo³⁰, nonché successivi all'uso di cerotti contenenti il mentolo come eccipiente³¹.

Rivastigmina

Rivastigmina è un inibitore delle colinesterasi, utilizzato per migliorare le funzioni cognitive nelle forme di demenza del morbo di Parkinson e della malattia di Alzheimer. La sostanza è stata commercializzata dal 2007 anche in forma di cerotto transdermico, allo scopo di eliminare gli effetti collaterali gastroenterici della somministrazione orale (vomito, nausea e diarrea).

Recentemente sono stati segnalati casi di reazioni avverse a cerotti transdermici a base di rivastigmina³²⁻³⁴. Makris *et al*³² hanno inoltre studiato l'utilità della terapia desensibilizzante in un paziente affetto da demenza di tipo Alzheimer, che aveva sviluppato DAC con rivastigmina contenuta nel cerotto transdermico con cui era in terapia. In questo caso è stato dimostrato come, una volta effettuata adeguata terapia desensibilizzante, fosse possibile risomministrare rivastigmina per via orale a pazienti precedentemente sensibilizzati per contatto allo stesso principio attivo contenuto in cerotti transdermici.

DAC con rivastigmina contenuta in un cerotto transdermico: descrizione di un caso

Un uomo di 80 anni, non atopico, giungeva alla nostra attenzione per la comparsa di lesioni eczematose, intensamente pruriginose, diffuse a tronco ed arti inferiori. L'anamnesi rivelava che il paziente, affetto da demenza di tipo Alzheimer di grado lieve, era in trattamento da circa un mese con cerotto transdermico a base di rivastigmina al dosaggio di 0,5 mg/24 h. Era possibile inoltre osservare una maggiore accentuazione delle lesioni cutanee, insorte circa 10 giorni dopo l'inizio del trattamento, nella zona di applicazione del cerotto. La sospensione del trattamento induceva una rapida remissione delle manifestazioni.

A distanza di circa 2 mesi, il paziente è stato sottoposto ad accertamenti allergodiagnostici: venivano eseguiti test epicutanei con la serie standard SIDAPA (Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e

Ambientale), con cerotto transdermico a base di rivastigmina e con cerotto placebo privo di principio attivo ed eccipienti. I test mostravano una intensa reazione positiva al cerotto transdermico a base di rivastigmina a 48 e 96 ore (figura 1). Test epicutanei con lo stesso cerotto venivano eseguiti anche su tre soggetti di controllo, risultando negativi.

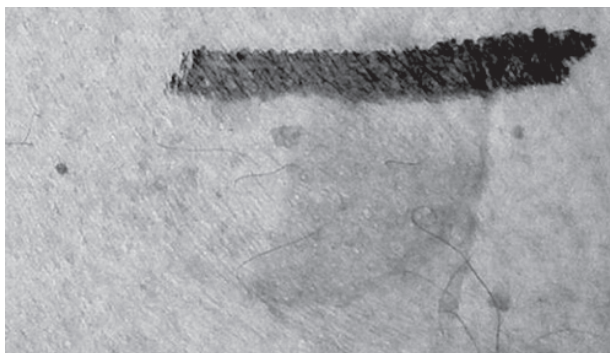


Figura 1 - Patch test positivo a 96 ore con cerotto transdermico contenente rivastigmina (9,5 mg/24 ore).

I dati anamnestici clinici e laboratoristici hanno permesso di concludere per DAC con cerotto transdermico a base di rivastigmina; il paziente, sospeso il trattamento, non ha più lamentato la comparsa di nuove lesioni.

Bibliografia

- Subedi RK, Oh SY, Chun M-K, et al. Recent advances in transdermal drug delivery. *Arch Pharm Res* 2010; 33: 339.
- Rosenfeld AS, White WB. Allergic contact dermatitis secondary to transdermal nitroglycerin. *Am Heart J* 1984; 108: 1061.
- Topaz O, Abraham D. Severe allergic contact dermatitis secondary to nitroglycerin in a transdermal therapeutic system. *Ann Allergy* 1987; 59: 365.
- Torres V, Lopes JC, Leite L. Allergic contact dermatitis from nitroglycerin and estradiol transdermal therapeutic systems. *Contact Dermatitis* 1992; 26: 53.
- Machet L, Martin L, Toledano C, et al. Allergic contact dermatitis from nitroglycerin contained in 2 transdermal systems. *Dermatology* 1999; 198: 106.
- Perez-Calderon R, Gonzalo-Garijo MA, Rodriguez-Navado I. Generalized allergic contact dermatitis from nitroglycerin in a transdermal therapeutic system. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 303.
- Kounis NG, Zavras GM, Papadaki PJ, et al. Allergic reactions to local glyceryl trinitrate administration. *Br J Clin Pract* 1996; 50: 437.
- Fisher AA. Dermatitis due to transdermal therapeutic systems. *Cutis* 1984; 34: 526.
- Trozak DJ. Delayed hypersensitivity to scopolamine delivered by a transdermal device. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 247.
- van der Willigen AH, Oranje AP, Stolz E, et al. Delayed hypersensitivity to scopolamine in transdermal therapeutic systems. *J Am Acad Dermatol* 1988; 18: 146.
- Gordon CR, Shupak A, Doweck I, et al. Allergic contact dermatitis caused by transdermal hyoscyne. *Br Med J* 1989; 298: 1220.
- Eichelberg D, Stolze P, Block M, et al. Contact allergies induced by TTS treatment. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1989; 11: 223.
- Bircher AJ, Howald H, Rufli T. Adverse skin reactions to nicotine in a transdermal therapeutic system. *Contact Dermatitis* 1991; 25: 230.
- Jordan WP. Clinical evaluation of contact sensitization potential of a transdermal nicotine system (Nicoderm®). *J Fam Pract* 1992; 34: 709.
- Färm G. Contact allergy to nicotine from a nicotine patch. *Contact Dermatitis* 1993; 29: 214.
- Vincenzi C, Tosti A, Cirone M, et al. Allergic contact dermatitis from transdermal nicotine systems. *Contact Dermatitis* 1993; 29: 104.
- Buckley DA, Wilkinson SM, Higgins EM. Contact allergy to a testosterone patch. *Contact Dermatitis* 1998; 39: 91.
- Shouls J, Shum KW, Gadour M, et al. Contact allergy to testosterone in an androgen patch: control of symptoms by pre-application of topical corticosteroid. *Contact Dermatitis* 2001; 45: 124.
- Carmichael AJ, Foulds IS. Allergic contact dermatitis from oestradiol in oestrogen patches. *Contact Dermatitis* 1992; 26: 194.
- Boehncke WH, Gall H. Type IV hypersensitivity to topical estradiol in a patient tolerant to it orally. *Contact Dermatitis* 1996; 35: 187.
- Panhans-Gross A, Gall H, Dziuk M, et al. Contact dermatitis from estradiol in a transdermal therapeutic system. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 368.
- Koch P. Allergic contact dermatitis from estradiol and norethisterone acetate in a transdermal hormonal patch. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 112.
- Lamb SR, Wilkinson SM. Contact allergy to progesterone and estradiol in a patient with multiple corticosteroid allergies. *Dermatitis* 2004; 15: 78.
- Groth H, Vetter H, Knüsel J, Vetter W. Allergic skin reactions to transdermal clonidine. *Lancet* 1983; 2: 850.
- Corazza M, Mantovani L, Virgili A, et al. Allergic contact dermatitis from a clonidine transdermal delivery system. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 246.
- Horning JR, Zawada ET, Simmons JL, et al. Efficacy and safety of two-year therapy with transdermal clonidine for essential hypertension. *Chest* 1998; 93: 941.
- Maibach H. Clonidine: irritant and allergic contact dermatitis assays. *Contact Dermatitis* 1985; 12: 192.
- McBurney EI, Noel SB, Collins JH. Contact dermatitis to transdermal estradiol system. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 508.
- Dwyer CM, Forsyth A. Allergic contact dermatitis from methacrylates in a nicotine transdermal patch. *Contact Dermatitis* 1994; 30: 309.
- Ale SI, Hostynek JJ, Maibach HI. Menthol: a review of its sensitization potential. *Exog Dermatol* 2002; 1: 74.
- Foti C, Conserva A, Antelmi A, et al. Contact dermatitis from peppermint and menthol in a local action transcutaneous patch. *Contact Dermatitis* 2003; 49: 312.
- Makris M, Koulouris S, Koti I, et al. Maculopapular eruption to rivastigmine's transdermal patch application and successful oral desensitization. *Allergy* 2010; 65: 925.
- Greenspoon J, Herrmann N, Adam DN. Transdermal rivastigmine: management of cutaneous adverse events and review of the literature. *CNS Drugs* 2011; 25: 575.
- Grieco T, Rossi M, Faina V, et al. An atypical cutaneous reaction to rivastigmine transdermal patch. *J Allergy (Cairo)* 2011; 2011: 752098.

Conservanti in cosmetica: una finestra sulla bufera

Luigi Rigano¹ e Nicola Lionetti²

Riassunto. La conservazione antimicrobica dei prodotti cosmetici è un problema complesso. L'elenco europeo dei conservanti approvati per l'impiego cosmetico comprende molte molecole che presentano effetti indesiderati, in termini di sensibilizzazione cutanea e tossicità sistemica. Si discutono le radici storiche relative alla crescente preoccupazione per la sicurezza dei conservanti in cosmetica e le novità in questo ambito, con i limiti d'uso dei parabeni e le concentrazioni aggiornate secondo quanto proposto dal Comitato di consulenza scientifica dell'Unione Europea. Sono inoltre presentate le nuove tecniche ad ostacoli multipli per la conservazione dei prodotti cosmetici.

Parole chiave: conservanti, parabeni, antibatterici, efficacia, sicurezza, reazioni avverse, leggi in cosmetica.

Summary. *Preservants in cosmetics: a window over turmoil.* Antimicrobial preservation of cosmetics is a multifaceted issue. The list of European Union (EU) allowed preservatives for cosmetics includes many molecules with known side effects in terms of skin irritation and sensitization. The historical background about safety concerns of preservatives, and the latest news, with the updated concentration and use limits of parabens, as proposed by the scientific advisors of the EU are published here. The new hurdle technology techniques for preserving cosmetics are presented and discussed.

Key words: preservatives, parabens, antimicrobial ingredients, efficacy, safety, side effects, cosmetic norms.

Introduzione

La preservazione antibatterica dei cosmetici è un problema multifattoriale. Se è vero che il biocida deve conferire al prodotto la capacità di resistere alle sfide batteriche cui è soggetto, le sostanze usate devono essere anche sicure, stabili, compatibili con il prodotto e la confezione, economiche, disponibili e facili da usare in produzione. Oltre alla stabilità nel contenitore del prodotto e alla compatibilità con la capsula di chiusura e con l'eventuale pescante, si devono anche considerare le prevedibili condizioni d'uso da parte del consumatore, incluse quelle errate¹.

Due ragioni principali regolano l'uso dei conservanti in cosmetica. La prima è che i cosmetici solo raramente sono commercializzati in confezioni mono-uso. Pertanto, sono esposti all'azione inquinante dell'ambiente e di chi li consuma, a volte con trasferimenti multipli di materiali inquinanti, dal prodotto alla pelle

e dalla pelle al prodotto. La seconda è che i cosmetici sono raramente sterili e, per di più, si applicano su una cute normale, che certo non è sterile².

Essi, comunque, devono essere sicuri all'uso, specie dal punto di vista microbiologico: si possono allora definire come prodotti a carica batterica controllata, in cui è generalmente ammesso un certo livello microbico, purché siano assenti specie patogene come *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*.

Il livello d'inquinamento ammesso è generalmente inferiore a 100 unità formanti colonie per grammo di prodotto (ufc/g). Questo limite numerico è raccomandato per i prodotti per bambini sotto i 3 anni, mentre per tutti i restanti consumatori sono considerate addirittura accettabili 1.000 ufc/g.

In realtà, l'industria è generalmente cauta e raramente si accontenta di questi livelli microbici, che potrebbero sfuggire di mano

¹ISPE Srl Milano; ²Rigano Consulting & Development, Milano.
Dr. Luigi Rigano, ISPE Srl, via Bruschetti 1, 20125 Milano (e-mail: rigano@ilcosmetologo.com).
Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.
Accettato per la pubblicazione il 28 dicembre 2011.

e crescere in modo incontrollato. Anche le specie non patogene infatti sono considerate preoccupanti, per la possibilità che i prodotti assumano odore sgradevole, determinino disturbi sensoriali e favoriscano la formazione di tossine batteriche. Gli strumenti d'intervento sul corretto mantenimento del livello batterico adeguato [che tuttavia, dopo circa 35 anni dalla prima emanazione della legge dell'Unione Europea (UE), non è stato mai numericamente specificato nelle norme] e sull'assenza di specie microbiche patogene sono di comune dominio tecnologico: adeguata selezione e specifiche microbiologiche stringenti delle materie prime, riduzione delle sostanze nutrienti in formula, accorgimenti produttivi adeguati secondo norme di buona pratica di fabbricazione³, sistema di qualità aziendale strettamente controllato, ingredienti della formula ostili alla proliferazione batterica. Sono pure previste prove predittive sul comportamento delle formule in caso di contaminazioni microbiche pesanti (challenge test), così come confezioni adatte a ridurre l'impatto delle mani con la flora batterica ambientale e cutanea⁴ (per evitare la cosiddetta "hands-in-pot" sindrome). Strategie che non sono tuttavia sufficienti ad assicurare le garanzie microbiologiche richieste.

La maggior parte dei cosmetici contiene potenziali nutrienti per le specie microbiche: dosi massicce di acqua, vitamine, sali, materiali di natura proteica e sufficiente quantità di ossigeno, dovuta all'aria non completamente eliminata dai prodotti. All'interfaccia poi, avvengono scambi di sostanze dalla superficie del prodotto e condensazioni di umidità sulle pareti, che potenzialmente sono molto pericolose per la stabilità microbiologica dell'insieme. Per tutte queste ragioni è uso comune ricorrere a un'azione di sostegno, fino ad oggi operata dalla categoria di ingredienti chiamati antibatterici o conservanti o preservanti.

Antibatterici e cosmetici

Le sostanze antibatteriche sono tra i pochi ingredienti dei cosmetici con livelli di tossicità non trascurabile e ben nota. Certo, i loro dosaggi sono cauti, oltre che essere stabiliti da norme di legge⁵. Esiste ed è continuamente aggiornata una lista "positiva"² di antibatterici permessi nei prodotti cosmetici circolanti nel-

la UE (ad oggi, 58) e la loro massima quantità d'impiego nelle formulazioni. La scelta del formulatore all'interno di questo elenco è guidata da: a) spettro d'azione contro Gram-positivi, Gram-negativi, lieviti e muffe; b) dose d'impiego, che deve essere minima per ragioni di tollerabilità, ma "giusta" per ragioni di efficienza preservante; c) solubilità nel veicolo ma anche quantità di fase acquosa; d) sinergie tra conservanti diversi (è nota l'azione di sostegno reciproco tra diversi conservanti, che ne spiega la presenza contemporanea in molte formule cosmetiche); e) condizioni di acidità della formula e loro stabilità (sia prevedibile che verificabile analiticamente). Bisogna poi tenere conto delle caratteristiche degli altri ingredienti in formula, che possono formare complessi stabili e quindi inibire l'azione antimicrobica, come si verifica, ad esempio, tra emulsionanti etossilati e parabeni. In un mercato cosmetico globale come quello attuale, la soddisfazione di norme esistenti nei paesi extra-UE è poi un criterio di selezione addizionale. Pertanto, tutti i cosmetici a rischio d'inquinamento microbico contengono antibatterici.

Malgrado tutte le precauzioni d'impiego messe in atto dai formulatori preparati, i conservanti continuano a essere presenti da molti anni nella letteratura dermatologica e tossicologica mondiale per le loro reazioni avverse⁶. Le ragioni di questa "cattiva stampa" sono insite in due elementi principali.

Per primo, nelle stesse motivazioni d'impiego. Da un lato, si tratta di molecole di piccole dimensioni, con strutture di media polarità, dotate di reattività chimica medio/alta. Possono pertanto interagire con altre molecole del veicolo (ad esempio, con reazioni di trans-esterificazione o addizione) o con la sola acqua (idrolisi dei parabeni ad acido para-ossibenzoico). Spesso sono anfifiliche, quindi veicolabili facilmente attraverso l'epidermide, magari con l'aiuto del veicolo stesso. Inoltre, l'azione sulle proteine delle membrane cellulari batteriche, suggerisce anche altri tipi di attività indesiderabili sulle strutture biologiche e sulla fisiologia del corpo umano.

La seconda ragione è che la loro denominazione chimica è appunto "chimica", superficialmente equivalente a "sintetica", "artificiale", quindi capace di creare ansia nel consumatore medio, mediamente chemofobico

e molto preoccupato circa le sostanze che arrivano sulla sua pelle, di cui non gli sia stata resa nota una qualsiasi motivazione “benefica”. La frequenza con cui i conservanti compaiono nell’etichetta degli ingredienti delle formule cosmetiche implica razionalmente, nel consumatore medio, accumulo di ingredienti tossici nell’organismo che, di conseguenza, induce a indagini scettiche sugli ingredienti “strani” e risolve alla ricerca, per quanto complessa, di alternative “sicure” o, peggio, definite arbitrariamente “naturali”.

Oltre ai parabeni, di cui trattiamo più avanti, la letteratura dermatologica esamina frequentemente le reazioni allergiche indotte dai cosiddetti liberatori di formaldeide, oppure i casi provocati da antibatterici cationici. Quella tossicologica accumula informazioni preoccupanti su clorofenoli-derivati o ancora su parabeni. Di questi ultimi sono descritti anche i rischi sulla riproduzione e i loro possibili effetti estrogenici.

Sistema conservante ottimale

La ricerca del sistema conservante ottimale, messa in atto da chi progetta le formulazioni, può essere carente. Spesso, infatti, è usato il criterio dello chassis: se un sistema conservante è funzionale in una formula, lo si trasferisce tal quale in un’altra⁷. La successiva verifica di efficacia mediante challenge test è di solito seguita da due possibilità: se il sistema non funziona, si modifica la concentrazione o la composizione dello stesso, a seconda delle specie microbiche sopravvissute. Ma se funziona, non si esegue quasi mai (per ragioni di tempo e di costi) una verifica in serie per minimizzarne la concentrazione d’impiego. Scarsa attenzione, infine, è stata per ora prestata da molti formulatori alle verifiche di passaggio trans-dermico.

Di fatto, ogni formula è diversa e ha un diverso potenziale di rilascio dei propri conservanti alla pelle. E’ questo fattore, oltre naturalmente alla concentrazione degli antimicrobici, a determinare il rischio allergenico. In effetti, molti individui sensibilizzati ai parabeni dopo uso di farmaci topici su barriera cutanea non integra, non presentano reazioni quando utilizzano prodotti cosmetici che li contengono, semplicemente perché questi non li veicolano in profondità.

Parabeni

I parabeni sono i conservanti più usati nei cosmetici di tutto il mondo (tabella I), ora sotto l’ondata di una marea di rigetto, che non è poi così recente. Infatti, iniziò quasi contemporaneamente alla diffusione dei preservanti in cosmetica resa necessaria per risolvere vari problemi. Circa 50 anni fa furono riscontrati gravi danni oculari dovuti all’uso di un mascara inquinato da *Pseudomonas*. Inoltre allora si videro tubi di dentifricio gonfiarsi ed esplodere il loro contenuto, in primavera, per eccessivo sviluppo batterico. Furono, così, adottati i conservanti noti a quel tempo, mutuati spesso dal settore dei farmaci topici. Iniziarono allora le prime dermatiti irritanti, di numerosità non sempre proporzionale alla frequenza d’impiego, ma numericamente elevate. Per questo, i conservanti più usati furono subito nell’occhio del ciclone: i parabeni.

Una categoria speciale di esteri alchilici dell’acido *para*-ossibenzoico, che parte dall’omologo più corto (l’estere metilico) fino al più complesso (il benzilico) e ai ramificati (l’isopropilico e il tert-butilico). Da usare insieme, in gruppo, per ottenere il massimo degli effetti antibatterici. I parabeni sono relativamente poco costosi, inodori, ritenuti sicuri (LD₅₀ topo 50 > 8g/kg, NOAEL 96 settimane > 1,2g/kg), a basso potenziale di sensibilizzazione (Indice di sensibilizzazione: 0,3%, anche se successivamente attestatosi attorno all’1%).

Tabella I - Frequenza d’uso in percentuale (arrotondata) dei principali conservanti in USA nel 2007 e nel 2010^{9,10}. Numero di formule considerate: 27.770 e 36.810, rispettivamente. Non ci sono ragioni per ritenere che i valori europei d’impiego siano molto diversi.

| Conservanti | 2007 | 2010 |
|--|------|------|
| Metilparabene | 42% | 36% |
| Propilparabene | 34% | 28% |
| Fenossietanolo | 18% | 24% |
| Butilparabene | 16% | 14% |
| Etilparabene | 14% | 13% |
| Imidazolidinil urea | 8% | 5% |
| Isobutilparabene | 6% | 7% |
| DMDM idantoina | 6% | 6% |
| Metilisotiazolinone/ Metileloroisotiazolinone | 5% | 6% |
| Diazolidinil urea | 5% | 5% |
| Acido sorbico/sorbati | 5% | 3% |
| Acido benzoico/benzoati | 4% | 3% |
| Alcol benzilico | 4% | 5% |
| Acido deidroacetico e sali | 3% | 3% |
| Caprilil glicole | 2% | 5% |

Presto tuttavia si rivelarono insufficienti come effetto scudo. Infatti nelle emulsioni, sono facilmente inattivati dalle sostanze emulsionanti. Inoltre, in acqua si idrolizzano lentamente ad acido para-ossibenzoico, perdendo di attività tanto più rapidamente quanto più diverso dalla neutralità è il pH delle soluzioni. Essi, per di più, sono efficaci solo a pH acido.

I parabeni, comunque, se associati con preservanti liberatori di formaldeide, funzionavano bene, anche se crebbe l'ondata delle reazioni allergiche da esse indotte. Offuscate dal famoso paradosso: chi era allergico ai parabeni, spesso non elicitava reazioni all'applicazione di un cosmetico che li conteneva. Come mai? Si scoprì che, spesso, l'allergia era stata indotta dall'uso di un farmaco topico su cute non integra, che aveva permesso il passaggio trans-dermico dei parabeni e l'innescò della reazione allergica⁸. Nei casi di barriera cutanea normale, infatti, non si aveva trasporto e la reazione ai cosmetici non si elicitava nei soggetti sensibilizzati. Forte sospiro di sollievo per i parabeni, anche se già esistevano linee cosmetiche che avevano intrapreso la nota strada, oggi assai frequentata, del "non li contengo", vantando quindi elevata tollerabilità a causa di quello che non vi era immesso.

Per un po' di anni, le attenzioni si concentrarono su altri oggetti di rischio: l'esaclorofene prima, la miscela di metil-isotiazolinone con metil-cloro-isotiazolinone poi. Il primo fu decisamente eliminato dalla lista dei conservanti ammessi, dopo un incidente mortale dovuto a eccesso di concentrazione, per un errore produttivo, in un talco per bambini. Il secondo fu ridimensionato nella sua frequenza d'impiego dopo il fiorire di reazioni allergiche. Era un conservante talmente economico che veniva usato anche per molti prodotti industriali (ad esempio, pitture) aumentando enormemente la frequenza dei possibili contatti cutanei. Poi, man mano, è stato tutto un fiorire in letteratura di intolleranze, di pesci ermafroditi, di malformazioni possibili, in cui sono stati compresi anche i parabeni. Tutto ciò è stato aggravato dall'ondata verde ed ecologica che ha portato alla demonizzazione di quasi tutti i conservanti ammessi, salvo quelli praticamente inefficaci.

Per i parabeni, i guai più recenti sono cominciati con il ritrovamento di tracce nei tessuti umani, unitamente ad alcuni studi che ne riportavano l'attività estrogenica.

Moltissime aziende hanno cominciato a eliminarli dalle formulazioni, mentre la comunità scientifica cercava di capire qualcosa in più su questi fenomeni. La stampa nel frattempo non esitava a chiamarli cancerogeni, anche se lo studio più recente del Comitato Scientifico della Sicurezza del Consumatore della UE (SCCS) ha stabilito che non esiste alcun nesso dimostrato tra cancro della mammella e uso di cosmetici contenenti parabeni. Ha tuttavia rilevato che tutti i parabeni, eccetto l'estere metilico, hanno una qualche attività estrogenica. Pertanto, rimane sicuro l'impiego alla dose dello 0,4% (espresso in acido para-ossi-benzoico) per i para-ossi-benzoati di metile e di etile. Mentre per gli esteri propilici e butilici, SCCS consiglia di fissare un limite massimo di 0,19%, sempre espresso come acido para-ossi-benzoico. Le leggi americane permettono l'uso dello 0,4% di ogni parabene (espresso come acido para-ossi-benzoico), fino a un totale massimo dello 0,8% per la miscela di più parabeni, senza alcun dubbio sulla loro sicurezza d'impiego.

Nel frattempo, data la diffusione dei parabeni, ancora usati in molti prodotti cosmetici (tabella I), si sono studiati i loro meccanismi di passaggio trans-dermico. I parabeni sono molecole anfifiliche, dotate di un gruppo fenolico polare, idrofilo e debolmente acido, la cui aggressività è mitigata, in posizione "para", da un gruppo carbossilico esterificato con un gruppo alchilico. Al variare della lunghezza del gruppo alchilico, cambia il coefficiente di ripartizione tra acqua e ottanolo, ossia i parabeni diventano sempre più lipofili all'aumentare della lunghezza del gruppo alchilico e più attivi contro i funghi. Sono invece deboli contro i Gram-negativi.

Proprio la ripartizione strutturale tra fasi acquose e fasi oleose fa sì che i parabeni, una volta inattivati o idrolizzati nella fase acquosa, attingano alla quantità sciolta nella fase oleosa delle emulsioni per ripristinare l'equilibrio di concentrazioni. La polarità varia di circa 2 ordini di grandezza passando dal parabene più idrofilo (estere metilico) a quelli più lipofili (estere butilico).

In genere, i parabeni a più basso peso molecolare (metilparabene) penetrano con più facilità e in maggiore profondità di quelli ad alto ingombro molecolare, che rimangono trattenuti dai lipidi di superficie.

Riduzione del contenuto di antibatterici

Come è noto¹¹ gli antibatterici (biocidi) erano stati studiati in origine per l'industria manifatturiera (carta, vernici, disinfezione industriale), non certo per la pelle. La loro riduzione nelle formule dei cosmetici è divenuta oggi un passo necessario, con l'adozione di tutte le possibili strategie protettive. Le paure dei consumatori, legate alla fobia per certe categorie di conservanti, insieme al crescente numero di reazioni avverse ad alcuni di essi, diminuendo il piacere legato all'uso dei cosmetici, hanno stimolato la ricerca di soluzioni alternative, dotate di minori effetti secondari potenziali e meno preoccupanti per consumatori e dermatologi. Tra questi, alcuni glicoli (butilenico, pentilenico, caprilico) e vari altri derivati caprilici (sorbitan caprilato). Evidentemente la catena caprilica (otto atomi di carbonio) è mal tollerata dai batteri (che sia questa la ragione biologica della sua presenza nelle secrezioni di alcuni mammiferi?). Anche l'etilesil etere della glicerina ha struttura analoga in quanto la catena etilesilica è sempre di 8 atomi di carbonio, anche se ramificata.

Pure l'acido capril-idrossammico, un ottimo chelante del ferro, è in grado di inibire la crescita di *Aspergillus niger*, di cui il ferro è un nutriente chiave. Anche l'ubiquitario acido etilendiaminotetracetico, oggi sotto accusa per la sua persistenza nell'ambiente¹², è un forte chelante del ferro e la sua azione di supporto agli antibatterici tradizionali è ben nota. Un modo diverso d'azione si riscontra con altre molecole anfifiliche, come il gliceril monolaurato, per la sua asimmetria, è in grado di destrutturare la membrana cellulare di alcuni batteri¹³. Naturalmente, i cosmetici conservati in modo "alternativo" devono sempre garantire la sicurezza microbiologica del prodotto per il consumatore^{14,15}.

Nuove strategie: conservanti "alternativi" o "hurdle technology"?

Nelle formulazioni recenti di cosmetici si è adottata la strategia di creare "ostacoli" per lo sviluppo batterico (tabella II), oppure di permettere l'uso dei cosiddetti antibatterici alternativi. Questi ultimi sono sostanze che non sono elencate nella lista europea delle

sostanze antibatteriche ammesse (una delle poche liste positive della legge cosmetica, insieme a quelle dei filtri solari e dei coloranti) ma dotate, a concentrazioni circa 10-50 volte superiori a quelle degli antibatterici "ufficiali", della capacità d'inibizione della crescita. Qual è la situazione attuale? Da un lato, si assiste alla diffusione di queste molecole alternative (usate nel campo della profumeria, o come umettanti o come estratti vegetali) con effetti conservanti. Sistemi che a concentrazioni non basse (circa 1% o più) inibiscono la crescita batterica e micetica. La loro assenza nella lista ufficiale della legge cosmetica permette, così, l'etichetta con la fatidica dicitura "non contiene conservanti". Sottinteso: quelli elencati nella legge cosmetica UE. Il più noto rimane l'alcol etilico, il cui contenuto, se superiore al 15-16% del contenuto d'acqua (ossia mediamente tra il 9% e 13% in formule di emulsioni olio in acqua) sarebbe sufficiente, nella maggior parte dei casi, a inibire totalmente la crescita batterica¹⁶. Tuttavia, a questa concentrazione i vapori di alcol possono essere poco graditi. Si preferisce allora usarlo alla concentrazione del 5% circa e aiutarne l'effetto con altri mezzi.

Si parla allora di "hurdle technology", ossia della costruzione di una serie di ostacoli multipli all'inquinamento batterico, che devono essere appositamente studiati per ciascun microrganismo¹⁷. Ad esempio, con confezioni che impediscano l'ingresso dell'aria sulla superficie o nel contenitore dei prodotti oppure riducendo, con determinati soluti e gelificanti, l'attività dell'acqua (Ovw), e in particolare della frazione sua di acqua totale che è "libera" di muoversi, in quanto non legata o coordinata

Tabella II - *Ingredienti formulativi che influenzano il sistema preservante dei cosmetici*²².

Natura chimica dei preservanti

Acidi, alcali
 Alcoli (etilico, isopropilico, benzilico)
 Tensioattivi cationici (cetilpiridinio cloruro)
 Tensioattivi anionici (saponi, sodio lauril solfato)
 Esteri (gliceril monolaurato)
 Umektanti (glicerina, glicole propilenico, sorbitolo)
 Soluti vari (destrine, zuccheri, sali)
 Antiossidanti fenolici (butil-idrossianisolo, butil-idrossitoluene)
 Glicoli (propilenico, butilenico)
 Coloranti
 Profumi
 Combinazioni di tutti questi elementi

da idrotropi, polimeri idrofili o sali. Questa frazione è l'unica disponibile a favorire la crescita batterica, e la sua riduzione è un mezzo potente d'inibizione microbica. Di solito i batteri cessano di crescere quando la aw è inferiore a 0,90; per lieviti e muffe il limite è più basso e, per i più resistenti, non deve essere superiore a 0,60¹⁸.

Il mondo vegetale è esplorato per fornire sistemi preservanti "alternativi": estratti di *Lonicera caprifolium* e *Lonicera japonica*, associati ad acido levulinico o ad acido p-anisico (due ingredienti della profumeria) o a gliceril caprilato, in presenza di poco (5%) alcool, danno sistemi preservanti abbastanza stabili^{19,20}, in grado di passare il challenge test con il criterio A. Anche estratti di corteccia di pino dimostrano questa capacità. A volte estratti di piante potenzialmente antimicrobiche falliscono nei risultati pratici, semplicemente perché nel processo di estrazione vengono eliminate sostanze accompagnanti che agiscono come partner sinergici²¹.

Il futuro

Anche i conservanti alternativi, abbastanza prevedibilmente, cominciano a far parlare di sé nella letteratura dermatologica. L'etilesilglicerina, presente in emulsioni cosmetiche, ha già iniziato, provocando dermatiti allergiche da contatto^{23,24}.

Che fare allora? I sistemi di rilascio progressivo di conservanti dal contenitore non sono ancora stati perfezionati, i campi magnetici non sono un modo pratico d'intervento sui flaconi di latti e creme, gli enzimi ossidanti si consumano presto in formule ricche di sostanze riducenti, come la maggioranza dei cosmetici. L'unica speranza per una conservazione alternativa, efficiente ma a ridotta tossicità, sembra arrivare dalle confezioni, sempre più impermeabili all'ingresso batterico, o dal mondo vegetale, ancora così ricco di sorprese.

Bibliografia

1. Branna DK. Cosmetic preservation. *Cosm Toil* 1996; 111: 69.
2. Hoffman D, Chen M, Smiltneek A, et al. Infant skin microbiology and its relation to skin health. *Cosm Toil* 2008; 123: 45.
3. Minguet M, Barcelona R, Casas E, et al. Ethyl lauroyl arginate HCl for natural preservation. *Cosm Toil* 2011; 126: 876.
4. George M. Human skin and ocular flora: the effect of product formulation. *Cosm Toil* 2011; 126: 860.
5. European Commission. Council Directive 76/768/EEC 27.7.1976 on the approximation of the laws of member states relating to cosmetic products (consolidated version 2007).
6. Angelini G, Vena GA. Dermatite da contatto da cosmetici. In: Angelini G, Vena GA (ed). *Dermatologia professionale e ambientale*. Brescia: ISED, 1999; 686.
7. Lundov MD, Moesb L, Zachariae C, et al. Contamination versus preservation of cosmetics: a review of legislation, usage, infections and contact allergy. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 70.
8. Giusti F, Neri F, Miglietta R, et al. I conservanti dei prodotti topici come causa di dermatite allergica da contatto. *G Ital Dermatol Venereol* 2002; 137: 117.
9. Steinberg DC. Voluntary registration of cosmetics and frequency of preservatives use. *Cosm Toil* 2008; 123: 47.
10. Steinberg DC. Voluntary registration of cosmetics and frequency of preservatives use. *Cosm Toil* 2010; 125: 46.
11. Winn D. Alternative preservation: options and development. *Happi* 2010, 11; 63.
12. Steinberg DC. *Preservatives for cosmetics: 2nd edition*. Allured Publishing, Illinois, 2006.
13. Ibarra F, Johnson CH. Preservación natural a partir de conceptos de naturaleza. *Cosmet Toil* (ed Latino-America) 2009; 26.
14. Orth DS, Steinberg DC. The safety factor in preservative efficacy testing. *Cosm Toil* 2003; 118: 51.
15. Jungman E, Laugel C, Baillet-Guffroy A. Assessing the safety of parabens: percutaneous penetration and risk analysis. *Cosm Toil* 2011; 126: 816.
16. Pinon A, Alexandre V, Cupferman S, et al. Survival and inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains of various origin in the presence of ethanol. *IFSCC Magazine* 2007; 10: 111.
17. Ambrogi V. Prodotti cosmetici autopreservanti. *Kosmetica* 2011; 10: 32.
18. AFNOR Microbiological Guidelines. Document NF75-611, luglio 2007.
19. Pillai R, Schumaar G, Pfeifzer A, et al. Alkanediols for cosmetic preservation. *Cosm Toil* 2008; 123: 53.
20. Papageorgiou S, Varvaresou A, Tsirivas E, et al. New alternatives to cosmetic preservation. *Int J Cosmetic Sci* 2010; 32: 395.
21. Brennan M. Plant may hold key to ultimate antibiotic. *Chem Eng News* 2000; 78: 6.
22. Orth D. Microbiological considerations in cosmetic formula development and evaluation. *Cosm Toil* 1989; 104: 49.
23. Stausbøl-Grøn B, Andersen KE. Allergic contact dermatitis to ethylhexylglycerin in a cream. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 193.
24. Linsen G, Gossen A. Allergic contact dermatitis from ethylhexylglycerin. *Contact Dermatitis* 2002; 47: 169.

Allergie a metalli e manifestazioni cutanee

Paolo D. Pigatto¹ e Gianpaolo Guzzi²

Riassunto. L'incidenza e la prevalenza delle allergie ai metalli è aumentata a livello mondiale e, di conseguenza, le allergie cutanee ai metalli sono divenute molto diffuse. Colpiscono persone di ogni età ma sono più comuni nelle donne nella quarta/quinta decade di vita. Le manifestazioni cutanee extraimmunitarie dovute ai metalli potrebbero sovrapporsi a quelle immunitarie ai metalli, creando un'associazione tra le due condizioni. Questo articolo non prende in considerazione tutti gli allergeni metallici che possono essere in relazione con i disordini cutanei; l'attenzione è stata focalizzata sulle maggiori allergie ai metalli a livello cutaneo e muco-cutaneo (mercurio, oro, nichel, palladio, cobalto, cromo, rame, indio, arsenico, argento, titanio). Il trattamento principale delle allergie cutanee consiste nell'evitare gli allergeni metallici e nell'educazione del paziente. Per le patologie cutanee mercurio correlate, la rimozione in sicurezza delle otturazioni in amalgama dentale è un intervento obbligatorio, insieme con l'eliminazione dell'assunzione di pesce. Il trattamento con corticosteroidi non sembra indurre lo stesso grado di attenuazione di segni e sintomi indotti dai metalli rispetto agli antistaminici, e può portare a reazioni avverse.

Parole chiave: allergia ai metalli, patch test, test di trasformazione linfocitaria, prevenzione.

Summary. *Allergy to metals and skin diseases.* The incidence and the prevalence of allergy to metals is rising worldwide, implicating that skin allergy to metals is a very common disorder. It affects persons of all ages and is most common in women but our experience is that skin allergy to metals is significantly more frequent in the fourth and fifth decades. Skin manifestations due to metal overexposure may overlap skin allergy to metals, creating an association between two conditions. This article does not consider every metal allergen related to skin disorders, we focus on the major skin and muco-cutaneous allergy to metals in humans (mercury, gold, nickel, palladium, cobalt, chromium, copper, indium, arsenic, silver, titanium). The first-line treatment of skin allergy to metals combines metal allergen avoidance and education of the patient. For mercury-related skin diseases, safe dental amalgam removal is mandatory intervention, including avoidance of fish. Treatment with corticosteroids does not appear to have the same degree of attenuation of metal-induced signs and symptoms as antihistamines and may lead to adverse health events.

Key words: allergy to metals, patch test, lymphocyte transformation test, prevention.

Introduzione

I metalli sono elementi chimici ben noti, capaci di indurre manifestazioni mucose e/o cutanee nell'uomo. La prevalenza di sensibilizzazione ai metalli è elevata nella popolazione: si attesta a circa il 10-15% per nichel¹ e mercurio², e a circa il 3% per cromo e cobalto¹. Recentemente, test immunitari *in vitro* hanno permesso di stabilire che la sensibilizzazione al titanio è in rapida crescita, con una frequenza del 4% nella popolazione generale³.

Gli esseri umani sono sempre stati esposti a metalli presenti nell'ambiente; tuttavia, durante il secolo scorso, sono aumentati considerevolmente l'esposizione e il contatto con i metalli in conseguenza dell'alto grado di industrializzazione in molti paesi⁴. Pertanto, si è assistito ad un apprezzabile aumento delle allergie ai metalli, che possono colpire individui di ogni età, ma con un picco per gli adulti di mezza età e predilezione per il sesso femminile⁵. A fronte di questo, l'allergia ai metalli rimane ad oggi un disordine misconosciuto,

¹Clinica dermatologica, Dipartimento di Bioscienze per la salute, Ospedale Galeazzi, Università di Milano, Milano;

²Associazione Italiana Ricerca Metalli e Biocompatibilità (A.I.R.M.E.B.), Milano.

Prof. Paolo D. Pigatto, Clinica dermatologica, Dipartimento di Tecnologia della salute.

Ospedale Galeazzi, Università di Milano (e-mail: paolo.pigatto@unimi.it).

Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.

Accettato per la pubblicazione il 20 gennaio 2012.

misdiagnosticato e, il più delle volte, trattato in modo inappropriato.

Obiettivi della rassegna

Sulla base delle esperienze cliniche e di laboratorio, e di una revisione parziale della letteratura medica internazionale nell'ambito dell'allergologia e della tossicologica da esposizione dell'organismo umano ai metalli, vogliamo esporre un quadro aggiornato delle conoscenze scientifiche e personali al riguardo.

Il test epicutaneo rimane ancora un mezzo di prima linea per investigare una possibile allergia a metalli, sia di carattere generale sia di tipo odontoiatrico, ad eccezione del titanio. Un promettente test *in vitro* per stabilire una possibile sensibilizzazione immunitaria a metalli è il LTT-MELISA® test (test di trasformazione linfocitaria) che è complementare al test epicutaneo per gli allergeni metallici^{3,6}. Il sovraccarico di metalli nell'organismo umano è identificabile attraverso la determinazione dei metalli nelle varie matrici biologiche (ad esempio: sangue, urine, capelli e saliva)^{7,8}.

Mercurio

Molte manifestazioni cutanee sono state associate all'esposizione a mercurio, quali dermatografismo⁷, dermatite nummulare⁹, dermatite da contatto sistemica⁹, eritema multiforme¹⁰, reazioni autoimmuni¹¹, sindrome del babbuino^{12,13}, iperpigmentazione cutanea⁸, acrodinia (pink disease)⁷ e prurito¹⁴.

La sensazione di prurito cutaneo è abbastanza frequente in individui con esposizioni acute o croniche a mercurio. Il mercurio può causare due tipologie di prurito: il prurito neurogenico ed il prurito neuropatico. Sono entrambi di origine primariamente centrale. Il prurito neurogenico è osservato nelle prime fasi dell'esposizione a mercurio, solitamente quando le quantità di mercurio non sono ancora eccessivamente neurotossiche, in assenza di una vera patologia neurale. Il prurito neuropatico, invece, si instaura in presenza di alterazioni patologiche dei nervi e in qualsiasi area dell'organismo. La sensazione di prurito neuropatico da mercurio è simile a quella

percepita nella neuropatia post-herpes zoster.

Le patologie delle mucose orali associate a esposizione da mercurio rilasciato continuamente dalle otturazioni in amalgama dentale sono: granulomatosi oro-facciale¹⁵, cheilite angolare¹⁶, cheilite esfoliativa¹⁷, ulcere aftose ricorrenti¹⁸, stomatite lichenoidale da contatto (figura 1a e 1b)^{19,20}, lichen planus orale¹⁹⁻²¹, leucoplachia orale²⁰, cancro orale^{22,23}, glossite migrante²⁴, cheilite²⁵, iperpigmentazione della mucosa orale¹⁴ e tatuaggio da amalgama delle mucose orali²⁶.

Dal punto di vista genetico, i soggetti con un HLA di classe II HLADR*4 e con il genotipo che predispone alla celiachia²⁷ sembrano essere più suscettibili agli effetti dell'esposizione a mercurio.

Oro

Loro ha raggiunto nell'arco di due decenni i primi posti tra gli allergeni con alta frequenza di reazione positiva al patch test. Tra le fonti di esposizione all'oro nella popolazione generale ricordiamo: monili in lega aurea, restauri dentali, terapia con oro e alcuni suoi sali (per esempio, terapia dell'artrite reumatoide e del lupus discoide), e utilizzo per decorazione alimentare (alta gastronomia). Molti alimenti contengono minima quantità del prezioso metallo.

Il contatto con l'oro può portare a due caratteristiche manifestazioni cutanee: la dermatite disidrosiforme delle dita delle mani e una dermatite ezematosa che colpisce il viso (in particolare le aree palpebrali), le orecchie e gli arti (figura 2a, 2b e 2c)²⁸. È importante sottolineare che le dermatiti associate all'esposizione all'oro possono essere anche espressione di una reazione tossica al metallo e pertanto non necessariamente di una reazione allergica. Le stomatiti invece causate dall'oro sono molto più frequentemente su base immuno-allergica (figura 1c e 1d).

La letteratura medica internazionale ha riportato anche stomatiti croniche, gengiviti e lesioni orali di tipo lichenoidale, così come lichen planus orale²⁹⁻³². Sono inoltre stati riportati casi isolati di granulomatosi oro-facciale associati a sensibilizzazione all'oro¹⁵.

Le donne mostrano una maggior prevalenza di allergia all'oro rispetto agli uomini. In Italia, l'allergia all'oro è significativamente



Figura 1 - Paziente di 20 anni con lesioni lichenoidi della mucosa geniena di destra (a) causata dalla presenza di otturazioni in amalgama dentale di mercurio su 4 primi molari (otturazioni di I classe). Dopo la rimozione degli amalgami di mercurio il paziente ha conseguito una risoluzione totale dei segni clinici delle lesioni lichenoidi nel cavo orale entro 6 mesi dalla rimozione senza alcun trattamento farmacologico topico o sistemico. (b) Periodo di follow-up: 10 anni. Soggetto adulto di 56 anni, maschio, con piccole lesioni leucocheratosiche del palato (c) associate a restauri in lega aurea e patch test positivo a oro (+++) e nichel (+). Le lesioni bianche hanno avuto un notevole miglioramento (d), alcune sono scomparse, dopo la rimozione delle corone auree. Follow-up di 4 anni.

associata alla sindrome della bocca urente e alla sindrome delle labbra urenti³³.

Nichel

La dermatite allergica da contatto causata dall'esposizione a nichel nella popolazione generale è ben nota. Le vie d'ingresso del metallo nell'organismo possono essere per inalazione, per assunzione con alimenti e bevande, ma soprattutto per contatto con oggetti in lega metallica (bigiotteria, monete, utensili per cucinare, cerniere lampo per vestiti, accessori per abbigliamento). Il tasso di assorbimento del nichel può arrivare a circa il 3,5% e varia a seconda del tipo di composto contenente nichel e delle condizioni della cute (sudorazione). Anche apparecchi in lega metallica per ortodonzia (fili metallici intra-orali al 50% di nichel in

associazione a titanio, bande metalliche, attacchi e fili per archi ortodontici)³⁴ possono contenere elevate concentrazioni di nichel; pertanto si verifica un consistente rilascio in saliva di nichel che poi raggiunge stomaco e intestino. L'aumentata ingestione di nichel rilasciato da leghe dentali potrebbe aumentare la possibilità di sensibilizzazione esterna da contatto per oggetti contenenti nichel.

In letteratura è riportato che i trattamenti ortodontici possono determinare due condizioni opposte: in alcuni casi sono in grado di indurre una tolleranza, prevenendo così l'allergia a nichel; in altri casi possono scatenare reazione allergica a nichel³⁵⁻³⁷. Questo fenomeno accade anche in alcuni soggetti particolarmente suscettibili al metallo, con un'accresciuta ingestione di alimenti ricchi di nichel⁸.

Tra i disordini cutanei e mucosi associati

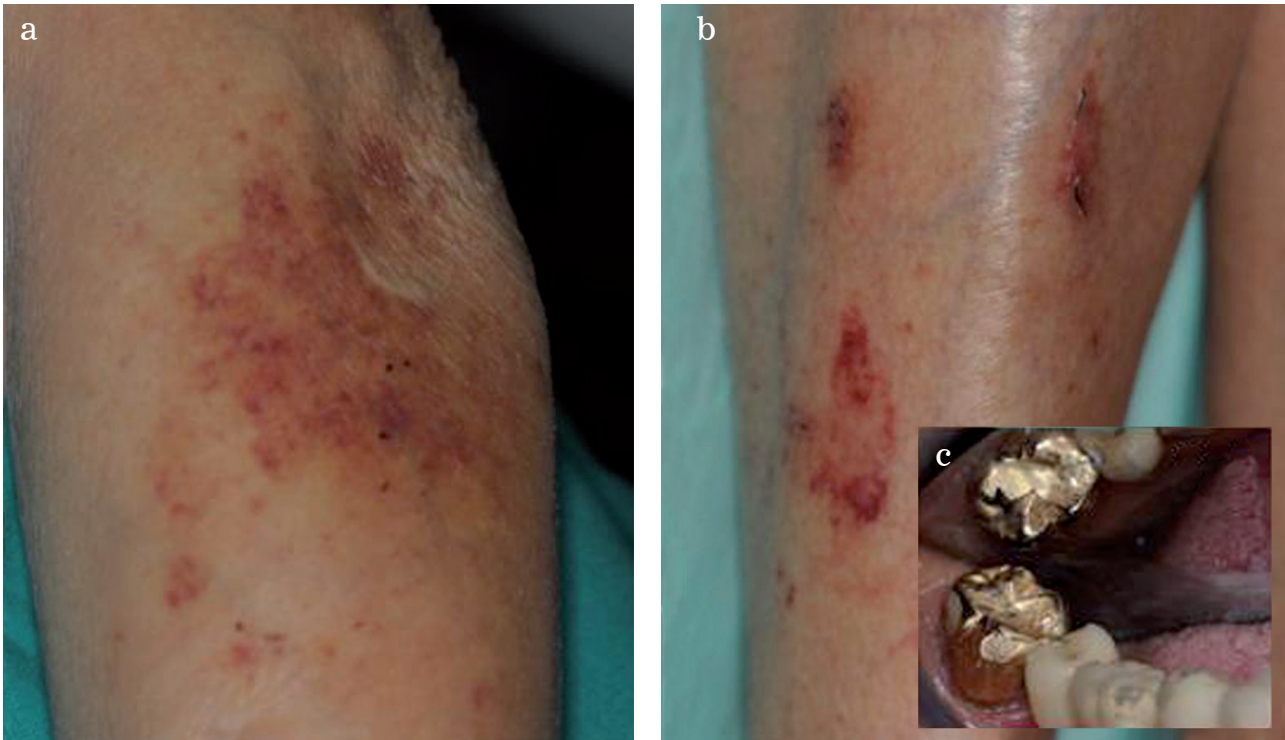


Figura 2 - Manifestazioni cutanee con lesione franca eczematosa del gomito (a) e lesioni ecchimotiche con estravasi sulla gamba (b), molto pruriginose subito dopo applicazione di leghe metalliche nell'arcata mandibolare (c) in una donna di 74 anni. Patch test positivo per oro (+ +). Livelli di oro in saliva superiore ai limiti di riferimento (20,9 microgrammi per litro, limite 0,2 microgrammi per litro).

all'allergia a nichel ricordiamo i seguenti: dermatite da contatto, reazioni allergiche locali e sistemiche³⁵, eczema disidrosico (figura 3a, 3b e 3c), rash cutanei pruriginosi, eritema multiforme³⁸, ritardata fase di riparazione delle ferite, dolore locale, reazioni sarcoidosiche cutanee³⁹, tra quelli cutanei; stomatiti¹⁸, malattia parodontale⁴⁰, lesioni lichenoidi orali⁴¹, cheiliti^{16,37}, ulcere orali¹⁸, cheilite esfoliativa³⁷, linfocitoma del labbro⁴², pemfigo del cavo orale⁴³, tra quelli mucosi.

Palladio

Metallo piuttosto raro ed elemento del gruppo del platino, il palladio è utilizzato in medicina e soprattutto in odontoiatria per il confezionamento di protesi dentali in lega aurea-palladiata. Tracce di palladio sono presenti anche nelle otturazioni in amalgama dentale (1%). Viene utilizzato anche in oreficeria per la produzione di gioielli. Nell'ultima decade, la concentrazione di palladio nell'aria delle città è aumentata a causa delle marmitte catalitiche a base di palladio e suoi co-generi (platino); pertanto per la popolazione generale c'è stato

un aumento dell'esposizione al metallo.

Reazioni allergiche al palladio possono portare a dermatiti di capo-collo, orecchie e mani⁴⁴, dermatiti sistemiche e reazioni granulomatose da contatto di tipo sarcoidosico. In particolare, la sensibilizzazione al palladio sembra colpire soprattutto le mucose del cavo orale^{44,45}; infatti, la frequenza di allergia al palladio è doppia nei pazienti affetti da stomatite allergica o sindrome della bocca urente⁴⁶ rispetto a soggetti che soffrono di disturbi cutanei^{44,45}.

Il rilascio di ioni palladio nel cavo orale dalle protesi palladiate, associato ad una reazione locale di sensibilizzazione allergica, può indurre reazioni infiammatorie come il lichen planus orale o la leucoplachia²⁰. Abbiamo notato una più lenta regressione delle patologie del cavo orale (in alcuni casi francamente non rispondenti) causate da allergia a palladio rispetto alle lesioni indotte da altri metalli^{45,46}.

Cobalto

Il cobalto è un importante allergene me-

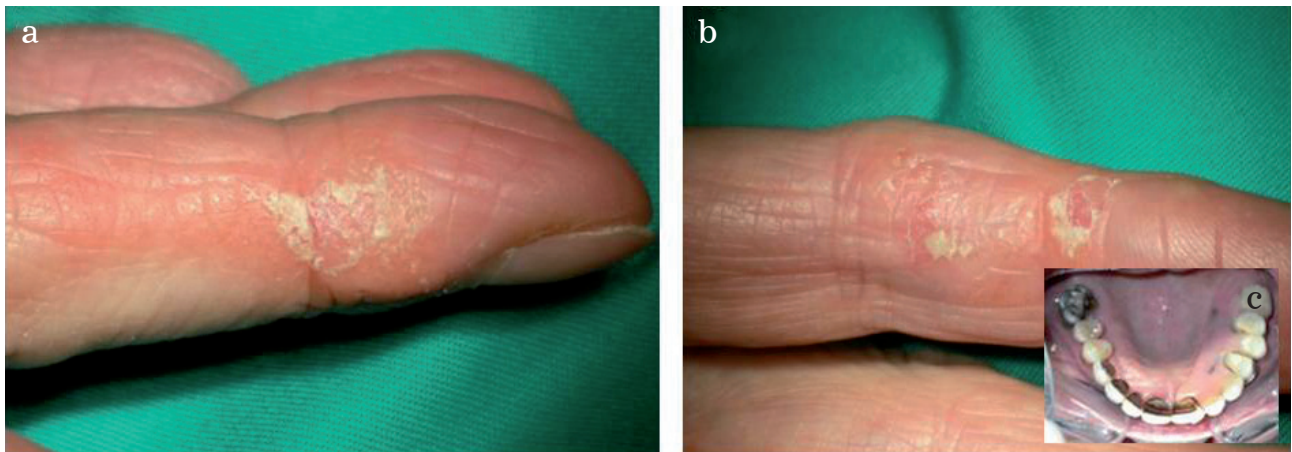


Figura 3 - Paziente di 76 anni con dermatite disidrosica alle mani (a, b), con storia recente di restauri protesici dentali in leghe metalliche a base di oro (c) e dente con otturazione in amalgama fratturata (dente 1.6) che ha sviluppato una sindrome della bocca urente. Paziente con patch test positivo nichel solfato (++) e potassio bicromato (+). La concentrazione di nichel in saliva è risultata superiore ai limiti di riferimento (10 microgrammi per litro, limite 7,9 microgrammi per litro).

tallico sensibilizzante della cute per contatto. Insieme a nichel e cromo è tra i più importanti agenti chimici sensibilizzanti per l'uomo e ha notevole rilevanza clinica nell'ambito allergologico. L'allergia a cobalto presente in leghe metalliche dentali è stata associata a pustolosi palmoplantare⁴⁷, dermatiti del collo e del volto. Il cobalto, come il cromo, può facilmente indurre sensibilizzazioni allergiche dovute al rilascio di ioni metallici dalle artroprotesi utilizzate in ortopedia⁶. Recentemente, è stata osservata un'aumentata frequenza di allergia da contatto al cobalto nei pazienti affetti da micosi fungoide¹⁶.

Cromo

Il cromo è un elemento molto abbondante sulla crosta terrestre. Lo stato di ossidazione del cromo che entra nei meccanismi biologici essenziali del nostro organismo è il cromo trivalente; mentre il cromo esavalente ha una forte importanza allergologica come anche tossicologica. Il cromo si trova nella plastica, nella rubinetteria, nell'acciaio.

Il contatto prolungato con il cromo è in grado di sensibilizzare il soggetto causando importanti dermatiti da contatto che sono indipendenti dall'entità dell'esposizione a cromo e/o di suoi composti (cromati). Noti disordini della pelle associati all'esposizione a cromo sono il comune eczema del polso indotto dall'uso degli orologi e l'eczema delle mani nei

muratori per l'utilizzo di cemento che contiene elevate quantità di cromo esavalente. Individui che hanno ricevuto una protesi d'anca in lega metallica contenente parti in cromo hanno mediamente elevati livelli di cromo sia nel sangue che nelle urine. L'aumentata concentrazione di cromo nei fluidi biologici di questi pazienti porta spesso a eruzioni cutanee eritematose e pruriginose, simili alla scabbia, prurito ed eruzioni francamente eczematose localizzati sulle aree di applicazione della protesi metallica⁶.

Alcune protesi metalliche dentali contengono alte percentuali di cromo. Il rilascio del metallo nella saliva avviene in forma ionica per processi di elettro-corrosione con altri metalli intra-oral, oppure per attrito durante la masticazione. In pazienti sensibilizzati al cromo sono state riportate le seguenti patologie orali: stomatiti lichenoidi, lichen planus orale, sindrome della bocca urente, cheiliti, glossodinia, glossite rombica mediana, afte ricorrenti, ulcere aftose di tipo "major" (peridontite mucosa necrotica), stomatiti⁴⁸. E' noto inoltre che i soggetti allergici a cromo, anche di basso grado, presentano spesso reazioni avverse all'amalgama di mercurio⁷, probabilmente per gli effetti nefrotossici del cromo a livello renale.

Rame

Il rame è un metallo essenziale per l'essere vivente e regola numerosissimi enzimi. Abbon-

dante nella crosta terrestre è presente in molti alimenti di consumo quotidiano.

L'alterato metabolismo del rame può causare ipopigmentazione dei capelli⁴⁹, riduzione dell'elasticità della cute (danneggiando la sintesi di collagene e cheratina), difficoltà nell'abbronzatura (riducendo la sintesi di melanina), iperpigmentazione della pelle (simile ad Addison)⁴⁹.

Discrete quantità di rame metallico sono presenti nei materiali da restauro odontoiatrici: sia nelle otturazioni in lega metallica (l'amalgama contiene circa il 3-5% di rame), sia nelle leghe a base di oro e palladio (in quantità variabile). Gli ioni metallici di rame sono stati associati a lesioni lichenoidi orali^{50,51}, fibrosi mucosa, ulcere orali, disgeusia (gusto metallico), ipercheratosi della mucosa linguale.

Indio

L'indio è un elemento chimico non essenziale per le funzioni degli organismi viventi ed è ricavato dalle miniere di zinco. La popolazione generale è esposta all'indio primariamente per l'uso di questo metallo nell'ambito odontoiatrico: l'indio, infatti, è frequentemente presente in leghe dentali, in percentuali che possono arrivare fino al 10%. Quantità più piccole sono presenti nell'amalgama dentale di mercurio (fino al 4%).

Data la citotossicità dell'indio sull'epitelio delle mucose orali (secondo in ordine di tossicità solamente al nichel)⁵² e data l'aumentata corrosione intra-orale che l'indio induce nelle leghe che lo contengono, esso non dovrebbe essere presente nelle leghe ad uso odontoiatrico. In letteratura, sono stati riportati casi clinici di sindrome della bocca urente, algie atipiche facciali⁵³, stomatiti e ulcere orali croniche.

Arsenico

L'arsenico è un metalloide della scala periodica degli elementi chimici di Mendeleev. L'esposizione sub-cronica ad arsenico inorganico attraverso acqua, bevande, cibo (pesce) ed erbe medicinali (cinesi o ayurvediche)^{54,55} può determinare manifestazioni cutanee varie, quali cheratosi palmo-plantari (cheratosi ar-

senicale), iperpigmentazioni cutanee, tumori cutanei maligni (carcinoma squamocellulare), morbo di Bowen, "black-foot disease" (causato da arsenicosi), herpes simplex ricorrente, herpes zoster e alopecia^{54,55}. Tra le patologie muco-cutanee, si annovera la stomatite.

La carenza di proteine animali, il diminuito apporto di calcio, folati e fibre vegetali aumentano la suscettibilità dell'organismo alle lesioni cutanee indotte dall'esposizione ad arsenico inorganico.

Argento

Metallo nobile e spesso associato a oro e rame, in caso di esposizione acuta o cronica l'argento si trova distribuito in cute, gengive, cornea e reni: la condizione clinica prende il nome di argiria. Questa può essere localizzata (con coinvolgimento di piccole aree cutanee e/o congiuntivali) o sistemica (con interessamento dell'organismo).

L'esposizione all'argento nella popolazione non esposta professionalmente (orafi) deriva dalla presenza del metallo in otturazioni in amalgama dentale (30-35% di argento), in leghe dentali contenenti argento (fino al 50% della composizione del restauro metallico dentale), posate in argento, gioielli e monili.

A livello delle mucose orali, l'argento è in grado di indurre una neuroinfiammazione⁵³ che provoca dolori oro-facciali, associati o meno a stomatite aftosa da contatto irritante⁵⁶.

Titanio

Il titanio è un metallo molto diffuso sulla crosta terrestre; non è essenziale per le funzioni biochimiche dell'uomo. Ha numerosi impieghi nell'ambito medico-chirurgico, grazie alla sua possibilità di formare numerose leghe con altri metalli. Protesi ortopediche, stent chirurgici, protesi dentali sono solo alcune delle principali applicazioni nell'ambito biomedico.

In persone sensibilizzate al titanio sono state riportate condizioni quali eczema facciale (mento e naso), dermatite sistemica, orticaria, edemi facciali, prurito, sindrome delle unghie gialle e difficoltà nella riparazione delle ferite chirurgiche⁵⁷⁻⁶⁰; tra le manifestazioni del cavo orale, mucosite lichenoidi, cheilite esfoliativa,

infiammazione gengivale intorno agli impianti dentali di titanio, fibromi della mucosa orale a contatto con restauri in titanio, lesioni bollose del palato, sindrome della bocca urente, algia atipica facciale^{59,60}.

Conclusioni

Le manifestazioni cutaneo-mucose associate a ipersensibilità di tipo IV ad allergeni metallici sono note da tempo (tabella I), mentre quelle che si associano in modo specifico con i diversi tipi di metalli protesici sono ancora misdiagnosticate, anche in ambito medico spe-

Tabella I - *Manifestazioni dermatologiche associate a esposizione e/o allergie ai metalli.*

| Manifestazioni cutanee | Metallo |
|---------------------------------|---|
| Acne | Mercurio e i suoi composti, nichel, cromo, cobalto, rame, argento |
| Alopecia | Tallio, mercurio e i suoi composti |
| Sindrome del babbuino | Mercurio e i suoi composti, nichel |
| Dermatite atopica | Mercurio e i suoi composti, arsenico, iodio |
| Dermatite erpetiforme | Mercurio e i suoi composti, iodio |
| Dermatite periorale | Nichel, cromo, cobalto, mercurio e i suoi composti, titanio |
| Dermatite da contatto sistemica | Nichel, mercurio e i suoi composti, cromo, titanio, cobalto |
| Eczema nummulare | Mercurio e i suoi composti |
| Edema | Mercurio e i suoi composti, titanio |
| Eritema multiforme | Mercurio, nichel, litio |
| Esantema mercuriale | Mercurio e i suoi composti |
| Granuloma cutaneo | Mercurio e i suoi composti |
| Granulomatosi orofacciale | Mercurio e i suoi composti, cromo, oro |
| Malattia di Grover | Mercurio e i suoi composti |
| Iperpigmentazione | Mercurio e i suoi composti, arsenico |
| Malattia di Kawasaki | Mercurio e i suoi composti |
| Lichen planus cutaneo | Mercurio e i suoi composti, oro, bismuto, arsenico, palladio |
| Linfoadenopatia | Mercurio e i suoi composti |
| Micosi cutanea | Mercurio e i suoi composti |
| Orticaria | Mercurio e i suoi composti, cromo, cobalto, nichel, oro |
| Pustolosi palmo-plantare | Mercurio, arsenico, cobalto, rame |
| Pemfigo foliaceo | Mercurio e i suoi composti |
| Acrodinia | Mercurio e i suoi composti |
| Psoriasi | Mercurio e i suoi composti, arsenico |
| Tatuaggio cutaneo | Mercurio e i suoi composti, argento, zinco |

cialistico (tabella II). Fondamentale è l'esame clinico che deve guidare all'utilizzo del test allergologico *in vivo* (patch test) e, per alcuni metalli, del test *in vitro* di trasformazione linfocitaria, ai fini di individuare la sensibilizzazione all'allergene metallico ed escluderne o confermarne la rilevanza clinica.

Il trattamento primario delle allergie ai

Tabella II - *Manifestazioni del cavo orale associate a esposizione e/o allergie ai metalli dentali.*

| Patologia del cavo orale | Metallo |
|-----------------------------|--|
| Angioedema | Mercurio e i suoi composti |
| Cheilite | Mercurio e i suoi composti, cobalto, nichel, cromo, titanio |
| Cheilite esfoliativa | Nichel, mercurio, titanio |
| Glossite migrante | Mercurio e i suoi composti, litio, cobalto |
| Iperpigmentazione | Mercurio, argento, arsenico, zinco, rame, oro, palladio, stagno |
| Leucoplachia | Mercurio e i suoi composti, oro, arsenico, palladio |
| Linfocitoma del labbro | Nichel, cobalto |
| Lichen planus orale | Mercurio e i suoi composti, palladio, cromo, oro, rame, nichel |
| Micosi del cavo orale | Mercurio e i suoi composti, nichel |
| Stomatite aftosa ricorrente | Mercurio e i suoi composti, argento, nichel |
| Stomatite da contatto | Mercurio e i suoi composti, nichel, cobalto, cromo, oro, rame, argento, titanio, berillio, vanadio, berillio |
| Tatuaggio da amalgama | Mercurio e i suoi composti, argento, stagno, palladio |

metalli di derivazione odontoiatrica prevede la rimozione in sicurezza della fonte di rilascio del metallo. In ortopedia, è necessario la revisione e sostituzione dell'artroprotesi con materiali più biocompatibili. È opportuno ricordare che la terapia di accompagnamento, come la supplementazione con antiossidanti quali vitamine e minerali, non è di provata efficacia e può peggiorare il quadro clinico e immunitario del paziente. Anche la terapia chelante, se non indicata, può portare a importanti effetti collaterali.

In numerosi casi di pazienti affetti da manifestazioni muco-cutanee dovute ad allergia ai metalli, inoltre, abbiamo riscontrato effetti indesiderati per l'uso di corticosteroidi (sia sistemici che topici): il quadro clinico, il più delle volte, peggiorava o ricorreva non appena terminato il trattamento⁶¹.

Gli antistaminici, invece, giocano un ruolo importante perché sono solitamente ben tollerati e consentono una terapia sintomatica durante la fase di allontanamento dell'allergene responsabile.

Bibliografia

1. Faurschou A, Menné T, Johansen JD, et al. Metal allergen of the 21st century: a review on exposure, epidemiology and clinical manifestations of palladium allergy. *Contact Dermatitis* 2011; 64: 185.
2. Pigatto PD, Brambilla L, Ferrucci SM, et al. Allergy and adverse reactions to dental amalgam: an epidemiological assessment. 10th congress of the European Society of Contact Dermatitis (ESCD-GERDA). Strasbourg, Sept 2010. *Contact Dermatitis* 2010; 63 (suppl s1): 95.
3. Valentine-Thon E, Müller K, Guzzi G, et al. LTT-MELISA is clinically relevant for detecting and monitoring metal sensitivity. *Neuro Endocrinol Lett* 2006; 27 (suppl 1): 17.
4. Forte G, Petrucci F, Bocca B. Metal allergens of growing significance: epidemiology, immunotoxicology, strategies for testing and prevention. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2008; 7: 145.
5. Garner LA. Contact dermatitis to metals. *Dermatol Ther* 2004; 17: 321.
6. Frigerio E, Pigatto PD, Guzzi G, et al. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants: a prospective study. *Contact Dermatitis* 2011; 64: 273.
7. Goyer RA, Clarkson TW. Toxic effects of metals. In Klassen CD (ed). Casarett & Doull's toxicology: the basic of poisons. 6th ed. New York: McGraw Hill, 2001; 822.
8. Pigatto PD, Brambilla L, Guzzi G. Mercury pink exanthem after dental amalgam placement. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 377.
9. Pigatto PD, Guzzi G, Persichini P. Nummular lichenoid dermatitis from mercury dental amalgam. *Contact Dermatitis* 2002; 46: 355.
10. Pigatto PD, Ferrucci SM, Brambilla L, et al. Seroreversal of antinuclear antibodies after dental amalgam removal. *Allergy* 2010; 65 (suppl. 92): 519.
11. Pigatto PD, Minoia C, Brambilla L, et al. Auto-antibodies to nuclear and nucleolar antigen and long-term exposure to inorganic mercury. *Environ Res* 2010; 110: 821.
12. Nakada T, Higo N, Iijima M, et al. Patch test materials for mercury allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997; 36: 237.
13. Pigatto PD, Guzzi G, Persichini P, et al. Recovery from mercury-induced burning mouth syndrome due to mercury allergy. *Dermatitis* 2004; 15: 75.
14. Boyd AS, Seger D, Vannucci S, et al. Mercury exposure and cutaneous disease. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 81.
15. Lazarov A, Kidron D, Tulchinsky Z, et al. Contact orofacial granulomatosis caused by delayed hypersensitivity to gold and mercury. *J Am Acad Dermatol* 2003; 49: 1117.
16. Khamaysi Z, Weltfriend S, Khamaysi K, et al. Contact hypersensitivity in patients with primary cutaneous lymphoproliferative disorders. *Int J Dermatol* 2011; 50: 423.
17. Pigatto PD, Berti E, Spadari F, et al. Exfoliative cheilitis associated with titanium dental implants and mercury amalgam. *J Dermatol Case Rep* 2011; 4: 82.
18. Pigatto PD, Elli L, Guzzi G, et al. Is nickel in amalgam capable of aphthous stomatitis in a patient reacting to nickel? *Eur J Dermatol* 2008; 18: 726.
19. Laeijendecker R, Dekker SK, Burger PM, et al. Oral lichen planus and allergy to dental amalgam restorations. *Arch Dermatol* 2004; 140: 1434.
20. Pigatto PD, Arancio L, Guzzi G, et al. Metals from amalgam in saliva: association with lichenoid lesions, leukoplakia, burning mouth syndrome. *Toxicol Letters* 2005; 158S: S169.
21. Pigatto PD, Guzzi G, Severi G. Oral lichen planus: mercury and its kin. *Arch Dermatol* 2005; 141: 1472.
22. Hougeir FG, Yiannias JA, Hinni ML, et al. Oral metal contact allergy: a pilot study on the cause of oral squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2006; 45: 265.
23. Guzzi G, Pigatto PD, Severi G. Oral cancer: an association with dental metal restorations and allergy to metals? *Int J Dermatol* 2007; 46: 885.
24. Pigatto PD, Bombeccari GP, Spadari F, et al. Palate erythema migrans and mercury dental amalgam. *Indian J Dent* 2010; 1: 72.
25. Pigatto PD, Zerboni R, Guzzi G. Local and systemic allergic contact dermatitis due to dental alloys. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 124.
26. Pigatto PD, Brambilla L, Guzzi G. Amalgam tattoo: a close-up view. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; 20: 1352.
27. Pigatto PD, Mazzi B, Fleischhauer K, et al. Linking allergy to mercury to HLA and burning mouth syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2007; 21: 1118.
28. Bruze M, Edman B, Björkner B, et al. Clinical relevance of contact allergy to gold sodium thiosulfate. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31: 579.
29. Räsänen L, Kalimo K, Laine J, et al. Contact allergy to gold in dental patients. *Br J Dermatol* 1996; 134: 673.
30. Koch P, Bahmer FA. Oral lesions and symptoms related to metals used in dental restorations: a clinical, allergological, and histologic study. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41: 422.
31. Scalf LA, Fowler JF Jr, Morgan KW, et al. Dental metal allergy in patients with oral, cutaneous, and genital lichenoid reactions. *Am J Contact Derm* 2001; 12: 146.
32. Möller H. Dental gold alloys and contact allergy. *Contact Dermatitis* 2002; 47: 63.
33. Pigatto PD, Guzzi G. The link between patch testing and dental materials. *Contact Dermatitis* 2007; 56: 301.
34. 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.
35. Kalimo K, Mattila L, Kautiainen H. Nickel allergy and orthodontic treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18: 543.
36. Pigatto PD, Guzzi G. Systemic contact dermatitis from nickel associated with orthodontic appliances. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 100.
37. Pigatto PD, Marsili C, Brambilla L, et al. Cheilitis associated to exposure and allergy to intra-oral metals. *Allergy* 2010; 65 (suppl. 92): 702.
38. Friedman SJ, Perry HO. Erythema multiforme associated with contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1985; 12: 21.
39. Gordon PM, Buxton PK, McLaren KM, et al. Sensitivity to sternotomy wires may cause postoperative pruritus. *Ann Thorac Surg* 1996; 61: 1514.
40. Bruce GJ, Hall WB. Nickel hypersensitivity-related periodontitis. *Compend Contin Educ Dent* 1995; 16: 180.
41. Szyfelbein Masterpol K, Gottlieb AB, Scheinman PL. Systemic contact dermatitis presenting as lichen planus of the lip. *Dermatitis* 2010; 21: 218.
42. Komatsu H, Aiba S, Mori S, et al. Lymphocytoma cutis involving the lower lip. *Contact Dermatitis* 1997; 36: 167.
43. Stransky L. Contact pemphigus vulgaris? *Contact Dermatitis* 1998; 38: 45.
44. Durosaro O, el-Azhary RA. A 10-year retrospective study on palladium sensitivity. *Dermatitis* 2009; 20: 208.
45. Pigatto PD, Spadari F, Bombeccari G, et al. Palladium sensitization in the United States: dermatology and dentistry connection. *Dermatitis* 2010; 21: 297.
46. Pigatto PD, Feilzer AJ, Valentine-Thon E, et al. Burning mouth syndrome associated with palladium allergy? *Eur J Dermatol* 2008; 18: 356.
47. Pigatto PD, Guzzi G. Cobalt based dental alloy, allergy to cobalt, and palmoplantar pustulosis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2011 (in stampa).
48. Wood JF. Mucosal reaction to cobalt-chromium alloy. *Br Dent J* 1974; 136: 423.
49. Olivares M, Uauy R. Copper as an essential nutrient. *Am*

- J Clin Nutr 1996; 63: 791S.
50. Hostynek JJ, Maibach HI. Copper hypersensitivity: dermatologic aspects. *Dermatol Ther* 2004; 1: 328.
 51. Vergara G, Silvestre JF, Botella R, et al. Oral lichen planus and sensitization to copper sulfate. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 374.
 52. Schmalz G, Schuster U, Schweikl H. Influence of metals on IL-6 release *in vitro*. *Biomaterials* 1998; 19: 1689.
 53. Fracchiolla NS, Guzzi G, Costa A, et al. Atypical facial pain, neuroinflammation, and intraoral metals. XXVIII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Warsaw, June 6-10, 2009 (p1536).
 54. Amster E, Tiwary A, Schenker MB. Case report: potential arsenic toxicosis secondary to herbal kelp supplement. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 606.
 55. Hanjani NM, Fender AB, Mercurio MG. Chronic arsenicism from Chinese herbal medicine. *Cutis* 2007; 80: 305.
 56. Lygre GB, Høl PJ, Eide R, et al. Mercury and silver in saliva from subjects with symptoms self-related to amalgam fillings. *Clin Oral Investig* 1999; 3: 216.
 57. Thomas P, Bandl WD, Maier S, et al. Hypersensitivity to titanium osteosynthesis with impaired fracture healing, eczema, and T-cell hyperresponsiveness *in vitro*: case report and review of the literature. *Contact Dermatitis* 2006; 55: 199.
 58. Egusa H, Ko N, Shimazu T, et al. Suspected association of an allergic reaction with titanium dental implants: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2008; 100: 344.
 59. Sicilia A, Cuesta S, Coma G, et al. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19: 823.
 60. Pigatto PD, Guzzi G, Brambilla L, et al. Titanium allergy associated with dental implant failure. *Clin Oral Implants Res* 2009; 20: 857.
 61. Pigatto PD, Marsili C, Guzzi G. Exposure to metallic mercury and contact dermatitis. *An Bras Dermatol* 2009; 84: 303.

La gestione dell'orticaria cronica

Paolo Lisi

Riassunto. L'orticaria cronica (OC) è un importante problema di salute pubblica per la sua elevata frequenza e per le difficoltà legate all'inquadramento eziopatogenetico. Ne è confermata il fatto che la variante più comune di OC è quella spontanea (o idiopatica) a decorso continuo. Dopo aver richiamato alcuni dati epidemiologici (relativi a prevalenza, sesso, età, durata, stato socio-economico) ed eziologici (stimoli fisici, infezioni, infestazioni, alimenti, farmaci, stress emozionali, patologie autoimmuni, neoplasie) sull'OC, viene proposto un algoritmo per la gestione dei pazienti. L'anamnesi, l'esame obiettivo generale del paziente e la valutazione del dermatografismo sono i tre momenti essenziali, ma anche Urticaria Activity Score (UAS) e Chronic Urticaria Quality of Life (CU-Q₂oL) possono essere utili per la valutazione iniziale dell'OC. L'esecuzione di accertamenti ematochimici e strumentali sarà consigliata solo se indicazioni cliniche; in caso contrario, si suggeriranno un antistaminico di seconda generazione e una dieta "ipoallergenica". Se la sintomatologia persisterà, sarà opportuno effettuare alcuni accertamenti ematochimici (emocromo con formula, velocità di eritrosedimentazione, proteina C reattiva, ricerca degli anticorpi antitireoperossidasi) ed eventualmente il test intradermico con siero autologo.

Parole chiave: orticaria cronica, gestione, algoritmo, indagini ematochimiche e strumentali, antistaminici.

Summary. *The management of chronic urticaria.* Chronic urticaria (CU) is an important public health problem for its high frequency and because its etiological diagnosis is often very difficult. This is confirmed by the fact that chronic-continuing spontaneous (or idiopathic) urticaria is the most common subtype. Some epidemiological (prevalence, sex, gender, duration, socioeconomic status) and etiological (physical stimuli, infections, infestations, food, drugs, emotional stress, autoimmune diseases, cancers) data are reviewed and an algorithm for the management of patients is proposed. History, physical examination and evaluation of dermatographism are the three essential moments, but also Urticaria Activity Score (UAS) and Chronic Urticaria Quality of Life (CU-Q₂oL) may be useful for initial assessment of CU. Laboratory tests and instrumental investigations will be recommended only when clinically suggested; otherwise, a second-generation antihistamine and an "hypoallergenic" diet will be recommended. If symptoms persist, some blood chemistry tests (full blood count with differential white count, erythrocyte sedimentation rate, C reactive protein, antithyroperoxidase antibodies) and eventually the autologous serum skin test will be performed.

Key words: chronic urticaria, management, algorithm, laboratory tests, instrumental investigations.

Introduzione

L'orticaria (O), e in particolare l'orticaria cronica (OC), costituisce un importante problema di salute pubblica. Già nota nel IV secolo a.C. (Ippocrate ne descrisse un caso da latte), l'O è manifestazione clinica molto comune; si ritiene infatti che il 20-25% della popolazione generale ne abbia presentato almeno un episodio nel corso della vita. La diagnosi clinica è facile, ma il decorso è spesso frustrante per il paziente ma anche per il medico, specie

quando la sintomatologia assume decorso cronico (cioè durata superiore a 6 settimane) e continuo.

Tra le varianti di OC (tabella I), quella spontanea o idiopatica, e in particolare quella a decorso continuo, è la più frequente ed è su questa che sarà focalizzata l'attenzione, anche perché per le O fisiche e per le altre forme di O elencate nella tabella I i fattori eziologici scatenanti (traumi, temperatura, pressione, etc) sono noti. Condividiamo in pieno l'opinione di Zuberbier *et al*¹ di non includere tra le O alcu-

Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica, Dipartimento di Specialità medico-chirurgiche e Sanità pubblica, Università di Perugia.

Prof. Paolo Lisi, Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica, Polo ospedaliero-universitario Santa Maria della Misericordia, Sant'Andrea delle Fratte, 06156 Perugia (plisi@unipg.it).

Conflitto d'interesse: dichiarato assente dall'Autore.

Accettato per la pubblicazione il 15 gennaio 2012.

Tabella I - *Classificazione dell'orticaria cronica¹ (modificata).*

| | |
|--------------------------------------|--|
| Orticaria spontanea: (idiopatica) | continua intermittente |
| Angioedema senza pomfi: | spontaneo ereditario da paraproteine |
| Orticaria fisica: | dermografica da contatto da freddo da contatto da calore ritardata da pressione vibratoria |
| Altre forme di orticaria: | colinergica da esercizio fisico da contatto acquagenica |

ne malattie che nel passato erano state correlate con l'O, come l'O pigmentosa (mastocitosi), la vasculite orticarioide, l'O da freddo familiare (vasculite), l'angioedema non-istaminergico, al pari di alcune sindromi che possono essere associate a O, come la sindrome di Muckle-Wells, la sindrome di Schnitzler, la sindrome di Gleich e la sindrome di Well.

Dati epidemiologici

La prevalenza della OC nella popolazione generale non è nota, anche se recentemente è stato pubblicato un lavoro del gruppo di Zuberbier², in cui viene riferito che la prevalenza annuale a Berlino era pari allo 0,8%. Sulla base dei risultati di una successiva rassegna della letteratura effettuata da Maurer *et al*³, la forma spontanea (o idiopatica) è la più frequente, oscillando tra il 66% e il 93% delle OC; seguono le O fisiche (4-33%) e, molto più distanziata, la O colinergica (1-7%).

Per quanto riguarda le caratteristiche cliniche della OC spontanea, la coesistenza di pomfi e di angioedema, e pertanto la sindrome orticaria-angioedema, ha prevalenza (29-65%) di poco superiore a quella delle forme caratterizzate da soli pomfi; l'angioedema isolato (1-13%), invece, è nettamente meno frequente.

L'OC spontanea è più frequente nelle donne (con un rapporto donne:maschi pari a 2:1) e nei soggetti di età compresa tra 20 e 40 anni³; non sembra essere in relazione con lo stato socio-economico, educazionale e l'etnia dei pazienti³.

Nella gran maggioranza dei casi le manifestazioni cliniche hanno durata superiore a un anno, ma in un numero consistente di pazienti

possono persistere per oltre 5 anni^{4,6}. La durata, tuttavia, sembra condizionata dalla gravità della sintomatologia clinica, dalla coesistenza di angioedema e/o di O fisiche (e in particolare di O dermografica e di O ritardata da pressione) e dal riscontro di anticorpi antitiroide^{3,7}.

Eziologia

Sulla base delle evidenze cliniche, oltre all'indiscutibile e già richiamato ruolo degli stimoli fisici, quello causale delle infezioni e delle infestazioni è stato più volte sottolineato, ma la ricerca sistematica dei foci infettivi (dentali, sinusali) non è giustificata, così come quella di *Helicobacter pylori*, se non quando coesistono sintomi digestivi. Anche le infezioni virali, la candidiasi e le parassitosi intestinali non hanno un reale peso eziologico, se non forse nei bambini.

L'allergia alimentare e l'allergia medicamentosa (quelle mediate da IgE) sono eccezionali nei pazienti con OC e pertanto non è giustificata l'esecuzione dei test allergodiagnostici (sia ematochimici che cutanei). Tuttavia, merita di non essere sottovalutato il potenziale scatenante e/o aggravante degli alimenti e dei medicinali ad azione istaminoliberatrice (tabella II). Tra i primi ricorderemo soprattutto i formaggi, specie se stagionati, i crostacei, gli insaccati e le spezie; tra i secondi, acido acetilsalicilico e farmaci antinfiammatori non steroidei.

Tabella II - *Alimenti e farmaci istaminoliberatori.*

| Alimenti | Farmaci |
|-----------------------|--|
| Uovo (albume) | Acido acetilsalicilico |
| Formaggi (stagionati) | Farmaci antinfiammatori (anti-COX-1) |
| Cacciagione | Inibitori dell'enzima di conversione di angiotensina |
| Insaccati | Mezzi di contrasto radiografico iodati |
| Crostacei (pesce) | Codeina |
| Legumi | Morfina |
| Cioccolato | Miorilassanti |
| Birra | Tetraciline |
| Superalcolici | Atropina |
| Caffè | |

Si è a lungo discusso del ruolo eziologico, non di rado sopravvalutato, degli additivi alimentari (coloranti e conservanti) (tabella III) e degli allergeni alimentari occulti, ma questi sono da prendere in considerazione solo nelle

Tabella III - Additivi alimentari.

| Coloranti | Conservanti |
|----------------------|---------------------|
| Giallo di tartrazina | Sodio benzoato |
| Giallo arancio | Esteri dei parabeni |
| Eritrosina | Sodio sorbato |
| Blu patent | Sodio metabisolfito |
| Cocciniglia | Sodio glutammato |

forme di OC ricorrente.

Non deve essere neppure trascurato il potenziale scatenante degli esercizi fisici, delle brusche variazioni della temperatura ambientale, dell'esposizione prolungata al sole e degli stress emozionali. Questi ultimi, in particolare, possono rappresentare fattore scatenante e/o esacerbante nei pazienti con OC spontanea che, a sua volta, è più spesso causa di stress. Ne consegue un deterioramento della qualità di vita che può essere valutata tramite un questionario specifico (Chronic Urticaria Quality of Life o CU-Q₂oL) che è stato elaborato e validato in Italia^{8,9}, ma che ormai è utilizzato anche al di fuori dei confini nazionali¹⁰⁻¹². Nei casi più gravi, tuttavia, possono essere associate comorbilità psichiatriche (quali ansia, depressione, somatizzazione), che non debbono essere sottovalutate nella gestione dei pazienti^{13,14}.

Relativamente alle patologie autoimmuni, l'unica associazione statisticamente significativa è la presenza degli autoanticorpi della tiroidite autoimmune (anti-tireoperossidasi, anti-tireoglobulina), anche se il trattamento con levo-tiroxina non ha effetti rilevanti sulla patologia cutanea e pertanto non deve essere preso in considerazione se TSH è nei limiti della norma.

L'associazione tra O cronica e neoplasie, anche negli anziani, è rara e comunque acquisisce valore paraneoplastico solo eccezionalmente; quella con morbo celiaco nei bambini è possibile e può risentire favorevolmente della dieta priva di glutine^{15,16}.

Gestione

La gestione dell'OC non è agevole e spesso diviene dispendiosa, specie se attuata in modo non corretto. L'algoritmo che viene proposto deriva da alcune recenti linee guida inglesi¹⁷, europee¹⁸ e italiane¹⁹, ma anche dall'esperienza personale maturata nel corso degli anni²⁰.

L'anamnesi, l'esame obiettivo generale del paziente e la valutazione del dermatografismo sono i tre momenti essenziali per la corretta gestione del paziente. La raccolta dei dati anamnestici, che deve essere molto accurata, può essere agevolata dall'uso di questionari^{18,19,21}, come ad esempio quello che noi utilizziamo da anni²² e che consente di ottenere dati su durata e andamento temporale della sintomatologia cutanea, caratteristiche cliniche (morfologia, sedi coinvolte, esiti, sintomi soggettivi, sintomi generali e mucosali concomitanti, ritmo circadiano), atopia personale e familiare, comorbilità, assunzione di farmaci, eventuali relazioni con fattori scatenanti (di natura fisica, alimentare e ambientale), abitudini di vita, risultati delle terapie praticate.

Il dermatografismo, eseguito con la punta smussa di un oggetto duro o con un dermatografometro, permette di escludere una concomitante O dermatografica o il dermatografismo vero; questo ultimo, a differenza della O dermatografica, è scatenato solo da frizione e pressione.

Due ulteriori strumenti utili per la valutazione iniziale dell'OC sono Urticaria Activity Score (UAS) e il già ricordato CU-Q₂oL. Il primo (tabella IV), che è stato proposto da Zuberbier *et al*²³ e validato da Mlynek *et al*²⁴, fornisce una valutazione quantitativa dei sintomi caratterizzanti l'O (pomfi e prurito) da parte del paziente nell'arco delle 24 ore per alcuni giorni. UAS, che in genere è la somma del punteggio giornaliero di 7 giorni consecutivi, viene impiegato per seguire nel tempo i pazienti e soprattutto per verificare gli effetti della terapia instaurata.

Dopo questo iniziale approccio al pazien-

Tabella IV - Urticaria Activity Score (UAS)²³.

| Punteggio | Pomfi | Prurito |
|-----------|--|---|
| 0 | Nessuno | Assente |
| 1 | Lieve (<20 pomfi/24 h) | Lieve (presente ma non irritante né fastidioso) |
| 2 | Moderato (20-50 pomfi/24 h) | Moderato (fastidioso ma non in grado di interferire con le comuni attività giornaliere o il sonno) |
| 3 | Intenso (>50 pomfi/24 h o pomfi confluenti su ampie aree) | Intenso (fortemente fastidioso e in grado di interferire con le comuni attività giornaliere o il sonno) |

te, possono essere seguite due vie (figura 1): se i dati clinico-anamnestici orientano verso uno o più possibili fattori causali, deve essere consigliata l'esecuzione di accertamenti ematochimici e strumentali mirati, compresi i test per le O fisiche quando ritenuti necessari

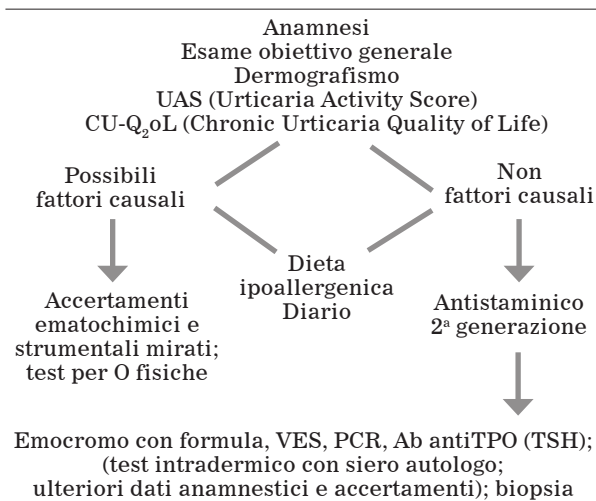


Figura 1 - Algoritmo per la gestione dell'orticaria cronica.

(tabella V). In caso contrario, si consiglierà un antistaminico di seconda generazione per 4-8 settimane. In entrambi i casi, pertanto, non è necessario utilizzare costosi screening pre-costituiti, mentre è opportuno consigliare una dieta "ipoallergenica", cioè priva di alimenti ricchi di istamina, sostanze istaminoliberatorie, coloranti e conservanti alimentari. E' una dieta che vieta l'ingestione di: a) uovo e soprattutto albume (anche sotto forma di pasta all'uovo, dolci, meringhe, etc); b) formaggi stagionati, mentre consente l'uso morigerato di mozzarella, stracchino, ricotta, yogurt; c) carni "calorose" (quali cacciagione, insaccati, fegato di maiale), crostacei e, più in generale, pesce, mentre permette di mangiare tacchino, agnello, manzo e maiale (purché ai ferri o al vapore). Più complicata la vita per i vegetariani, ai quali sarà consentito solo l'utilizzo di lattuga, carote, finocchi, zucchine, cavolo (ovviamente conditi con solo sale e olio d'oliva), di pere e mele (purché sbucciate). Sarà opportuno, infine, non dimenticare i consigli restrittivi su cioccolato, vino, birra, superalcolici, bevande e cibi conservati/colorati.

Sull'opportunità di consigliare restrizioni

Tabella V - Test per orticarie fisiche¹⁷⁻¹⁹.

| Orticarie fisiche | Modalità di esecuzione dei test |
|------------------------|--|
| Dermografica | Con punta smussa di oggetto duro o con dermatografometro |
| Da freddo | Cubetto di ghiaccio in contenitore di plastica (avambraccio, 3-4 min) |
| Da calore | Immersione di un avambraccio in acqua calda |
| Ritardata da pressione | Un peso da 0,2-1,5 kg su 1 cm ² di cute (coscia o dorso, 10-20 min) |
| Solare | Fototest (UVA, UVB, luce visibile) |
| Colinergica | Attività fisica in ambiente caldo (cyclette) |
| Da esercizio fisico | Esercizio fisico (con/senza alimenti) |
| Da contatto | Prick test, patch test (lettura a 20 min) |
| Acquagenica | Salvietta bagnata su un'area corporea (alcuni minuti) |

alimentari ai pazienti affetti da OC spontanea, recentemente sono ritornati Magerl *et al*²⁵ che hanno documentato che una dieta priva di pseudoallergeni è benefica in uno su tre pazienti e hanno affermato che è una misura sicura, salutare e priva di costo.

Pure utile, inoltre, il diario clinico giornaliero, sul quale il paziente registrerà l'intensità delle manifestazioni in un determinato momento della giornata e annoterà eventuali fasi di peggioramento giornaliero, sintomi generali e fattori scatenanti²².

Nei pazienti che non hanno risposto positivamente alla terapia antistaminica (figura 1), sarà opportuno eseguire alcuni accertamenti ematochimici e in particolare emocromo con formula, velocità di eritrosedimentazione, proteina C reattiva, ricerca degli anticorpi antitireoperossidasi e, in caso di presenza di questi ultimi, dosaggio dell'ormone stimolante la tiroide. Se negativi, si procederà a effettuare il test intradermico con siero autologo (tabella VI) per documentare l'eventuale presenza di autoanticorpi contro le IgE o il recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI); se positivi, saranno raccolti ulteriori dati anamnestici e programmati ulteriori accertamenti diagnostici per verificare l'eventuale coesistenza di parassitosi intestinali, infezioni batteriche, paraproteinemie, lupus eritematoso, vasculiti.

Relativamente all'esecuzione della biopsia cutanea, questa non è utile salvo nei casi in cui sia sospettata una vasculite orticarioide o una malattia autoimmune del connettivo.

L'algoritmo proposto, infine, può essere adottato anche per i pazienti d'età pediatri-

Tabella VI - Test intradermico con siero autologo²⁶.

| | |
|---|--|
| Preparazione: | |
| prelevare sangue venoso (10 ml) in provetta sterile, lasciare riposare a temperatura ambiente per 30 min, centrifugare a 500 g per 15 min, porre il soprannatante in provetta sterile | |
| Esecuzione: | |
| inoculare | 0,05 ml di siero non diluito, 0,05 ml di soluzione fisiologica, 0,05 ml di istamina (10 µg/ml) |
| Lettura: | |
| a 30 min, reazione positiva: pomfo di diametro maggiore rispetto a quello di controllo (soluzione fisiologica) negativo (almeno 1,5 mm) | |

ca, per i quali tuttavia potrebbe essere utile includere anche la ricerca degli anticorpi anti IgE, antiendomisio e, soprattutto, antitransglutaminasi per escludere la celiachia²⁷.

Conclusioni

La prospettata gestione dei pazienti con OC, pur basata sulle evidenze cliniche, ha i limiti temporali di tutte le proposte in medicina, che sono fortemente condizionate dalle conoscenze attuali non complete. L'algoritmo proposto, tuttavia, dovrebbe consentire una più corretta gestione dei pazienti con OC e una migliore utilizzazione delle risorse economiche del Sistema sanitario nazionale. Ovviamente, sono auspicabili ulteriori studi per ridurre, soprattutto, l'ancora elevata prevalenza dell'OC spontanea.

Bibliografia

- Zuberbier T, Asero R, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline: management of urticaria. *Allergy* 2009; 64: 1427.
- Zuberbier T, Balke M, Worm M, et al. Epidemiology of urticaria: a representative cross-sectional population survey. *Clin Exp Dermatol* 2010; 35: 869.
- Maurer M, Weller K, Bindslev-Jensen C, et al. Unmet clinical needs in chronic spontaneous urticaria: a GA²LEN task force report. *Allergy* 2011; 66: 317.
- Humphreys F, Hunter JA. The characteristics of urticaria in 390 patients. *Br J Dermatol* 1998; 138: 635.
- Doutre MS, Buchon D, Dosquet P, et al. Conférence de consensus: Prise en charge de l'urticaire chronique. *Arch Pédiatr* 2003; 10: 1121.
- Gaig P, Olona M, Muñoz Lejarazu D, et al. Epidemiology of urticaria in Spain. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2004; 14: 214.
- Toubi E, Kessel A, Avshovich N, et al. Clinical and laboratory parameters in predicting chronic urticaria duration: a prospective study of 139 patients. *Allergy* 2004; 59: 869.
- Baiardini I, Pasquali M, Braido F, et al. A new tool to evaluate the impact of chronic urticaria on quality of life: chronic urticaria quality of life questionnaire (CU-Q_{oL}). *Allergy* 2005; 60: 1073.
- Baiardini I, Braido F, Fassio O, et al. Development and validation of the drug hypersensitivity quality of life questionnaire. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 106: 330.
- Mynek A, Magerl M, Hanna M, et al. The German version of the chronic urticaria quality of life questionnaire: factor analysis, validation and initial clinical findings. *Allergy* 2009; 64: 927.
- Maurer M, Ortonne JP, Zuberbier T. Chronic urticaria: an internet survey of health behaviours, symptom patterns and treatment needs in European adult patients. *Br J Dermatol* 2009; 160: 633.
- Baiardini I, Braido F, Bindslev-Jensen P, et al. Recommendations for assessing patient-reported outcomes and health-related quality of life in patients with urticaria: a GA²LEN taskforce position paper. *Allergy* 2011; 66: 840.
- Staubach P, Eckhardt-Henn A, Dechene M, et al. Quality of life in patients with chronic urticaria is differentially impaired and determined by psychiatric comorbidity. *Br J Dermatol* 2006; 154: 294.
- Uguz F, Engin B, Yilmaz E, et al. Diagnoses in patients with chronic idiopathic urticaria. *J Psychosom Res* 2008; 64: 225.
- Caminiti L, Passalacqua G, Magazzù G, et al. Chronic urticaria and associated coeliac disease in children: a case-control study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 428.
- Gabrielli M, Candelli M, Cremonini F, et al. Idiopathic chronic urticaria and coeliac disease. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1702.
- Powell RJ, Du Toit GL, Siddique N, et al. BSACI guidelines for the management of chronic urticaria and angio-oedema. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 631.
- Zuberbier T, Asero R, Bindslev-Jensen C, et al. EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy* 2009; 64: 1417.
- Pigatto PD, Marsili CB, Ayala F, et al. Italian position paper on urticaria. *G Ital Dermatol Venereol* 2009; 144: 297.
- Lisi P, Agostinelli D, Caraffini S, et al. La sindrome orticaria/angioedema cronica: proposta di un protocollo per l'inquadramento eziologico. *RES Epydem* 1997; 1: 13.
- Henz BM, Zuberbier T, Grabbe J, et al. Urticaria: clinical, diagnostic and therapeutic aspects. Berlin: Springer-Verlag, 1998: 183.
- Lisi P, Stingeni L. I moduli stampati nella gestione dei pazienti con orticaria. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2002; 56: 1.
- Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W, et al. EAACI/GA²LEN/EDF guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy* 2006; 61: 316.
- Mlynek A, Zalewska-Janowska A, Martus P, et al. How to assess disease activity in patients with chronic urticaria? *Allergy* 2008; 63: 777.
- Magerl M, Pisarevskaja D, Scheufele R, et al. Effects of a pseudoallergen-free diet on chronic spontaneous urticaria: a prospective trial. *Allergy* 2010; 65: 78.
- 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.
- Lisi P. Sindrome orticaria-angioedema in età pediatrica. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2009; 63: 88.

Dermatite atopica e sport

Donatella Schena¹, Anteo Tomasso², Anastasia Papagrigroraki¹, Chiara Sabbadini¹ e Giampiero Girolomoni¹

Riassunto. *Introduzione:* la cute degli atleti è esposta ad una moltitudine di fattori fisici e ambientali che ne aggrediscono l'integrità. I soggetti con dermatite atopica (DA), che di base presentano anomalie della barriera cutanea, possono risentire maggiormente dei danni da attività sportiva. *Obiettivo:* scopo dello studio è di valutare l'influenza dell'attività sportiva sull'andamento della DA in una popolazione di giovani e l'influenza della DA sulla scelta del tipo di attività sportiva. *Materiali e metodi:* 285 soggetti (età 5-25 anni; 89 con DA, 196 non atopici) sono stati inclusi in uno studio trasversale caso-controllo con somministrazione di questionario. *Risultati:* 51 pazienti (57,3%) affetti da DA hanno riportato problemi cutanei legati all'attività sportiva (vs 3,6% dei controlli). Le manifestazioni prevalenti erano prurito (57,3%) e xerosi cutanea (46,1%). *Conclusioni:* la DA non rappresenta un ostacolo significativo alla pratica dello sport. L'attività sportiva può anzi essere considerata una terapia coadiuvante per il paziente atopico per gli importanti benefici sul benessere psicofisico.

Parole chiave: dermatite atopica, sport, bambini, giovani adulti.

Summary. *Atopic dermatitis and sport. Background:* atopic dermatitis (AD) is a chronic itchy inflammatory disease which affects up to 25% of children. AD is characterized by altered skin barrier and immunological dysfunctions. An athlete's skin is constantly exposed to a variety of stressors, both physical and environmental, which may affect the integrity of the skin barrier. *Objective:* the aim of this study is to evaluate the influence of sport activity on the course of AD and the influence of AD on the choice of sport type in a population of children and young adults. *Materials and methods:* in a cross-sectional case-control study 89 AD children and young adults ageing from 5 to 25 years (18.5 +/- 1.2) were compared to 196 age matched healthy individuals. All subjects practised sports. The patients were asked to fill in a survey which investigates the course of AD during sport activities. *Results:* AD was mild in 28 patients (31.5%), moderate in 45 (50.6%), and severe in 16 (17.9%). Thirty-four (38.2%) practised competitive sport and 61.8% non competitive sport. In the control group, sport activities were competitive in 71.9%, non competitive in 28.1%. AD patients practiced more than one sport in 33.7% of the cases, while in the control group 67.3% of the patients practiced multiple sport activities. Soccer was the predominant sport in both groups (39.3% cases vs 61.7% controls). Fifty-one patients (57.3%) referred skin related problems during sport activity, such as itch (57.3%), skin dryness (46.1%), eczema worsening (20.2%), intolerance to clothing (5.6%), allergic contact dermatitis to clothing (5.6%) and recurrent infections (3.4%). In the control group, only 7 patients (3.6%) had skin problems during sport activity, such as itch (3.1%), skin dryness (1%) and intolerance to clothing (0.5%). The type of sport activity practised did not differ in the 2 groups. Only a few patients affected by AD (3.4%) were influenced by the disease in the choice of sport activities. *Conclusions:* AD can be worsened by practice of sport. However, the disease does not represent a significant obstacle to competitive and not competitive physical exercise. None of our patients had to discontinue the sport because of skin adverse events. Sport activities can even be considered as adjuvant therapy improving the patient's mood and psychosocial well-being. Proper management of AD in addition to pharmacological treatment includes instructions to face environmental stressors that may affect the skin. It is however important to encourage young patients to practise sports.

Key words: atopic dermatitis, sports, children, young adults.

¹Sezione di Dermatologia e Venereologia, Dipartimento di Medicina, Università degli studi di Verona; ²Traumatologia e Medicina dello sport, UO Ortopedia, Azienda ospedaliera universitaria integrata di Verona.
Dr.ssa Donatella Schena, Sezione di Dermatologia e Venereologia, Dipartimento di Medicina, Università degli studi di Verona, Piazzale A. Stefani 1, 37126 Verona (e-mail: donatella.schena@ospedaleuniverona.it).
Il lavoro è stato presentato al X Congresso nazionale SIDAPA (Perugia, 4-6 novembre 2010).
Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.
Accettato per la pubblicazione 19 gennaio 2012.

Introduzione

La dermatite atopica (DA) è una delle più frequenti malattie infiammatorie della cute, interessa con andamento cronico-ricidivante sino al 25% dei bambini in tutto il mondo e talvolta può persistere sino all'età adulta con importante impatto sulla qualità di vita^{1,2}. L'alterazione della barriera cutanea, che riveste un ruolo chiave nella patogenesi della DA, dipende da fattori genetici e ambientali che si intersecano in maniera complessa con alterazioni immunitarie³ favorendo l'infiammazione e un'aumentata penetrazione di sostanze allergizzanti, irritanti e di microrganismi patogeni^{4,5}.

La disfunzione di barriera è secondaria a difetti genetici che interessano componenti strutturali dell'epidermide fra i quali la mutazione del gene della filaggrina che altera l'aggregazione dei filamenti di cheratoialina, riduce la densità dei corneodesmosomi e l'espressione di proteine delle tight junction, altera la maturazione e la secrezione dei corpi lamellari, riduce i livelli di natural moisturizing factor, di acido urocanico e acido pirroli-done carbossilico^{6,7}. A questi si associano altre alterazioni di proteine strutturali quali claudina, ornerina, loricrina ed una combinazione di altri fattori fra cui sbilanciata attivazione delle proteasi, deficit di inibitori delle proteasi e alterazioni nella composizione lipidica^{5,8}. Inoltre questi pazienti hanno un maggior rischio di contrarre infezioni batteriche, virali o fungine a causa delle alterazioni di alcuni meccanismi dell'immunità innata, quali una ridotta produzione di peptidi antimicrobici (come defensine e catelicidine), una ridotta espressione di toll-like receptor 2 e una riduzione del reclutamento di cellule infiammatorie^{4,7}.

La cute degli atleti professionisti e amatoriali è esposta ad una moltitudine di fattori stressanti fisici e ambientali che costantemente aggrediscono l'integrità della cute sana⁹. La cute infatti rappresenta l'organo maggiormente interessato da patologia dello sport. I soggetti con DA che di base presentano anomalie dell'integrità cutanea di vario grado, sia a livello della cute lesionale che a livello della cute clinicamente sana, potenzialmente risentono maggiormente dei danni da attività sportiva¹⁰.

Non vi sono molti studi epidemiologici riguardanti la prevalenza della DA negli sportivi

e l'influenza dello sport sulla DA. Dai dati della letteratura le manifestazioni più frequenti sono rappresentate da aggravamento della DA e da dermatiti irritative, mentre l'incidenza di sensibilizzazione da contatto indotta dall'attività sportiva è più rara che nei soggetti non affetti dalla DA.

Uno studio francese¹¹ condotto su 140 giovani con DA ha evidenziato che lo sport rappresentava un fattore di aggravamento nel 70% dei soggetti, ma solo parte di questi era stato costretto ad interrompere definitivamente l'attività sportiva, mentre la maggior parte aveva potuto continuare l'attività adattandola ai ritmi della dermatite. Langan *et al*¹² hanno evidenziato, in un primo studio, che l'esposizione ad elevate temperature esterne, l'umidità, lo stress e la sudorazione rappresentano fattori ambientali in grado di esacerbare la DA nei bambini. In un successivo studio¹³ condotto per 9 mesi su 60 bambini con DA, hanno riscontrato fra i fattori associati ad un aggravamento della malattia la sudorazione, il nuoto in piscine clorate e l'utilizzo di indumenti di nylon a contatto con la cute. Kobaly *et al*¹⁴ in un recente studio hanno valutato l'effetto dell'occlusione sulla cute dei pazienti con DA evidenziando effetti irritativi simili a quelli del sodio laurilsolfato con aumento della perdita transepidermica di acqua, aggravamento dell'infiammazione ed effetto favorente la proliferazione di microrganismi patogeni. I pazienti con DA, inoltre, hanno una ridotta abilità a dissipare il calore in corso di stress termico, come evidenziato nel lavoro di Parkkinen *et al*¹⁵ con riscontro di sudorazione cumulativa in pazienti con DA del 50-60% inferiore rispetto ai non atopici.

L'influenza della pratica del nuoto in pazienti con DA è stata indagata da Seki *et al*¹⁶ che hanno valutato, con corneometria, l'effetto dei residui di cloro liberi nell'acqua. Gli autori hanno riscontrato che la capacità idroritentiva dei pazienti con DA era tanto minore quanto maggiore era la concentrazione di cloro nell'acqua; il dato suggerisce che il contatto con l'acqua clorurata potrebbe avere un ruolo nello sviluppo o nella esacerbazione della dermatite. Schoefer *et al*¹⁷ hanno invece studiato, su una popolazione di 2.192 bambini seguiti per 6 anni, le ripercussioni dell'epoca di inizio del nuoto sull'eventuale sviluppo di atopia (cutanea e mucosale), evidenziando che non vi è correlazione fra nuoto in età in-

fantile precoce e DA, al contrario di quanto avviene per l'asma. Altri studi¹⁸ hanno messo in luce l'effetto positivo dell'attività sportiva in pazienti con DA, in particolare se svolta in condizioni controllate con trainer "formati", supporto dermatologico e psicologico.

Scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'influenza dell'attività sportiva sull'andamento della DA in bambini e giovani adulti che praticano sport e l'influenza della DA sulla scelta del tipo di attività sportiva.

Materiali e metodi

Si tratta di uno studio trasversale caso-controllo su 285 bambini e giovani adulti, effettuato dalla Clinica dermatologica dell'Azienda ospedaliera universitaria di Verona nel 2010. Il gruppo dei casi è composto da 89 pazienti, 47 (52,8%) maschi e 42 (47,2%) femmine, con età compresa tra 5 e 25 (età media 18,5 +/- 1,2) anni, affetti da DA, diagnosticata secondo i criteri proposti da Hanifin e Rajka¹⁹. Il gruppo dei controlli è composto da 196 soggetti sani (da cui sono stati esclusi i soggetti con atopìa mucosale), 154 (78,6%) maschi e 42 (21,4%) femmine, di età compresa tra 5 e 25 anni (età media 15,7 +/- 1,8), afferenti all'ambulatorio di Medicina dello sport dell'Azienda ospedaliera universitaria di Verona. Tutti i soggetti sono stati invitati a compilare un questionario volto ad indagare: tipo ed intensità di sport praticato, presenza di DA in atto o anamnestica, esistenza di atopìa mucosale (asma e/o rinite allergica), problemi cutanei correlati all'attività sportiva, tra cui eventuale dermatite allergica da contatto (da calzature, indumenti o attrezzature). Nei soggetti con DA sono stati inoltre valutati: età d'insorgenza della dermatite, gravità clinica (lieve, moderata, severa in base alla valutazione dello SCORAD²⁰), correlazione tra attività sportiva ed aggravamento della malattia, possibile influenza della DA nella scelta dello sport, eventuali benefici derivanti dall'applicazione dei consigli del dermatologo sulla gestione della cute in corso di attività sportiva.

Risultati

Tra i pazienti affetti da DA, 81 (91,0%) hanno

avuto la prima manifestazione della dermatite in età compresa tra 0 e 5 anni, 5 pazienti (5,6%) dopo i 15 anni e 3 pazienti (3,4%) non sono stati in grado di riferire. La malattia era di tipo lieve in 28 (31,5%) pazienti, moderata in 45 (50,6%) e grave in 16 (17,9%).

Cinquantanove pazienti con DA (66,3%) praticavano un solo sport, i rimanenti 30 casi (33,7%) praticavano più di uno sport; diversamente, nel gruppo di controllo, 64 (32,7%) soggetti praticavano un solo sport, 132 (67,3%) ne praticavano più di uno. L'attività sportiva di tipo agonistico era riscontrata in 34 (38,2%) pazienti tra i casi e in 141 (71,9%) soggetti tra i controlli; nel 61,8% dei casi e nel 28,1% dei controlli la pratica sportiva era di tipo amatoriale.

Gli sport scelti sono risultati essere simili tra i due gruppi: in particolare, il calcio era lo sport più frequentemente praticato. Nel gruppo dei casi 35 pazienti (39,3%) praticava calcio, seguito da nuoto (17; 19,1%), pallavolo (15; 16,8%), danza classica (9; 10,1%), palestra (6; 6,7%), sci e corsa (5; 5,6%), basket (4; 4,5%), atletica leggera, rugby ed equitazione (3; 3,4%), karate e ciclismo (2; 2,5%) e infine pallamano, tai chi, ballo hiphop, motocross e tiro a segno con la carabina (1; 1,1%). Nel gruppo dei controlli il calcio era praticato da 121 pazienti (61,7%), seguito da basket (37; 18,9%), pallavolo (23; 11,7%), nuoto (18; 9,2%), sci (10; 5,1%), atletica leggera (4; 2,0%), tennis, ciclismo e trekking (3; 4,5%), danza e pallanuoto (2; 1,0%) e infine baseball, pattinaggio, corsa e tiro a segno (1; 0,5%).

La DA ha influenzato la scelta dell'attività sportiva solo in 3 dei casi (3,4%). Nel gruppo dei casi 51 pazienti (57,3%) hanno riportato problemi cutanei legati all'attività sportiva (figura 1). In particolare, 51 pazienti (57,3%) lamentavano prurito, 41 (46,1%) riferivano peggioramento della xerosi cutanea, 18 (20,2%) aggravamento dell'eczema, 5 (5,6%) intolleranza agli indumenti, 5 (5,6%) allergia da contatto ad indumenti o attrezzature ed infine 3 (3,4%) infezioni ricorrenti. Nel gruppo di controllo solo 7 (3,6%) soggetti hanno riferito problemi cutanei durante l'attività sportiva (figura 1): in particolare, 6 (3,1%) hanno lamentato prurito praticando calcio, basket, sci o nuoto, 2 (1,0%) hanno presentato xerosi cutanea mentre praticavano calcio e ginnastica artistica ed infine un paziente (0,5%) ha manifestato intolleranza agli indumenti sportivi praticando calcio.

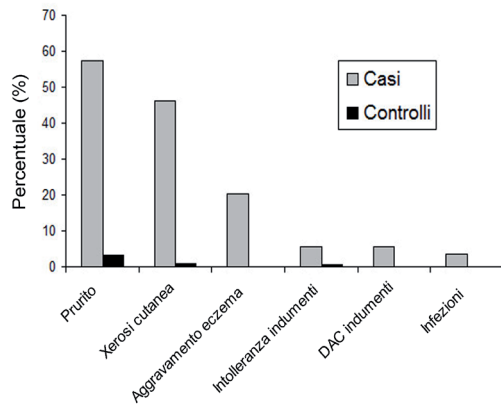


Figura 1 - Problemi cutanei a seguito dell'attività sportiva.

I problemi cutanei insorti durante la pratica delle diverse attività sportive in entrambi i gruppi sono riportati nella figura 2.

Quarantasei pazienti (51,7%) con DA hanno ricevuto consigli dal dermatologo oppure dal medico curante per la gestione dei problemi cutanei insorti durante l'attività sportiva, contro solo 10 soggetti (5,1%) del gruppo di controllo.

Discussione

Un primo importante risultato che emerge dal nostro studio è che la DA influenza la pratica dello sport: tra i nostri pazienti, quasi il 60% ha lamentato o presentato sintomi cutanei durante l'attività sportiva, contro il 3,6% dei controlli. Tuttavia questi non sembrano essere particolarmente invalidanti per i pazienti, visto che in nessun caso sono stati motivo di sospensione dell'attività sportiva. I sintomi maggiormente lamentati erano il prurito (presente nel 57,3% dei pazienti vs 3,1% dei controlli; $p < 0,001$) ed il peggioramento della xerosi cutanea (46,1% dei casi vs 1,0% dei controlli; $p < 0,01$). Entrambi erano riscontrati più frequentemente nei pazienti che praticavano calcio e nuoto.

Precedenti lavori clinici e strumentali con l'ausilio della corneometria hanno evidenziato come il nuoto rappresenti uno dei fattori in grado di causare aggravamento dell'eczema atopico, in quanto la capacità idroretentiva dello strato corneo dei soggetti con DA è maggiormente sensibile all'esposizione ai residui

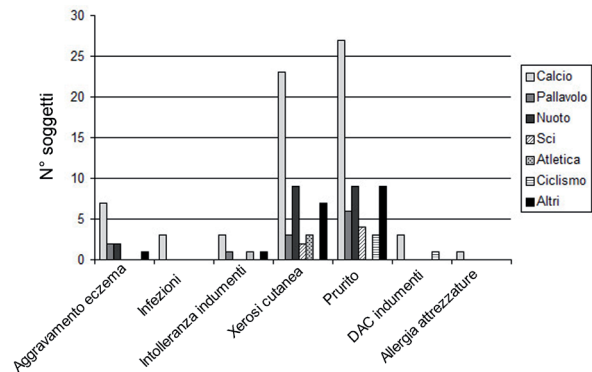


Figura 2 - Problemi cutanei e tipo di sport.

di cloro liberi rispetto ai controlli^{13,16}. Relativamente al calcio, vari fattori contribuiscono allo scatenamento dei sintomi nel paziente atopico: l'occlusione data dalle calzature e dall'utilizzo dei parastinchi¹⁴, la sudorazione e l'esposizione a vari livelli di temperature e di umidità ambientale¹².

Per quanto riguarda la sensibilizzazione da contatto, pur non essendo tra le manifestazioni prevalenti, è stata riscontrata nel 5,6% dei soggetti con DA e in nessuno dei controlli ($p = 0,001$).

La percentuale di pazienti nel gruppo dei controlli (71,9%) che praticavano sport agonistico è nettamente superiore a quella del gruppo dei casi (38,2%) ($p < 0,001$). Il dato suggerisce come la DA possa influenzare negativamente la pratica dello sport intenso che implica maggiore sudorazione¹⁵ e un più frequente e prolungato contatto con fattori stressanti ambientali. I maschi generalmente hanno preferenze sportive diverse dalle femmine, quali il calcio, ed esplicano attività più intensa; quanto detto è in accordo con i risultati dello studio per quanto riguarda il gruppo di controllo. Nel gruppo dei casi, la numerosità delle femmine che praticano sport è superiore a quella delle femmine sane (47,2% vs 21,4%; $p < 0,001$), dato che potrebbe suggerire una particolare attenzione alla cura dell'aspetto fisico in queste pazienti. Curioso è il fatto che pochi pazienti (3 soli nel gruppo dei casi e nessuno nel gruppo controlli) sia stato influenzato nella scelta dello sport dalla patologia cutanea.

Tra i pazienti atopici il 51,7% (vs 5,1%) ha riferito di aver ricevuto dal dermatologo

consigli su come trattare la cute prima e dopo l'attività sportiva. Questo ha dato modo ai pazienti di conciliare la pratica dello sport con la dermatite, consentendo loro di beneficiare non solo dei ben noti effetti positivi di tipo metabolico dello sport, ma di giovare anche di effetti positivi sull'umore che in un paziente affetto da DA si traducono in miglioramento soggettivo della sintomatologia, in particolare quella pruriginosa²¹. Studi in letteratura confermano inoltre come spesso questo benessere psicologico derivi soprattutto dalla pratica di sport di squadra^{11, 18}. Il dermatologo non deve quindi limitarsi alla prescrizione di una terapia farmacologica, ma deve essere in grado di consigliare il paziente come fronteggiare tutti quegli stimoli irritativi a cui la cute viene esposta. L'attento follow up della patologia infatti, consente ai pazienti non solo di continuare a praticare l'attività sportiva, ma anche di praticarla ai massimi livelli, come dimostrato dallo studio di Katelaris *et al*²² che ha evidenziato come molti atleti olimpici sono affetti da DA e che questa, quando è ben controllata, non influisce negativamente sulle prestazioni agonistiche.

In conclusione, una corretta gestione del paziente con DA implica l'attenzione non solo ad una adeguata terapia farmacologica, ma anche al benessere fisico e psichico del paziente al fine di migliorarne la qualità di vita. Dalla nostra esperienza risulta quindi importante incoraggiare i giovani pazienti a praticare attività sportiva.

Bibliografia

1. Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, et al. New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 3.
2. De Benedetto A, Agnihothri R, McGirt LY, et al. Atopic dermatitis: a disease caused by innate immune defects? *J Invest Dermatol* 2009; 129: 14.
3. Elias PM, Hatano Y, Williams ML. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1337.
4. Elias PM, Schmuth M. Abnormal skin barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2009; 9: 265.
5. Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunol Rev* 2011; 242: 233.
6. O'Regan GM, Sandilands A, McLean WH, et al. Filaggrin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 689.
7. Irvine AD, McLean I, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med* 2011; 365: 1315.
8. Weidinger S, Baurecht H, Wagenpfeil S, et al. Analysis of the individual and aggregate genetic contributions of previously identified serine peptidase inhibitor Kazal type 5 (SPINK5), kallikrein-related peptidase 7 (KLK7), and filaggrin (FLG) polymorphism to eczema risk. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 560.
9. Karamfilov T, Elsner P. Sports as a risk factor and therapeutic principle in dermatology. *Hautarzt* 2002; 53: 98.
10. Langan SM, Williams HC. What causes worsening of eczema? A systemic review. *Br J Dermatol* 2006; 155: 504.
11. Chatelain M, Vigan M, Vuitton DA, et al. Sport et dermatite atopique. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2001; 41: 313.
12. Langan SM, Bourke JC, Silcocks P, et al. An exploratory prospective observational study of environmental factors exacerbating atopic eczema in children. *Br J Dermatol* 2006; 154: 979.
13. Langan SM, Silcocks P, Williams HC. What causes flares of eczema in children? *Br J Dermatol* 2009; 161: 640.
14. Kobaly K, Somani AK, McCormick T, et al. Effects of occlusion on the skin of atopic dermatitis patients. *Dermatitis* 2010; 5: 255.
15. Parkkinen MU, Kiistala R, Kiistala U. Sweating response to moderate thermal stress in atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1992; 126: 346.
16. Seki T, Morimatsu S, Nagahori H, et al. Free residual chlorine in bathing water reduces the water-holding capacity of the stratum corneum in atopic skin. *J Dermatol* 2003; 30: 196.
17. Schoefer IY, Zutavern A, Brockow I, et al. Health risk of early swimming pool attendance. *Int J Hyg Environ Health* 2008; 211: 367.
18. Salzer B, Schuch S, Rupperecht M, et al. Group sports as adjuvant therapy for patients with atopic eczema. *Hautarzt* 1994; 45: 751.
19. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic eczema. *Acta Dermatovenereol (Stockh)* 1980; 92: 44.
20. Schram ME, Spuls PI, Leeftang MM, et al. EASI, (objective) SCORAD and POEM for atopic eczema: responsiveness and minimal clinically important difference. *Allergy* 2012; 67: 99.
21. Heyer GR, Hornstein OP. Recent studies of cutaneous nociception in atopic and non-atopic subjects. *J Dermatol* 1999; 26: 77.
22. Katelaris CH, Carrozzi FM, Burke TV, et al. Patterns of allergic reactivity and disease in olympic athletes. *Clin J Sport Med* 2006; 16: 401.

Dermatite da contatto occupazionale da resine metacriliche in odontotecnici

Antonio Cristaudo¹, Isabella Sperduti¹, Chiara Tartaglia², Alessandra Iorio¹,
Mirko Frasca¹ e Sergio Javicoli³

Riassunto. *Obiettivi:* scopi dello studio sono stati quelli di: valutare il rischio allergologico relativo all' esposizione ai metacrilati in odontotecnici, attraverso lo studio degli ambienti di lavoro e delle modalità di esposizione; individuare le manifestazioni cliniche delle lesioni osservate (localizzazione, morfologia, tempo di comparsa dall'inizio dell'attività lavorativa); analizzare le possibili sorgenti di sensibilizzazione; identificare gli allergeni responsabili di dermatiti allergiche da contatto; predisporre una serie specifica di resine acriliche, utile per l'esecuzione dei patch test; individuare possibili strategie preventive; valutare il rischio di reazioni allergiche agli acrilati in soggetti portatori di protesi odontoiatrica affetti da vari quadri di stomatite. *Materiali e metodi:* sono stati arruolati per lo studio 183 soggetti, 81 odontotecnici e 102 soggetti portatori di protesi odontoiatrica e con lesioni del cavo orale (gengiviti, dermatite periorale, cheilite, sindrome della bocca urente) per le quali era possibile ipotizzare una reazione allergica da metacrilati. Tutti sono stati sottoposti a patch test con serie "metacrilati". *Risultati:* 47 (58%) degli 81 odontotecnici presentavano dermatiti a morfologia clinica varia. Le sedi più frequentemente colpite risultavano essere mani, avambracci, volto e collo. Patch test positivo ad almeno uno degli allergeni della serie specifica testata era presente in 17/81 odontotecnici (21%) ed in 5/102 portatori di protesi odontoiatrica (4,9%). Tuttavia, reazioni positive a più allergeni erano osservate in 18 dei soggetti (81,8%). Gli allergeni più spesso positivi erano: 2-idrossietil metacrilato (2-HEMA), etilenglicole di metacrilato (EGDMA), metile metacrilato (MMA) e 2-idrossipropil metacrilato (2-HPMA). Si ritiene che reazioni positive al patch test nei soggetti portatori di protesi siano dovute ai monomeri che residuano per una incompleta o non ottimale polimerizzazione. *Conclusioni:* il nostro studio conferma la forte capacità sensibilizzante dei metacrilati in ambito occupazionale. Inoltre, suggerisce che l'adozione di misure di prevenzione primaria, come l'utilizzo di dispositivi di protezione individuale (guanti in nitrile) possa essere utile a prevenire nuovi casi di dermatiti da contatto.

Parole chiave: dermatite da contatto occupazionale, odontotecnici, resine metacriliche, patch test.

Summary. *Occupational contact dermatitis to methacrylic resins in dental technicians. Objectives:* the aims of this study were: to evaluate the risk of allergies following exposure to methacrylates among dental technicians; to identify the clinical manifestations of the lesions observed (location, morphology, time of onset); to identify the allergens responsible for allergic contact dermatitis; to investigate potential sources of exposure; to give up a specific series of acrylic resins for performing patch tests; and to identify possible preventive strategies. An additional objective was to evaluate the risk of allergic reactions to acrylates in individuals with dental implants and with various kinds of stomatitis. *Materials and methods:* this study involved 183 individuals: 81 dental technicians and 102 subjects with dental prostheses and stomatitis (gingivitis, perioral dermatitis, cheilitis, and burning mouth syndrome) for which it was possible to assume an allergic reaction to methacrylates. All patients were patch tested with methacrylates series. *Results:* of the 81 dental technicians, 47 (58%) presented various clinical features of dermatitis. The most frequently affected sites were the hands, forearms, face, and neck. Patch test was positive for at least one specific set of allergens in 22 individuals (17 dental technicians, 21%, and 5 persons with dental prostheses, 4.9%). In 18 of these (81.8%) the positive patch tests were multiple. The most frequently positive allergens were: 2-Hydroxyethyl methacrylate (2-HEMA), Ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA), Methyl methacrylate (MMA) e 2-Hydroxypropyl methacrylate (2-HPMA). *Discussion:* the positive reactions can be considered as cross-reactions due to the recruitment of T cells able to react to the different monomers because of their steric hindrance, molecular weight and polarity of the side chains, rather than co-sensitization. The positive reactions to patch tests in subjects with implants are probably due to residual monomers present because of an incomplete or suboptimal polymerization. *Conclusion:* our results confirm the high sensitizing potential of methacrylates in the work environment.

¹Ifo - Istituto Dermatologico San Gallicano IRCCS, Roma; ²Università Cattolica A. Gemelli, Roma; ³INAIL, Dipartimento Medicina del lavoro, Roma.

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

Il lavoro è stato presentato al X Congresso nazionale SIDAPA (Perugia, 4-6 novembre 2010).

Conflitto d'interesse: dichiarato assente dagli Autori.

Accettato per la pubblicazione il 6 febbraio 2012.

They also suggest that the adoption of primary preventive measures, such as the use of personal protective equipment (nitrile gloves), may be useful in preventing new cases of contact dermatitis. Gloves help avoid skin irritation which, by promoting the penetration of methacrylic monomers, can be considered the first step for allergic contact dermatitis.

Key words: occupational contact dermatitis, dental technicians, methacrylic resins, patch test.

Introduzione

Il D.Lgs. 81/2008¹, nel quadro dell'istituzione di un sistema di gestione organico della tutela della salute e della sicurezza dei lavoratori, prevede esplicitamente la necessità dell'individuazione e della valutazione dei fattori di rischio presenti negli ambienti di lavoro e l'eliminazione o la riduzione dei rischi stessi in base alle conoscenze tecnologiche disponibili, privilegiando la riduzione alla fonte.

La prevenzione delle allergopatie professionali richiede, pertanto, lo sviluppo di metodologie atte a fornire informazioni sull'entità e sulle modalità dell'esposizione alle diverse sostanze sensibilizzanti e l'approfondimento delle conoscenze sul rapporto esposizione/risposta, al fine di assicurare parametri di riferimento utili alla valutazione del rischio ed alla messa in atto di misure preventive. Relativamente alla sorveglianza sanitaria il decreto prevede il monitoraggio del rischio lavorativo attraverso controlli sanitari e biologici preassuntivi e periodici.

Acrilati e metacrilati costituiscono differenti categorie di sostanze chimiche che derivano dall'esterificazione degli acidi acrilici e metacrilici. La natura chimica e la reattività di questi prodotti varia considerevolmente a seconda dell'acido utilizzato per l'esterificazione. I metacrilati sono presenti in moltissimi prodotti, quali protesi dentarie, otturazioni dentarie, lenti a contatto, protesi ortopediche, preparati istologici, stampe a colori, vernici, cere per pavimenti, unghie artificiali²; i metacrilati, in particolare, sono le resine maggiormente utilizzate nei laboratori odontotecnici per la realizzazione e la riparazione di protesi dentarie^{3,4}. Le proprietà biologiche di queste sostanze comprendono: una buona biocompatibilità e il mantenimento della struttura e dell'integrità dentale⁵. L'uso di questi prodotti può provocare la comparsa di dermatiti da contatto, irritanti o allergiche, di cheiliti, e di differenti quadri di stomatiti, lesioni che si possono riscontrare sia in soggetti occupa-

zionalmente esposti, quali gli odontotecnici, sia in soggetti portatori di protesi dentarie^{3,6-8}.

Scopi di questo studio sono stati quelli di:

- a. valutare il rischio allergologico relativo all'esposizione ai metacrilati, in ambito occupazionale (odontotecnici), attraverso lo studio degli ambienti di lavoro (laboratori odontotecnici) e delle modalità di esposizione;
- b. individuare le caratteristiche cliniche delle lesioni osservate (localizzazione, morfologia, tempo di comparsa dall'inizio dell'attività lavorativa);
- c. analizzare le possibili sorgenti di sensibilizzazione;
- d. identificare gli allergeni che più frequentemente sono responsabili di dermatiti allergiche da contatto;
- e. predisporre una serie specifica di resine metacriliche, utile per l'esecuzione dei patch test;
- f. individuare possibili strategie preventive;
- g. valutare il rischio di reazioni allergiche ai metacrilati in soggetti portatori di protesi odontoiatrica e affetti da stomatiti di tipo diverso.

Materiali e metodi

Lo studio è stato svolto in due fasi. Durante la prima sono stati effettuati sopralluoghi conoscitivi negli ambienti di lavoro al fine di ottenere una preventiva conoscenza delle situazioni espositive nel loro complesso e di avere informazioni sull'ambiente di lavoro, sulle modalità operative e, quindi, indirettamente, sulla potenziale esposizione. In particolare, si è proceduto a: studio dei locali di lavoro, degli impianti e dei processi produttivi; individuazione, all'interno del ciclo produttivo delle fasi in cui vengono utilizzati gli allergeni oggetto dello studio; individuazione, all'interno delle fasi, dei momenti con possibile esposizione agli allergeni; individuazione delle operazioni e delle postazioni di lavoro comportanti per il personale rischio di esposizione agli allergeni.

Durante la seconda fase è stato condotto lo studio clinico dermato-allergologico mediante: reclutamento dei soggetti esposti; esame clinico; valutazione dello stato atopico attraverso l'esecuzione di prick test con aeroallergeni; preparazione di serie specifiche di allergeni utilizzando le sostanze precedentemente identificate negli ambienti di lavoro; esecuzione di patch test saggiando la serie di allergeni da noi allestita (tabella I) (F.I.R.M.A., Firenze; Chemotechnique, Vellinge, Svezia), in accordo con i criteri proposti da SIDAPA (Società Italiana di Dermatologia Allergologica Professionale e Ambientale)⁹; analisi statistica dei dati ottenuti.

Casistica

Sono stati arruolati nello studio 183 soggetti che sono stati suddivisi in 2 gruppi: 81 odontotecnici (56 maschi, 25 femmine, di età media 32 anni) e 102 soggetti portatori di protesi odontoiatrica e con lesioni del cavo orale quali (stomatite, gengiviti, dermatite periorale, cheilite, sindrome della bocca urente) per cui era possibile ipotizzare una reazione allergica da metacrilati (62 maschi, 40 femmine, di età media 47 anni).

Analisi statistica

Sono state calcolate statistiche descrittive per tutte le variabili d'interesse per le varia-

bili categoriche sono state determinate le frequenze assolute e i relativi valori percentuali, mentre per le variabili continue le mediane e il range.

L'associazione tra atopia e risultati dei patch test e i confronti tra risultati del patch test negli odontotecnici e nei portatori di protesi sono stati effettuati utilizzando test non parametrici, quali il chi-quadro di Pearson e il test esatto di Fisher. Per i confronti tra le variabili quantitative sono stati utilizzati sia il test parametrico t di Student sia il test non parametrico U di Mann-Whitney. Sono stati calcolati gli Odds Ratio (OR) e i corrispondenti intervalli di confidenza al 95% per le variabili più rilevanti.

Tutte le analisi statistiche sono state eseguite mediante il software statistico SPSS (versione 18.0).

Risultati

I sopralluoghi eseguiti in studi odontotecnici di media grandezza hanno consentito di valutare l'esposizione ai metacrilati durante l'attività lavorativa ed in particolare di precisare le modalità di utilizzo delle sostanze ed i tempi di preparazione del materiale. Le modalità di esposizione possono essere sintetizzate come segue.

La preparazione della resina avveniva mescolando due componenti: una polvere e un liquido. La polvere, di colore bianco o rosa, era contenuta in barattoli di plastica chiusi con tappo a vite ed era costituita da metile, etile e butile metacrilato, un catalizzatore, (che di solito era benzoin perossido), pigmenti, coloranti ed opacizzanti.

La miscelazione dei due componenti avveniva in una cuvetta di gomma. Prima era versato il liquido e poi era aggiunta la polvere prelevata con una spatolina. Con questa ultima veniva amalgamato il composto fino a farlo divenire della consistenza voluta (consistenza pastosa). Durante questa fase l'esposizione ai metacrilati era notevole, in relazione alla natura dei composti.

Utilizzo della resina per la realizzazione della protesi o per la riparazione

Quando la resina aveva raggiunto la consistenza voluta, questa veniva posta, in piccole

Tabella I - Allergeni testati mediante patch test nella casistica esaminata.

| Allergene | Concentrazione (%)* |
|-----------------------------------|---------------------|
| 1. Etile metacrilato | 2 |
| 2. Metile metacrilato | 5 |
| 3. 2-Idrossietile metacrilato | 5 |
| 4. 2-Idrossipropile metacrilato | 2 |
| 5. Etilenglicole dimetacrilato | 2 |
| 6. Trietilenglicole dimetacrilato | 2 |
| 7. 1,4-Butandiol dimetacrilato | 2 |
| 8. Tetraidrofurfuril metacrilato | 2 |
| 9. Uretano dimetacrilato | 2 |
| 10. Etile metacrilato | 2 |
| 11. Etile acrilato | 1 |
| 12. 2-Etilsil acrilato | 0,5 |
| 13. N-Butile metacrilato | 2 |
| 14. 2-Idrossipropil acrilato | 0,1 |
| 15. 1,4-Butandiol diacrilato | 0,1 |
| 16. 1,6 Esandiol diacrilato | 0,1 |
| 17. Dietilenglicole diacrilato | 0,1 |
| 18. 2-Idrossietile acrilato | 0,1 |
| 19. Trietilenglicole diacrilato | 0,1 |
| 20. Butile acrilato | 1 |

* in vaselina

quantità, nell'impronta al fine di realizzare la protesi stessa (zeppatura). In alcuni casi, per rifinire la zeppatura, veniva utilizzato il dito bagnato con la resina all'interno della cuvetta (figura 1).

Le stesse procedure erano eseguite durante i processi di riparazione delle protesi, spandendo la resina con il dito. La resina che restava nelle cuvette non utilizzata si induriva e veniva tolta con una spatolina.

Polimerizzazione della resina

La polimerizzazione della resina poteva avvenire a caldo, a freddo o per fotoesposizione.

Fresatura

Una volta indurita, la protesi veniva rifinita con piccole frese. Durante questa operazione, si liberava una polvere costituita da resine polimerizzate e anche monometriche, che si depositava sulle mani dell'operatore. In questo caso l'esposizione alla resina avveniva sia per contatto cutaneo diretto che aero-trasmesso (figura 2).

Intarsi

Anche nella realizzazione degli intarsi si utilizzavano metacrilati, ma in questo caso le resine erano già miscelate ed erano contenute in un dosatore a matita che, in seguito a pressione, permetteva la fuoriuscita della quantità desiderata di resina.

Sono state osservate varie forme di dermatiti (ipercheratosico-ragadiforme, disidrosiforme, airborne contact dermatitis) in 47 degli 81 odontotecnici (58,1%). Le sedi più colpite

erano mani (52%), avambracci (27%), volto e collo (12%).

Patch test positivo ad almeno uno degli allergeni della serie "metacrilati" era presente in 22 soggetti (12,1%) ed in particolare in 17/81 odontotecnici (20,9%) ed in 5/102 portatori di protesi odontoiatrica (4,9%). In 18 di questi (81,8%) erano osservate reazioni positive a più allergeni.

Gli allergeni responsabili di reazioni positive al patch test sono elencati nella tabella II.

E' risultata un'associazione statisticamente significativa tra diversa esposizione ai metacrilati e risultati dei patch test: il 21% degli odontotecnici (esposizione occupazionale) risulta positivo, versus il 4,9% dei portatori di protesi (esposizione non occupazionale) ($p=0,001$) (figura 3). Gli odontotecnici con patch test positivo (figura 4) hanno una anzianità lavorativa più bassa (mediana 2 anni) rispetto ai soggetti con patch test negativo (mediana 10 anni).

Nella tabella III sono riportati gli OR di avere un risultato positivo al patch test relativamente a diversa esposizione, anzianità lavorativa e sesso. In particolare, gli odonto-

Tabella II - Reazioni positive ai patch test.

| Allergeni | No. | % |
|-----------------------------|-----|------|
| 2-Idrossietil metacrilato | 17 | 77,2 |
| Etilenglicole dimetacrolato | 16 | 72,7 |
| Metile metacrilato | 14 | 63,6 |
| 2-Idrossipropil metacrilato | 12 | 54,5 |
| 2-Idrossietil acrilato | 9 | 40,9 |
| Butile metacrilato | 8 | 36,3 |
| Etile metacrilato | 7 | 31,8 |
| Trietilenglicole diacrilato | 6 | 27,2 |
| Etile acrilato | 5 | 22,7 |



Figura 1 - Rifinitura del materiale protesico.



Figura 2 - Fresatura del materiale protesico.

tecniche hanno un rischio di avere un patch test positivo 5 volte superiore rispetto ai portatori di protesi. E' inoltre presente una riduzione del rischio di sensibilizzazione in rapporto all' aumento dell' anzianità lavorativa, mentre relativamente al sesso, quello maschile non rappresenta un rischio di sensibilizzazione. Per quanto riguarda i soggetti atopici, non è emersa differenza statisticamente significativa tra gli allergici ai metacrilati ed i non allergici ($p=0,99$).

Discussione

I nostri dati confermano l'aumentata incidenza delle dermatiti allergiche da contatto indotte da metacrilati, già descritta da altri Autori¹⁰⁻¹⁴, e sottolineano che il rischio di sensibilizzazione è più alto in ambiente lavorativo, in particolare in quello artigianale, dove il lavoro viene svolto a mani nude senza l'utilizzo di mezzi di prevenzione.

Negli odontotecnici la maggiore esposizione ai metacrilati, nella loro forma monomeric, avviene nella fase di preparazione della resina e nella fase di zeppatura: durante queste attività, la polimerizzazione non è ancora avvenuta o è incompleta e l'esposizione può avvenire sia per contatto cutaneo diretto, in quanto spesso si utilizzano le dita per spandere il composto, sia per inalazione di composti aero-dispersi. Durante la realizzazione degli intarsi, invece, il rischio di esposizione è molto basso, anche se, in alcuni casi, si utilizza il dito per spandere la resina.

Le manifestazioni, nei soggetti professionalmente esposti, compaiono generalmente subito dopo l'inizio dell'attività lavorativa: all'esordio il quadro clinico è di tipo irritativo ed è caratterizzato da secchezza cutanea localizzata alle dita delle mani. Queste lesioni,

Tabella III - Reazioni positive ai patch test: odontotecnici vs portatori di protesi

| | OR (CI95%) | p |
|---------------------|------------------|-------|
| Variabili: | 5,15 (1,81-14,7) | 0,002 |
| Anzianità di lavoro | 0,70 (0,55-0,89) | 0,003 |
| Sesso maschile | 1,76 (0,65-4,73) | 0,26 |

in genere, scompaiono in breve tempo, dopo l'allontanamento dal lavoro. Il continuare l'attività lavorativa, in assenza di utilizzo di mezzi di prevenzione, porta successivamente allo sviluppo di un tipico quadro clinico caratterizzato da xerosi, cheratosi e lesioni ragadiformi, localizzate prevalentemente sulla superficie flessoria e laterale delle prime tre dita della mano destra.

Gli allergeni che più frequentemente hanno dato reazioni positive al patch test sono stati: 2-idrossietil metacrilato (2-HEMA), etilenglicole dimetacrilato (EGDMA), metile metacrilato (MMA) e 2-idrossipropil metacrilato (2-HPMA).

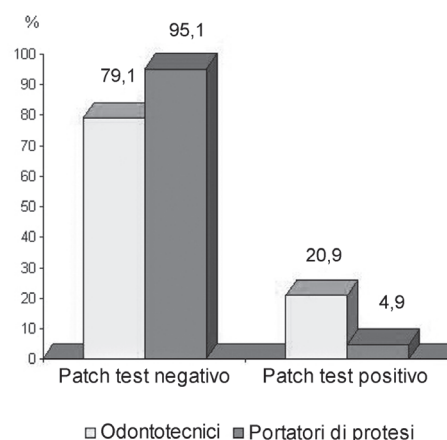


Figura 3 - Risultati dei patch test in rapporto all'esposizione professionale (odontotecnici) e non (portatori di protesi).

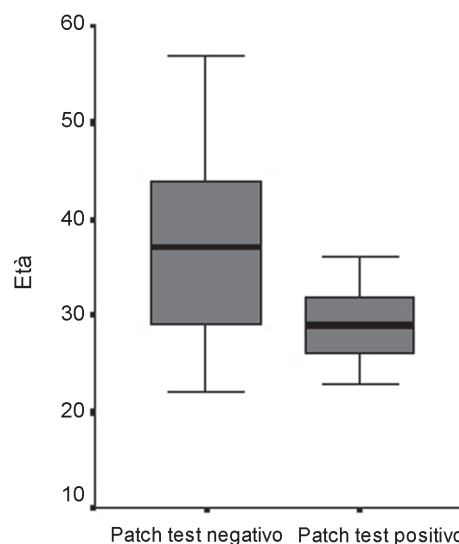


Figura 4 - Risultati dei patch test in rapporto all'anzianità lavorativa.

I primi 2 allergeni sono risultati ugualmente frequenti in altri studi europei che prendevano in considerazione soggetti occupazionalmente esposti a metacrilati presenti in prodotti dentali¹⁴⁻¹⁶.

Altri allergeni, presenti nella serie specifica da noi saggiata e risultati positivi al patch test, sono stati: etile metacrilato (EMA), trietilenglicole diacrilato (TREGDA), trietilenglicole di metacrilato (TREGDMA), dietilenglicole diacrilato (DEGDA), etile acrilato (EA), 1,4-butanediolo di metacrilato (BUDMA) e 1,6-esandiolo diacrilato (HDDA).

Il nostro studio, inoltre, ha confermato che nei pazienti allergici ai metacrilati è frequente il riscontro di 2 o più positività. I pazienti probabilmente, non sono esposti a tutti gli allergeni risultati positivi, anche se non sempre è possibile stabilire la storia espositiva individuale ai vari monomeri presenti nei materiali dentali in quanto il paziente utilizza, durante l'attività lavorativa, differenti prodotti nei quali possono essere contenuti, spesso come contaminanti, monomeri metacrilici non dichiarati. E' probabile, quindi, che la maggior parte delle reazioni multiple derivi da una reazione crociata tra monomeri metacrilici. Infatti, in studi su animali è stato dimostrato che la sensibilizzazione a MMA o a 2-HEMA porta ad una forte reazione a EGDMA¹⁷. Pertanto, la frequente sensibilizzazione a EGDMA può derivare da una reazione crociata con 2-HEMA o con MMA.

Non deve essere sottovalutato anche il fatto che EGDMA viene degradato enzimaticamente in monomeri (ed in particolare in HEMA) in quantità sufficienti ad elicitare una risposta T cellulare¹⁷. L'allergene 2-HPMA era positivo in 12 pazienti, ma tutti reagivano anche a 2-HEMA. In studi su animali il composto 2-HEMA ha indotto una forte reazione crociata con 2-HPMA; pertanto, considerando anche l'alto numero di soggetti positivi a 2-HPMA, si può ipotizzare che la maggior parte delle reazioni positive derivi da una reazione crociata con 2-HEMA^{4,17}. E' probabile, infine, che alcune reazioni positive multiple derivino da un reclutamento di cellule T in grado di reagire verso diversi monomeri a causa del loro ingombro sterico, del peso molecolare e della polarità delle catene laterali¹⁷.

Come anche dimostrato dalla nostra indagine conoscitiva, nei laboratori odontotecnici MMA costituisce un'importante sostanza

utilizzata nella realizzazione delle protesi odontoiatriche; pertanto, non risulta sorprendente che nel nostro studio la percentuale di pazienti con patch test positivo a MMA sia più alta rispetto ad altri studi dove vengono presi in considerazione dentisti o igienisti dentali⁴. Sebbene la reazione a MMA, come precedentemente sottolineato, può derivare da una reazione crociata con 2-HEMA, i nostri risultati supportano anche l'ipotesi alternativa che le reazioni a MMA risultino da una vera e propria sensibilizzazione.

EMA era tra gli allergeni più frequentemente positivi, ma le reazioni erano usualmente associate con reazioni ad altri monomeri metacrilici, in particolare a MMA. Anche in questo caso una vera sensibilizzazione non può essere esclusa, per la presenza di questa sostanza nei materiali utilizzati dai pazienti, ma una reazione crociata con MMA può essere ipotizzata per la positività a EMA.

La nostra indagine ha dimostrato che gli odontotecnici sono esposti prevalentemente ai metacrilati; pertanto, le positività ai monomeri acrilici riscontrate in alcuni pazienti possono essere considerate come delle reazioni crociate, a conferma di quanto ipotizzato da altri Autori¹⁴. Ciò nonostante non deve essere trascurata la possibile presenza di impurità nel materiale aptenico per patch test¹⁸.

Le reazioni positive al patch test nei soggetti portatori di protesi sono probabilmente dovute ai monomeri che residuano per una incompleta o non ottimale polimerizzazione, potendosi considerare come possibili responsabili delle manifestazioni cliniche quali stomatiti, dermatiti periorali e della sindrome della bocca urente^{8,19}.

Per proteggere le mani dai vari composti metacrilici è necessario l'utilizzo di mezzi di prevenzione individuali quali i guanti. E' stato dimostrato che MMA, così come altri monomeri acrilici, penetra rapidamente attraverso i guanti di gomma e di vinile, mentre i guanti di polietilene conferiscono una migliore protezione, ma hanno l'inconveniente di essere poco elastici e perforabili. I più adeguati a scopo preventivo sembrano quindi i guanti in nitrile²⁰.

Conclusioni

In conclusione il nostro studio conferma la

forte capacità sensibilizzante dei metacrilati in ambiente occupazionale, quale quello degli odontotecnici, dove è presente una notevole esposizione a questi elementi, sia in forma di monomeri aerodispersi sia per contatto cutaneo diretto. Tali sostanze si liberano soprattutto durante le operazioni di miscelazione, zeppatura e fresatura. Inoltre, suggerisce che l'adozione di misure di prevenzione primaria, come l'utilizzo di dispositivi di protezione individuale (guanti in nitrile), può essere utile a prevenire nuovi casi di dermatiti da contatto evitando in particolare l'irritazione cutanea che, promuovendo la penetrazione dei monomeri, può essere considerata il primo gradino della dermatite allergica da contatto.

Bibliografia

1. D.Lgs. n.81 del 09/04/2008. Attuazione dell'articolo 1 della legge 3 agosto 2007, n. 123, in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro. Pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n.101 del 30.4.2008.
2. Björkner B. Acrylic resins. In: Kanerva L, Elsner P, Wahlberg JE (eds). Handbook of occupational dermatology. Berlin: Springer-Verlag, 2000: 562.
3. Henriks-Eckerman ML, Suuronen K, Jolanki R, et al. Methacrylates in dental restorative materials. *Contact Dermatitis* 2004; 50: 233.
4. Aalto-Korte K, Alanko K, Kuuliala O, et al. Methacrylate and acrylate allergy in dental personnel. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 324.
5. Ilie N, Hickel R. Resin composite restorative materials. *Austr Dental J* 2011; 56 (suppl 1): 59.
6. Kanerva L, Lahtinen A, Toikkanen J, et al. Increase in occupational skin disease of dental personnel. *Contact Dermatitis* 1999; 40: 104.
7. Wrangsjö K, Swartling C, Meding B. Occupational dermatitis in dental personnel: contact dermatitis with special reference to (meth)acrylates in 174 patients. *Contact Dermatitis* 2001; 45: 158.
8. Torgerson RR, Davis MD, Bruce AJ, et al. Contact allergy in oral disease. *J Am Acad Dermatol* 2007; 57: 315.
9. Angelini G, Bonamonte D, Cristaudo A, et al. Linee guida SIDAPA su Dermatite da contatto. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2009; 63: 43.
10. Kanerva L, Alanko K, Estlander T, et al. Statistics on occupational contact dermatitis from (meth)acrylates in dental personnel. *Contact Dermatitis* 2004; 42: 175.
11. Diepgen TL, Kanerva L. Occupational skin diseases. *Eur J Dermatol* 2006; 6: 324.
12. Meding B, Wrangsjö K, Hosseiny S, et al. Occupational skin exposure and hand eczema among dental technicians - need for improved prevention. *Scand J Work Environ Health* 2006; 32: 219.
13. Goon AT, Bruze M, Zimerson E, et al. Screening for acrylate/methacrylate allergy in the baseline series: our experience in Sweden and Singapore. *Contact Dermatitis* 2008; 59: 307.
14. Aalto-Korte K, Henriks-Eckerman M, Kuuliala O, et al. Occupational methacrylate and acrylate allergy - cross-reactions and possible screening allergens. *Contact Dermatitis* 2010; 63: 301.
15. Geukens S, Goossens A. Occupational contact allergy to (meth)acrylates. *Contact Dermatitis* 2001; 44: 153.
16. Goon AT, Isaksson M, Zimerson E, et al. Contact allergy to (meth)acrylates in the dental series in southern Sweden: simultaneous positive patch test reaction patterns and possible screening allergens. *Contact Dermatitis* 2006; 57: 324.
17. Rustemeyer T, de Groot J, von Blomberg BM, et al. Cross-reactivity patterns of contact-sensitizing methacrylates. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998; 148: 83.
18. Henriks-Eckerman ML, Kanerva L. Gas chromatographic and mass spectrometric analysis of acrylates and methacrylates used as patch test substances. *Am J Contact Dermatitis* 1997; 8: 20.
19. Kanerva L, Alanko K. Stomatitis and perioral dermatitis caused by epoxy diacrylates in dental composite resins. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 116.
20. Thomas S, Padmanabhan TV. Methyl methacrylate permeability of dental and industrial gloves. *N Y State Dent J* 2009; 75: 40.

Notiziario

Estratti dai verbali del Consiglio direttivo della Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e Ambientale (SIDAPA)

Roma, 21 gennaio 2011

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- richiedere all'Editore della rivista Dermatitisi l'invio di un contratto relativo al rinnovo per l'anno 2011;
- partecipare al Congresso nazionale SIDeMaST 2011 di Verona con contributi su "Attualità su cute ed inquinamento biotico indoor" (Luca Stingeni) e "Dermatite da contatto da medicinali topici: attualità" (Monica Corazza);
- inviare ai Membri del Consiglio Direttivo SIDAPA la proposta di aggiornamento della Serie standard SIDAPA (a cura di Nicola Balato, Rosella Gallo e Luca Stingeni);
- elargire un contributo economico di euro 2.000 ai progetti di ricerca: a) "Incidenza e tipologia degli effetti indesiderati derivanti da cosmetici contenenti prodotti naturali" (a cura di Monica Corazza); b) "Inchiesta epidemiologica sulle dermatiti da contatto" (a cura di Paolo D. Pigatto);
- rinnovare la gestione del sito internet SIDAPA. Allo scopo il Presidente *pro-tempore* riferisce di aver interpellato 2 ditte informatiche; viene affidato a Nicola Balato e Rosella Gallo mandato di interpellare altre società al riguardo.

Il Tesoriere presenta il bilancio consuntivo dell'esercizio finanziario dell'anno 2010, che viene approvato all'unanimità.

Sorrento (NA), 1 aprile 2011

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- definire e approvare la struttura definitiva dello spazio SIDAPA in occasione dell'86° Congresso Nazionale SIDeMaST (giovedì 19 maggio 2011);
- approvare la versione definitiva della nuova serie standard SIDAPA 2011;

Serie standard SIDAPA 2011

| Allergeni | % | Allergeni | % |
|--------------------------------------|------|--|-----|
| Profumi mix II* | 14 | Mercaptobenzotiazolo | 2 |
| Tiuram mix | 1 | Resina <i>p-ter</i> -butilfenolformaldeidica | 1 |
| Potassio bicromato | 0,5 | Nichel solfato | 5 |
| Balsamo del Perù | 25 | Idrocortisone 21-acetato | 1 |
| Fenilpropil <i>p</i> -fenilendiamina | 0,1 | Profumi mix sorbitan sesquioleato | 8 |
| Kathon CG** | 0,01 | Disperso blu 124 | 1 |
| <i>p</i> -Fenilendiamina base | 1 | Parabeni mix | 16 |
| Lanolina alcoli | 30 | Benzocaina | 5 |
| Colofonia | 20 | Cobalto cloruro | 1 |
| Neomicina solfato | 20 | Dibromodicianobutano | 0,3 |
| Budesonide | 0,01 | Lyril® | 5 |
| Resina epossidica | 1 | Mercaptobenzotiazolo mix | 2 |
| Formaldeide** | 1 | Vaselina | |

* lyril 2,5%, citral 1%, farnesolo 2,5%, citronellolo 0,5%, esil cinnamaldeide 5%, cumarina 2,5%; ** in acqua

- richiedere all'attuale gestore del sito internet SIDAPA l'adeguamento economico del preventivo presentato nell'anno 2008 e, nel caso di diniego o non risposta dello stesso, affidare la gestione del sito al Sig. Roberto Galli (Napoli);
- attivare il progetto di ricerca "Incidenza e tipologia degli effetti indesiderati derivanti da cosmetici contenenti prodotti naturali" (a cura di Monica Corazza), sollecitando l'inoltro delle richieste ai Comitati etici dei vari Centri aderenti;
- testare in Centri "selezionati" e in pazienti consecutivi apteni emergenti o riemergenti, quali metil-sotiazolinone (0,2% in acq), formaldeide (2% in acq), bronopol (2% vas), dimetilol dimetil idantoina (2% vas), imidazolidinilurea (1% vas), diazolidinilurea (2% vas), quaternium 15 (1% vas) (a cura di Rosella Gallo e Luca Stingeni).

Bari, 28 settembre 2011

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- rinnovare l'abbonamento alla rivista "Dermatitis" per l'anno 2012;
- affidare la gestione del sito internet SIDAPA al Sig. Roberto Galli;
- affidare l'organizzazione del 12° Congresso nazionale SIDAPA a Paolo Pigatto;
- proporre le ricandidature di Monica Corazza e Rosella Gallo per le elezioni (29 settembre 2011) del Consiglio direttivo SIDAPA del prossimo triennio. Il Consigliere Rossano Hermes Valsecchi non presenta la propria candidatura per il prossimo mandato;
- incentivare le proposte di progetti di ricerca (preferibilmente a livello europeo) da retribuire con un contributo di euro 15.000 ciascuno e proporre l'organizzazione di corsi di aggiornamento rivolti a specializzandi in Dermatologia e venerologia e corsi di aggiornamento post-laurea in Dermatologia allergologica (entrambe le proposte a cura di Paolo Lisi).

Il Tesoriere presenta il bilancio preventivo dell'esercizio finanziario dell'anno 2012, che viene approvato all'unanimità.

Roma, 2 dicembre 2011

Dopo ampia discussione è stato deliberato di:

- approvare il progetto di organizzazione del sito internet SIDAPA (il cui responsabile si identificherà nella figura del Presidente) presentato dal Sig. Roberto Galli; lo stesso sarà affiancato da Massimiliano Nino nella stesura della proposta da presentare ai Membri del Consiglio direttivo;
- continuare a sostenere il progetto di ricerca "Tessile e salute";
- tenere il 12° Congresso nazionale SIDAPA a Stresa (VB) dal 28 al 30 giugno 2012;
- creare nella home page del sito www.sidapa.org un link con la rivista "Annali Italiani di Dermatologia Allergologica, Clinica e Sperimentale";
- organizzare e formalizzare una proposta organica di corsi monotematici in tema di Dermatologia allergologica (a cura di Paolo Lisi);
- bandire per l'anno 2012 altri 2 assegni di ricerca SIDAPA (da euro 15.000), regolamentati da bando di concorso da inviare a tutti gli iscritti della società;
- attribuire un contributo economico, da quantificare successivamente, ai centri aderenti allo "Studio epidemiologico sulle dermatiti da contatto";
- affidare l'organizzazione del 14° Congresso nazionale SIDAPA (2014) a Paolo Lisi.

Congressi

13-16 giugno 2012

11th Congress of the European Society of Contact Dermatitis (ESCD)
Malmö, Luftkastellet i Slagthuset
Presidente: Magnus Bruze
Segreteria organizzativa: Destination Öresund
Fersens Väg 18
SE-211 42 Malmö, Sweden
tel: +46 40 300 665; fax: +46 40 918 952
e-mail: escd2012@destinationoresund.com
www.escd2012.com

28-30 giugno 2012

12° Congresso nazionale della Società Italiana di Dermatologia Allergologica, Professionale e Ambientale (SIDAPA)
Stresa, Centro Congressi
Presidente: Paolo Daniele Pigatto
Segreteria organizzativa: SGC Congressi,
Via Salvo d'Acquisto 73, 81031 Aversa (CE)
tel: 0818154619; fax: 0815044177
e-mail: info@sgccongressi.it
www.sgccongressi.it

19-22 settembre 2012

42nd Annual European Society for Dermatological Research
Venezia, Palazzo del Casinò
Presidenti: Antonio Costanzo, Carlo Pincelli
Segreteria organizzativa: The Office srl
Via San Nicolò 14, 34121 Trieste
Tel: +39 040 368343; fax: +39 040 368808
e-mail: esdr2012@theoffice.it
www.theoffice.it

27-30 settembre 2012

21st Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology
Prague, Congress Centre
Presidente: Andris Rubins
Segreteria organizzativa: EADV Headquarters
Via delle Scuole 12 - 6900 Lugano/Switzerland
tel: +41 91 973 45 20; fax: +41 91 973 45 30
e-mail: info@eadvprague2012.org
www.eadvprague2012.org

6 ottobre 2012

Il dermatologo, l'allergologo ed il pediatra: 3 esperienze a confronto
Bari, Villa Romanazzi
Presidente: Caterina Foti
Segreteria organizzativa: Quality Congress srl
Via Garibaldi 62, 00153 Roma
tel/fax: 06 66 51 46 70; fax: 06 23 32 69 77
www.qualitycongress.it

10-13 ottobre 2012

51° Congresso nazionale ADOI
Assisi, Centro Congressi
Presidenti: Stefano Simonetti, Gian Marco Tomasini
Segreteria organizzativa: Italymeeting srl.
Via Parsano 6/b - 80067 Sorrento (NA)
tel: + 39 081 8073525 - 0818784606; fax + 39 0818071930
e-mail: assisi2012@italymeeting.it
www.adoiassisi2012.it

21-24 novembre 2012

87° Congresso Nazionale della Società Italiana di Dermatologia medica, chirurgica, estetica e delle Malattie Sessualmente Trasmesse (SIDeMaST)
Roma, Palazzo dei Congressi
Presidenti: Ketty Peris, Pasquale Frascione
Segreteria organizzativa: Triumph Congressi
Via Lucilio 60, 00136 Roma
tel: 06355301; fax: 0635530250
e-mail: dermatologia2012@triumphgroup.it
www.triumphgroup.it

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 allergologica, 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:

Prof. Paolo Lisi

Annali italiani di Dermatologia allergologica, clinica e sperimentale
Sezione di Dermatologia clinica, allergologica e venereologica,
Polo ospedaliero-universitario Santa Maria della Misericordia,
Sant'Andrea delle Fratte, 06156 Perugia
(tel.: 075.5783881; fax: 075.5783452)

o tramite posta o via e-mail (dermalam@unipg.it).

Nel caso di invio on line, si prega di salvare il testo in rich text format (rtf) (usare la funzione salva con nome e selezionare il file rich text format).

La pubblicazione degli articoli è subordinata al giudizio del Comitato editoriale che 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 in cui si precisa che il lavoro è inedito, che non è stato inviato ad altra rivista e che, se accettato, la sua proprietà sarà ceduta alla Casa editrice. Tale dichiarazione dovrà essere firmata da tutti gli Autori del lavoro e trasmessa tramite fax alla Direzione della rivista. 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 dovranno essere redatti con interlinea doppia e con margini di almeno 2,5 cm, su foglio di formato ISOA4.

Se inviati tramite posta, oltre alla copia cartacea, dovrà essere allegata quella su compact disc o floppy disk da 3.5"; dove possibile, sono preferibili floppy disk high density o double sided. I file possono essere redatti in Word, Winword, Wordstar, Word Perfect ed Open Office. 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).

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 comunicazioni 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. È 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 inviati tramite compact disc in formato JPeg. 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. 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 citate nel testo con numerazione araba, ad apice, senza parentesi. Le stesse devono essere elencate nella sezione Bibliografia nell'ordine con cui sono state riportate nel testo, con numerazione araba, seguita da un punto. In caso di citazioni bibliografiche multiple nello stesso punto del testo, queste devono comparire in ordine crescente di anno e, in caso di più citazioni dello stesso anno, in ordine alfabetico. La bibliografia deve essere redatta secondo le regole dell'Index Medicus, a cui occorre atterrarsi anche per le abbreviazioni del titolo delle Riviste (cfr. List of Journals Indexed in Index Medicus, aggiornata ogni anno).

È 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:

Thyssen JP, Johansen JD, Menné T. Contact allergy epidemics and their controls. *Contact Dermatitis* 2007; 56: 185.

Bonamonte D, Foti C, Mundo L, et al. La rilevanza clinica nella dermatite allergica da contatto: proposta di scoring. *Ann Ital Dermatol Allergol* 2006; 60: 41.

Ayala F, Lisi P, Monfrecola G. Malattie cutanee e veneree. Padova: Piccin Nuova Libreria, 2007; 313.

Lisi P, Stingeni L. I corticosteroidi. In: Pigatto P, Zerboni R (ed). *Dermatiti da contatto da cosmetici e farmaci topici*. Pavia: Selecta Medica, 2004; 81.

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.

desamix effe

0,3% + 1% crema
desametasone+clotrimazolo



antiinfiammatorio
antifungino
antibatterico

● Attivo contro staphilococcus aureus
streptococcus pyogenes

RIASSUNTO DELLE CARATTERISTICHE DEL PRODOTTO

1. DENOMINAZIONE DEL MEDICINALE

DESAMIX EFFE 0,3% + 1% CREMA

2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA

100 g di crema contengono: Principi attivi: DESAMETASONE 0,3 g, CLOTRIMAZOLO 1,0 g.

Eccipienti: contiene alcool cetilico.

3. FORMA FARMACEUTICA: Crema.

4. INFORMAZIONI CLINICHE

4.1 Indicazioni terapeutiche:

A scopo preventivo e curativo di infezioni sovrapposte, in tutte le malattie cutanee, per le quali è indicata una terapia topica steroidea.

In tutte le micosi superficiali primitive o secondarie, sostenute da Epidermofyton, Trichophyton, Microsporum, Candida e Malassezia furfur: tinea pedis (piede d'atleta), tinea corporis, tinea inguinalis (eczema marginato di Hebra), candidosi (intertrigini inguinali, sottomammare, ascellari, interdigitali, boccarola), pityriasis versicolor. Nelle piodermiti primitive (impetigine, ostiofollicoliti, intertrigini).

Nell'eritrasma (inguinale, ascellare, interdigitale).

4.2 Posologia e modo di somministrazione:

Applicare la crema sulle lesioni 2-3 volte al giorno, frizionando delicatamente.

Il trattamento va protratto per almeno 5 giorni dopo il conseguimento della guarigione clinica.

4.3 Controindicazioni:

Ipersensibilità al principio attivo o ad uno qualsiasi degli eccipienti.

Affezioni dermatologiche quali: acne, rosacea, dermatiti periorali, lue, tubercolosi cutanea.

Malattie virali con localizzazione cutanea (ad. es. herpes simplex, varicella).

Reazioni cutanee alle vaccinazioni.

4.4 Avvertenze speciali e precauzioni di impiego:

Nella primissima infanzia, il prodotto va somministrato nei casi di effettiva necessità e sotto il diretto controllo del medico. L'applicazione epicutanea dei cortisonici nel trattamento di dermatosi estese e per periodi prolungati, può determinare un assorbimento sistemico; tale evenienza si verifica più facilmente quando si ricorra al bendaggio occlusivo. Nei neonati il pannolino può fungere da bendaggio occlusivo. L'uso, specie se prolungato, dei prodotti per uso topico può dare origine a fenomeni di sensibilizzazione. In tal caso occorre interrompere il trattamento ed istituire una terapia idonea.

Analogo comportamento deve essere adottato in caso di sviluppo di microrganismi non sensibili e di infezioni secondarie. Ove debbano trattarsi lesioni estese con il bendaggio occlusivo è opportuno trattarle a zone successive onde evitare interferenze con l'omeostasi termica ed effetti sistemici dei componenti. DESAMIX EFFE non è per uso oftalmico. Questo medicinale contiene alcool cetilico. Può causare reazioni cutanee locali (ad es. dermatiti da contatto).

4.5 Interazioni con altri medicinali e altre forme di interazione:

Non segnalate nelle comuni terapie di pertinenza.

4.6 Gravidanza e allattamento:

Nelle donne in stato di gravidanza, il prodotto va somministrato nei casi di effettiva necessità e sotto il diretto controllo del medico.

4.7 Effetti sulla capacità di guidare veicoli e sull'uso di macchinari:

DESAMIX EFFE non altera la capacità di guidare veicoli o di usare macchinari.

4.8 Effetti indesiderati:

In corso di terapia cortisonica epicutanea, specie per trattamenti intensi e prolungati, possono manifestarsi alcuni dei seguenti effetti collaterali: sensazione di bruciore, prurito, irritazione, dermatite allergica da contatto, secchezza della pelle, atrofia cutanea, ipertricosi, eruzione acneica, ipopigmentazione; atrofia e strie localizzate alle zone intertriginose trattate per un lungo periodo di tempo con medicazione occlusiva.

4.9 Sovradosaggio:

Nell'eventualità di applicazioni prolungate su superfici estese (più del 10% della superficie corporea), su cute lesa o in presenza di bendaggio occlusivo possono manifestarsi, in seguito

ad assorbimento sistemico del desametasone, gli effetti caratteristici della corticoterapia sistemica, con inibizione dell'asse ipofisi-surrene e comparsa di ipercorticismo. La sindrome di Cushing e la rarissima ipertensione endocranica ne sono l'espressione clinica. La scomparsa di questi sintomi si verifica in seguito ad interruzione del trattamento che deve essere progressiva.

5. PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE

5.1 Proprietà farmacodinamiche:

Il DESAMIX EFFE è costituito dall'associazione di un corticosteroide sintetico: il desametasone, con un antimicotico ad ampio spettro attivo anche nei confronti dei batteri Gram positivi: il clotrimazolo.

Il desametasone presenta una elevata attività antiallergica ed antiinfiammatoria, circa 30 volte superiore a quella dell'idrocortisone e circa 5 volte superiore a quella del prednisolone.

Il clotrimazolo è un derivato imidazolico per uso topico che presenta sia in vitro che in vivo una elevata attività nei confronti di una larga varietà di miceti, lieviti e muffe fra i quali funghi patogeni appartenenti ai generi: Trichophyton, Ephydermofyton, Candida, Microsporum, Coccidioides Immitis, Histoplasma Capsulatum, Aspergillus, Malassezia furfur, ecc.

E' inoltre attivo nei confronti di: Stafilococcus aureus e Streptococcus Piogenes e sviluppa azione inibitrice e fungicida sul Trichomonas Vaginalis.

5.2 Proprietà farmacocinetiche:

I principi attivi presenti nel DESAMIX EFFE esercitano essenzialmente un effetto locale a livello della zona trattata e, nelle normali condizioni di impiego, il loro assorbimento è limitato a livello dell'epidermide.

5.3 Dati preclinici di sicurezza:

Desametasone: Tossicità acuta: DL 50 (topo s.c.) sup. a 700 mg/kg; DL 50 (ratto s.c.) 120 mg/kg. **Clotrimazolo:** Tossicità acuta: DL 50 (ratto p.o.) 708 mg/kg; DL 50 (topo p.o.) 903 mg/kg; DL 50 (coniglio p.o.) 1000 mg/kg.

Tossicità cronica: in seguito a somministrazione topica prolungata, il Clotrimazolo ha dimostrato buona tollerabilità sia a livello locale che sistemico.

Teratogenesi:

Desametasone: L'applicazione locale di corticosteroidi ad animali da laboratorio gravidi può indurre, in seguito ad assorbimento sistemico la comparsa di malformazioni fetali.

La trasferibilità del reperto alla specie umana non è dimostrata.

Clotrimazolo: Il Clotrimazolo non presenta, nei comuni animali da laboratorio, attività embriotossiche o teratogene.

6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE

6.1 Elenco degli eccipienti:

Eccipienti: Alcool cetilico, alcool stearilico, paraffina liquida, polisorbato 60, sorbitan stearato, sorbitolo 70% non cristallizzabile, isopropil miristato, alcool benzilico, acqua depurata.

6.2 Incompatibilità:

Non pertinente.

6.3 Periodo di validità:

Validità: 3 anni.

6.4 Precauzioni particolari per la conservazione:

Questo medicinale non richiede alcuna particolare condizione per la conservazione.

6.5 Natura e contenuto del contenitore:

Tubetto in alluminio.

Tubo 30 g.

6.6 Precauzioni particolari per lo smaltimento e la manipolazione:

Nessuna istruzione particolare.

7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO

SAVOMA MEDICINALI S.p.A. - Via Baganza N. 2/A - 43100 PARMA.

8. NUMERO DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO

022235042

9. DATA DELLA PRIMA AUTORIZZAZIONE/RINNOVO DELL'AUTORIZZAZIONE

Rinnovo A.I.C. Gennaio 2011.

10. DATA DI REVISIONE DEL TESTO Ottobre 2010

Regime di dispensazione: RR

Prezzo al pubblico: € 8,70

